

Universidad Nacional de Loja

Facultad de Salud Humana

Carrera de Laboratorio Clínico

**Identificación de especies de *Candida* y su resistencia a fluconazol en
muestras respiratorias de pacientes hospitalizados en el Hospital General**

Reina del Cisne

Trabajo de Integración Curricular
previa a la obtención del título de
Licenciada en Laboratorio Clínico

AUTORA:

Xiomara Lissette Cueva Guajala

DIRECTORA:

Lcda. Glenda Alfarita Rodríguez León Mg. Sc.

Loja – Ecuador

2022



UNL

Universidad
Nacional
de Loja

Certificación de director

Facultad
de la Salud
Humana

Loja, 22 de julio del 2022

Leda. Glenda Alfarita Rodríguez León Mg. Sc.

DIRECTORA DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Certifico:

Que he revisado y orientado todo proceso de la elaboración del trabajo de Integración Curricular titulado: Identificación de especies de *Candida* y su resistencias a fluconazol en muestras respiratorias de pacientes hospitalizados en el Hospital General Reina del Cisne de autoría de la estudiante Xiomara Lissette Cueva Guajala, previa a la obtención del título de Licenciada en Laboratorio Clínico, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja, y por tanto, certifico que el mismo se ha culminado y aprobado de acuerdo a Art. 235 numeral 4 del Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja.

Firma

Leda. Glenda Alfarita Rodríguez León Mg. Sc.

DIRECTORA DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Autoría

Yo, Xiomara Lissette Cueva Guajala, declaro ser autora del presente trabajo de integración curricular o de titulación, y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi trabajo de integración curricular en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

Firma: 

Autora: Xiomara Lissette Cueva Guajala

Cédula de Identidad: 0704446814

Fecha: 12/09/2022

Correo electrónico: xiomara.l.cueva@unl.edu.ec

Teléfono o Celular: 0990179367

Carta de Autorización del Trabajo de Integración Curricular por parte de la autora para la consulta de producción parcial o total, y publicación electrónica de texto completo.

Yo, Xiomara Lissette Cueva Guajala declaro ser autora del trabajo de integración curricular titulado: Identificación de especies de *Candida* y su resistencia a fluconazol en muestras respiratorias de pacientes hospitalizados en el Hospital General Reina del Cisne, como requisito para optar el título de Licenciada en Laboratorio Clínico; autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Institucional.

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

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del trabajo de integración curricular que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los doce días del mes de septiembre del dos mil veintidós.

Firma: 

Autor: Xiomara Lissette Cueva Guajala

Cédula: 0704446814

Dirección: Piñas, calles Segundo Figueroa y Sucre.

Correo electrónico: xiomara.l.cueva@unl.edu.ec

Celular: 0990179367

DATOS COPLEMENTARIOS:

Director del Trabajo de Integración Curricular: Lcda. Glenda Alfarita Rodríguez León Mg.

Presidente del Tribunal: Lcda. Carmen Alejandra Ullauri González

Integrante del Tribunal: Dr. Luis Alberto Morocho Yaguana

Integrante del Tribunal: Lcda. Iliana Alicia Delgado

Dedicatoria

A Dios por ser mi fortaleza en los momentos difíciles, mis abuelos Laura Esthela y Fulvio Rafael, ya que con su apoyo incondicional y trabajo constante me han sabido dar todo lo necesario para poder culminar mi carrera profesional, son y serán siempre mi impulso y mi ejemplo por seguir, ya que a ellos va todo este esfuerzo.

Xiomara Lisette Cueva Guajala

Agradecimiento

Un profundo agradecimiento a la UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA, y a la vez a la FACULTAD DE SALUD HUMANA por desarrollar mis conocimientos y aptitudes en el campo de la salud.

Sinceros agradecimientos a la Magister Glenda Rodríguez por su ayuda, sobre todo, paciencia en la elaboración del presente trabajo de investigación, además por su presencia incondicional y relevantes aportes, orientaciones y críticas durante el desarrollo de esta investigación, a quien, a más de su valioso aporte académico como Directora de Tesis, agradezco sus dones de amistad hacia mi persona.

Un agradecimiento muy especial a la familia Cuenca Riascos y a todo el personal que forma parte del prestigioso Hospital General Reina del Cisne, quienes fueron parte de mi formación práctica y contribuyeron con su conocimiento en la elaboración del presente trabajo de investigación.

A mis abuelos a quienes estaré eternamente agradecida por su apoyo moral y confianza depositada en mí para poder culminar con éxito esta carrera, además de mi mamá, hermanas y personas allegadas por siempre darme ánimos y estar a mi lado en los momentos de necesidad.

Xiomara Lissette Cueva Guajala

Índice

Portada	i
Certificación de Director.....	ii
Autoría	iii
Carta de Autorización	iv
Dedicatoria.....	v
Agradecimiento.....	vi
Índice.....	vii
1. Título	1
2. Resumen	2
2.1. Abstract	3
3. Introducción.....	4
4. Marco Teórico	6
4.1 Género <i>Candida</i>	6
4.1.1 Hábitat.....	7
4.1.2 Morfología e identificación.....	7
4.1.2.1 Características metabólicas.	8
4.1.3 Factores de virulencia	8
4.1.3.1 Adhesinas.	8
4.1.3.2 Adaptación al pH.....	8
4.1.3.3 Enzimas..	8
4.1.3.4 Formación de biopelículas.	9
4.1.3.5 Dimorfismo.	9
4.1.4 Clasificación de Candidiasis.	9
4.1.4.1 Candidiasis Mucocutánea.....	10
4.1.4.1.1 Candidiasis broncopulmonar.....	10
4.1.4.1.2 Candidiasis pulmonar.	10
4.1.4.2 Candidiasis sistémica.	10
4.1.4.2.1 Candidemia.....	11
4.1.5 Diagnóstico de laboratorio.....	11
4.1.5.1 Examen directo.....	11

4.1.5.2	Medios de cultivo.....	12
4.1.6	Antifúngicos.....	12
4.1.6.1	Azoles.....	13
4.1.6.1.1	Mecanismo de acción.....	13
4.1.6.1.2	Resistencia.....	13
4.1.6.1.2.1	Mecanismos de resistencia.....	14
4.1.6.1.3	Fluconazol.....	15
4.1.6.1.4	Resistencia.....	15
5.	Metodología.....	16
6.	Resultados.....	19
7.	Discusión.....	22
8.	Conclusiones.....	27
9.	Recomendaciones.....	28
10.	Bibliografía.....	29
11.	Anexos.....	35

Índice de Figuras

Figura 1.	Coloración de colonias en medio CROMOagar <i>Candida</i> a partir de muestras respiratorias.....	19
------------------	--	----

Índice de Tablas

Tabla 1.	Clasificación de Candidiasis.....	9
Tabla 2.	Identificación cualitativa de especies de <i>Candida</i> por métodos cromogénicos a partir de muestras respiratorias de los pacientes del Hospital General “Reina del Cisne”.....	19
Tabla 3.	Frecuencia de las especies de <i>Candida</i> según el área de procedencia.....	20
Tabla 4.	Frecuencia de las especies de <i>Candida</i> según tipo de muestra respiratoria.....	20
Tabla 5.	Frecuencia del perfil de sensibilidad de las especies de <i>Candida</i> frente a Fluconazol..	21
Tabla 6.	Frecuencia resistencia a Fluconazol de las especies de <i>Candida</i>	21

Índice de Anexos

Anexo 1. Oficio de aprobación para la realización de la investigación en el Hospital General Reina del Cisne dirigido al director del mismo.....	35
Anexo 2. Oficios de aprobación para el desarrollo del trabajo de Integración Curricular	36
Anexo 3. Consentimiento informado que acudieron Laboratorio Clínico del Hospital Reina del Cisne con órdenes de cultivo de muestras respiratorias.....	38
Anexo 4. Recolección y transporte de muestras respiratorias	41
Anexo 5. Elaboración de medios de cultivo Mueller Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno.....	44
Anexo 6. Control de calidad de los agares	46
Anexo 7. Control de la temperatura de la nevera e incubador.....	52
Anexo 8. Examen directo con KOH a las muestras recolectadas	59
Anexo 9. Siembra de muestras en Agar Sabouraud y CROMOAgar™ <i>Candida</i>	61
Anexo 10. Restauración de la cepa control ATCC 90028 <i>Candida albicans</i>	63
Anexo 11. Elaboración de antifungigrama en disco	66
Anexo 12. Limpieza de incubador.....	68
Anexo 13. Registro de resultados	69
Anexo 14. Relatoría fotográfica	70
Anexo 15. Certificado de traducción de idioma	78

1. Título

Identificación de especies de *Candida* y su resistencia a fluconazol en muestras respiratorias de pacientes hospitalizados en el Hospital General Reina del Cisne.

2. Resumen

En los últimos años se viene observando el aumento de una población de pacientes con riesgo de adquirir infecciones por hongos como levaduras del género *Candida*, cuyas diversas especies pueden llegar a provocar Candidiasis, esta enfermedad es una micosis sistémica común, con agentes etiológicos, tal como: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii* y *C. dubliniensis*. En cuanto a su tratamiento, el de elección es anfotericina B o fluconazol, siendo en casos graves el tratamiento combinado con flucitosina. Estos microorganismos y su resistencia antifúngica constituyen un importante problema de salud emergente a nivel mundial, debido a que producen candidiasis y desarrollarse en pacientes con una inmunosupresión severa, en centros hospitalarios.

El presente estudio es de tipo no experimental y transversal, tiene como objetivo identificar las especies de *Candida* y su resistencia a fluconazol en muestras respiratorias de los pacientes hospitalizados en el Hospital General Reina del Cisne de la ciudad de Piñas. A través del empleo de Agar Sabouraud, métodos cromogénicos como lo es CHROMagar™ *Candida* y Mueller Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno para antifungigrama, se aislaron 37 cultivos positivos para *Candida spp*, siendo *Candida albicans* la más frecuente en el área de hospitalización 57.7% y *Candida tropicalis* en Unidad de Cuidados Intensivos 81.8% respectivamente, predominando en muestras de esputos, *Candida albicans* y en secreciones traqueales, *Candida tropicalis*. La resistencia a fluconazol se encontró en un 50% para *Candida albicans* y 50% para *Candida tropicalis*, respectivamente. Se concluye que el uso de medios cromogénicos como CHROMagar™ *Candida* es útil en la identificación presuntiva de especies del género *Cándida*; la especie *Candida albicans* es frecuente en muestras de esputo de pacientes del área de hospitalización y *Candida tropicalis* es un agente nosocomial de la Unidad de Cuidados Intensivos frecuente en muestras de secreción traqueal, siendo las dos especies quienes expresaron mecanismos de resistencia a fluconazol.

Palabras Claves: *Candida* – Muestras respiratorias – Resistencia- Fluconazol.

2.1. Abstract

In the last years, an increase in the population of patients with risk of acquiring fungal infections such as yeasts of the genus *Candida*, whose various species can cause Candidiasis, this disease is a common systemic mycosis, with etiological agents, such as: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii* and *C. dubliniensis*.

According to its treatment, the treatment of choice is amphotericin B or fluconazole, in severe cases combined treatment with flucytosine. These microorganisms and their antifungal resistance constitute an important emerging health problem worldwide because they produce candidiasis and develop in patients with severe immunosuppression in hospital centers.

This study is non-experimental and cross-sectional and has as an objective to identify *Candida* species and their resistance to fluconazole in respiratory samples from patients hospitalized at the Reina del Cisne General Hospital in the Piñas city. Through the use of Sabouraud Agar, chromogenic methods such as CHROMagar™ *Candida* and Mueller Hinton supplemented with glucose and methylene blue for antifungigram, 37 positive cultures for *Candida spp.* were isolated, *Candida albicans* being the most frequent in the hospitalization area with the 57.7% and *Candida tropicalis* in the Intensive Care Unit with the 81.8% respectively, predominantly *Candida albicans* in sputum samples and *Candida tropicalis* in tracheal secretions. Resistance to fluconazole was found in 50% for *Candida albicans* and the 50% for *Candida tropicalis*, respectively.

Finally, its concluded that the use of chromogenic media such as CHROMagar™ *Candida* is useful in the presumptive identification of species of the genus *Candida*; the species *Candida albicans* is frequent in sputum samples from patients in the hospitalization area and *Candida tropicalis* is a nosocomial agent of the Intensive Care Unit frequent in samples of tracheal secretion, being the two species that expressed mechanisms of resistance to fluconazole.

KEYWORDS: *Candida* – Respiratory samples – Resistance- Fluconazole.

3. Introducción

La candidiasis es una infección resultante por varias especies del género *Candida*, misma que ocupa el primer lugar en cuanto a prevalencia e incidencia anual mundial, así como el surgimiento de diferentes especies *Candida spp.* (no *C. albicans*) como causa de candidiasis (García et al., 2020). De manera general, se ha presentado un aumento de este padecimiento en la población, provocado por la exposición a factores de riesgo que incluyen: tratamiento con esteroides, citostáticos o inmunosupresores, incremento de VIH-SIDA, trasplante de órganos y aquellas enfermedades como la diabetes, la leucemia y el linfoma, entre otros (Duque et al., 2020).

Es de conocimiento que aquellas infecciones causadas por levaduras y mohos provocan más de un millón y medio de muertes a lo largo del año, a nivel mundial, resultando primordial sea parte de los programas de prevención, con énfasis en la mejora del diagnóstico, incentivación de la enseñanza médica de estas patologías y con el apoyo de la medicina apropiada para el respectivo tratamiento (Siopi, et al., 2019).

En base a este contexto, el presente tema de investigación tiene como finalidad identificar las especies de *Candida* y su resistencia a fluconazol en muestras respiratorias de los pacientes hospitalizados en el Hospital General Reina del Cisne de la ciudad de Piñas, enfatizando que en esta zona resultan escasas las investigaciones acerca de la especie más frecuente que coloniza diferentes tipos de muestras respiratorias, y, su resistencia antifúngica, principalmente de las especies del género *Candida*; donde, además la frecuencias de estas infecciones varía según los servicios hospitalarios y los factores de riesgo de los pacientes, añadido al clima, que por el calor y la humedad crean un ambiente propicio para el desarrollo de hongos por la ubicación geográfica; constituyen razones importantes que motivaron al objetivo principal de éste estudio: identificar especies de *Candida* en muestras respiratorias de pacientes hospitalizados y su resistencia a fluconazol para mejorar el diagnóstico de infecciones micóticas y se implemente un tratamiento antifúngico idóneo en base a la especie de *Candida* causante de la infección.

Surge así de forma primordial, la necesidad de establecer un diagnóstico oportuno que permita identificar el patógeno a nivel de especie, procurando un camino que oriente hacia una adecuada decisión terapéutica. Aunque el diagnóstico de candidiasis continúa siendo un desafío, donde la combinación de los métodos disponibles en el laboratorio es la mejor estrategia para lograr un diagnóstico rápido y certero. En base a estas razones emerge la respuesta del por qué es necesario este estudio para identificación de levaduras considerando la diversidad de muestras respiratorias

con pedido de cultivo para hongos y bacterias de pacientes que están internado en el Hospital General Reina del Cisne, ya que un adecuado tratamiento permite no solo evitar secuelas en los pacientes, sino también economizar cantidades considerables de recursos humanos como materiales (García et al., 2020).

Para lograr los objetivos planteados se utilizó técnicas analíticas como, el examen directo con KOH a las muestras recolectadas, la siembra respectiva en agar Sabouraud y en caso de crecimiento en CHROMagar™ *Candida*, y, finalmente previo a la identificación de la especie, la realización del antifungigrama. A través de estos métodos se identificó las especies de *Candida* y su resistencia a fluconazol en muestras respiratorios de los pacientes hospitalizados en el Hospital General Reina del Cisne.

4. Marco Teórico

4.1 Género *Candida*

Las especies del género *Candida spp.* son hongos con forma de levaduras ovales que están en convivencia como microorganismos comensales, en el ser humano inmunocompetente, debido a que forman parte del microbiota de piel y mucosa en la gran parte de los sistemas del cuerpo humano (gastrointestinal, respiratorio y genitourinario); siendo este microorganismo uno de los más frecuentes en las infecciones por hongos en pacientes críticos (Lazo et al., 2018).

En la actualidad las especies del género *Candida*, están clasificadas con base en su secuencialización genética, dentro de la clase *Ascomycetes* y familia *Saccharomycetes*. Existen más de 200 especies, de las cuales las patógenas son: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* y su teleomorfo *Issatchenkia orientalis*; *C. kefyr* y su teleomorfo *Kluyveromyces marxianus*; *C. guilliermondii* y su teleomorfo *Pichia guilliermondii*; *C. pseudotropicalis*, *C. zeylanoides*, *C. rugosa*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, y *C. lusitaniae* y su teleomorfo *Clavispora lusitaniae* (Carroll et al., 2016).

- *C. albicans*: es un hongo dimórfico que pertenece al *Phylum Ascomycota*, contiene pseudohifas, hifas y blastoconidios subsféricos, se ve asociada directamente a animales de sangre caliente, además es un saprobio que coloniza la vagina, tractos digestivo y respiratorio del ser humano. Es capaz de infectar la piel, membranas mucosas y uñas, sin embargo, al presentarse diseminada en pacientes inmunodeprimidos, conlleva a una complicación seria de la enfermedad (Talapko, et al. 2021)
- *C. glabrata*: Es un ascomiceto haploide, pertenece a la clasificación de la familia *Saccharomycetaceae*; sus células son más pequeñas en comparación a las de *C. albicans*, sin capacidad para formar hifas. Es parte del microbiota comensal, sin embargo, actualmente está levadura al ser oportunista es responsable de aquellas infecciones en mucosas y sistémicas, sobre todo en pacientes inmunodeprimidos y hospitalizados en UCI y postquirúrgica (Healey y Perlin, 2018).
- *C. krusei*: Es una levadura que puede formar pseudohifas y blastosporas, puede desarrollarse en medios a 42°C, a diferencia de otras especies de *Candida no albicans*. Además, es patógeno emergente en los últimos años, lleva una elevada tasa de mortalidad siendo capaz de ocasionar cuadros graves en inmunodeprimidos, incluso micosis superficiales (Sanz Jamiu et al., 2021).

- *C. parapsilosis*: Es un hongo levaduriforme, con aspecto ubicuo, considerado un patógeno comensal del tejido epitelial y mucosas del humano del ser humano. No conlleva importancia clínica, puesto que no es un patógeno común, sin embargo, en pacientes drogadictos e inmunocomprometidos, puede desencadenar infecciones (Toth et al., 2019).
- *C. tropicalis*: Hongo frecuente en países tropicales y ocasiona alrededor del 15 % del total de infecciones que se producen por levaduras del género *Cándida*. Su prevalencia se ha incrementado en todo el mundo (Barac et al., 2020).

4.1.1 Hábitat

Las diferentes especies de *Candida* tienen capacidad adaptativa, siendo el ser humano y algunos homeotérmicos su hábitat (Arenas, 2014).

Estos hongos están distribuidos ampliamente en el medio ambiente, pero *C. albicans*, es una de las más frecuentes es posible encontrarla como endosaprofito del tubo digestivo tanto de mamíferos como de aves; la siguiente que es *C. tropicalis*, en cambio se aísla de la orofaringe y *C. glabrata* de la vagina. En el ser humano, se hallan como comensales de la cavidad bucal, entre un 1.5 a 41.4% (*C. albicans*, 75%; *C. tropicalis*, 8%, y *C. krusei*, 3 a 6%), en el aparato digestivo de 0 a 55% (*C. albicans*, 50%), en la mucosa vaginal aproximadamente el 2.2 a 68% (*C. albicans*, 75%; *C. tropicalis*, y *C. parapsilosis*). Si bien, gran cantidad de las levaduras pueden encontrarse en una piel sana a excepción de *C. albicans* y *C. tropicalis*, que pueden aislarse de la zona perianal, peribucal y de dedos (Bonifaz, 2012).

4.1.2 Morfología e identificación

Las condiciones que requiere el medio de cultivo para el crecimiento de las especies del género *Candida* sea adecuado dependen del pH del medio de cultivo, siendo alcalino de 5 a 6, con altas concentraciones de glucosa, con énfasis en la aplicación de antibióticos como cloranfenicol, que es capaz de evitar que este se contamine con bacterias. Crecen en condiciones de temperatura de 25-37°C en un lapso de 24-48 horas, con características macroscópicas en sus colonias lisas, blandas, brillantes, de color blanco o ligeramente beige; con el tiempo pueden hacerse plegadas, rugosas o membranosas (Talapko, et al. 2021)

4.1.2.1 Características metabólicas. La capacidad de adaptación al medio por parte de las especies de *Candida* es primordial, para lograr consumir nutrientes del huésped que faciliten la supervivencia y división celular, siendo el metabolismo una parte de gran importancia, en cuanto a su patogenicidad. Puesto que su crecimiento y multiplicación está conectada con la asimilación de hidratos de carbono; de hecho, estos hongos una vez que atraviesan la barrera primaria, emplean el ciclo del ácido tricarboxílico para inmiscuirse en las mucosas y por medio de la gluconeogénesis ingresan al torrente sanguíneo (Ellepola et al., 2019).

4.1.3 Factores de virulencia

La facultad de los hongos para adherirse y colonizar tejidos humanos o plásticos empleados en la terapéutica de una enfermedad infecciosa es considerada un factor de virulencia como mecanismo de patogenicidad, teniendo relación con ciertas características (Bonifaz, 2012).

4.1.3.1 Adhesinas. Sustancias presentes en *C. albicans* y *C. glabrata*. Entre ellas se destacan las manoproteínas y mananas. (Bonifaz, 2012) Las adhesinas más importantes son el tipo aglutinina (Als) que se encuentran en una familia de ocho proteínas glicosiladas, con relación genética y gran variación alélica (Als1 a Als7 y Als9) (Staniszewska, 2020).

4.1.3.2 Adaptación al pH. Las distintas especies de *Candida* se adaptan a diversos medios y sustratos; así, su aptitud de soportar los cambios del pH es un excelente ejemplo. Tal es el caso de *C. albicans* que puede adaptarse y crecer en estados de pH extremo, debido al gen PHR1, que lleva como función sintetizar la pared celular, puesto que al ser un gen que a pH neutro se expresa al máximo; mientras que, a un pH ácido su expresión es inhibida; aun así, *C. albicans* posee la facultad de transformarse para lograr desarrollarse en un pH de 2 a 4 (Sánchez et al., 2019).

4.1.3.3 Enzimas. Uno de los factores de virulencia, está dado por la secreción de proteinasas, quienes se encargan de degradar las barreras del tejido para adquirir nutrientes directos del sitio de infección, entre las importantes están: queratinasas, peptidasas, hemolisinas, proteasas y hialuronidasas, específicamente apartilproteinasas secretosa, fosfolipasas y lipasas (Staniszewska, 2020; Vieira et al., 2019).

4.1.3.4 Formación de biopelículas. La formación de biopelículas fúngicas requiere de algunos factores, algunos relacionados con la presencia o ausencia de suero, saliva, orina y a su vez con otras superficies ya sea abiótica o biótica, mientras que otros relacionados con la especie de *Candida* se relacionan con el aislamiento y de acuerdo con el origen clínico siendo por infecciones invasivas, cutáneas o ambientales (Pereira et al., 2021). Claro ejemplo son las dos especies *C. albicans* y *C. parapsilosis* que llevan gran capacidad de formar biopelículas, que infieren capacidad defensiva y mayor resistencia al ataque de los antibióticos y antimicóticos (Bonifaz, 2012).

4.1.3.5 Dimorfismo. Diversas levaduras presentan cambios en sus patrones replicativos y morfología, para dar origen a células elongadas enlazadas formando filamentos, es decir, el dimorfismo en las especies de *Candida* es la transición de la forma levaduriforme unicelular, a una forma filamentosa, como pseudohifas o hifas. En cuanto a este cambio, se ve estimulado por las condiciones ambientales y se define como uno de los factores de patogenicidad o virulencia más significativos. Es preciso hacer énfasis en que existe una excepción en *C. glabrata*, quien no da lugar a cambios morfológicos, por lo que es una levadura monomórfica (Rosales et al., 2018).

4.1.4 Clasificación de Candidiasis.

La candidiasis al ser una infección recurrente y polimórfica que ata al ser humano, su nivel de gravedad y profundidad está sujeto al factor de predisposición con el que se vincule. Además, no es claro el período de incubación, pero se puede diferenciar formas localizadas, diseminadas y profundas, sistémicas y alérgicas. La tabla 1. detalla las variedades clínicas según el tipo de Candidiasis (Bonifaz, 2012).

Tabla 1

Clasificación de Candidiasis

<i>Candidiasis</i>	<i>Mucocutánea</i>	<i>Cutánea</i>	<i>Sistémica</i>	<i>Miscelánea</i>	<i>Alérgica</i>
Modalidad Clínica	Oral, Genital, Mucocutánea crónica, Gastrointestinal Bronquial/pulmonar	Intertrigos, Onicomycosis, Pustulosis, Granulomatosa, Cutánea congénita y área del pañal.	Tracto urinario, Meningitis, Endocarditis Candidemia	Otomycosis, Oculomycosis Endoftalmitis	Candidiasis, Eccema, Rinitis, alveolitis y Gastritis alérgica.

Nota. La tabla es recuperada de Bonifaz (2012).

4.1.4.1 Candidiasis Mucocutánea. La candidiasis mucocutánea es una infección sintomática que afecta a uñas, piel y mucosas, de modo frecuente a la cavidad oral y al conducto vaginal (Tepal y Bonifaz, 2020).

4.1.4.1.1 Candidiasis broncopulmonar. Es una enfermedad crónica con frecuencia en pacientes inmunodeprimidos, caracterizada por presencia de tos con expectoración mucoide. Esta parasitación está presente en todo el árbol bronquial y suele generar cuadros de alergia. Cabe recalcar que *C. albicans* y *Candida spp.* pertenecen al microbiota del tracto respiratorio; encontrándose hasta en 50% en pacientes con tuberculosis pulmonar, 25% en pacientes hospitalizados y 10% en individuos sanos (Bonifaz, 2012).

4.1.4.1.2 Candidiasis pulmonar. Esta forma de candidiasis ocurre con menor frecuencia que la bronquial, pudiendo ser más grave. Se manifiesta atacando el estado general del paciente y se asocia con enfermedades que influyen gradualmente en la respuesta inmune. El cuadro clínico que presentan los pacientes que padecen este tipo de candidiasis es abundante tos con expectoración mucoide y sanguinolenta, disnea, dolor torácico y fiebre (38 a 40°C) nocturna. Se llegan a afectar dos o más lóbulos pulmonares y en ocasiones cursan con derrame pleural; a la exploración física es posible escuchar algunos estertores (Bonifaz, 2012).

4.1.4.2 Candidiasis sistémica. Las candidiasis invasoras están causadas por cinco especies de *Candida*: *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. krusei*. Las consecuencias clínicas estas candidiasis son muy graves; su aparición incrementa la estancia hospitalaria y los pacientes pueden presentar mayor riesgo de morir que aquellos que padecen una infección nosocomial bacteriana (Quindós, 2015).

Este tipo de candidiasis es un factor pronóstico independiente de muerte, aunque resulta difícil saber con exactitud en qué medida empeora esta afección el mal pronóstico de la enfermedad subyacente (Vigezzi et al., 2021).

En esta candidiasis una de las principales rutas de invasión de las levaduras es a través de catéteres endovenosos (involucra a las especies que colonizan la piel de enfermos o a las que colonizan principalmente las manos del personal hospitalario) y por penetración por medio de la mucosa intestinal (involucra a las especies que colonizan previamente el tracto gastrointestinal) (Quindós, 2015).

4.1.4.2.1 Candidemia. La candidemia es una de las formas frecuentes de candidiasis invasiva, que corresponde a un 30 %. Se conocen diversos orígenes o puertas de entrada de la candidemia, siendo asociadas a altas tasas de morbilidad y mortalidad (Quindós, 2015).

Consiste en el hallazgo del hongo en muestras de hemocultivo, sin cambios inmunológicos en el huésped y en ausencia de compromiso visceral demostrable, exceptuando la localización cutáneo-mucosa. Puede ser transitoria (hemocultivo positivo aislado) o persistente (hemocultivos positivos reiterados). En la mayoría de los casos la desaparición de la candidemia se obtiene retirando el catéter y si el paciente no presenta factores de inmunosupresión asociados, no es necesario indicar antimicóticos sistémicos. La candidemia en inmunosuprimidos, en particular neutropénicos, siempre debe considerarse como infección sistémica, potencialmente grave, el riesgo de muerte es elevado y los procedimientos de laboratorio para el diagnóstico son lentos, debiéndose indicar en todos los casos tratamiento específico (Lazo et al., 2018).

4.1.5 Diagnóstico de laboratorio

4.1.5.1 Examen directo. La técnica de examen directo es un procedimiento fácil y útil, que permite detectar por medio de la observación al microscopio, aquellas estructuras fúngicas en la muestra contagiada, mediante el empleo de reactivos como el hidróxido de potasio (KOH) con o sin colorantes, misma teniendo una sensibilidad mayor al cultivo en el laboratorio (Pérez et al., 2017).

Para elaborar este examen se agrega la muestra en un portaobjetos y se añade un agregado de hidróxido de potasio con concentraciones que oscilen entre 40 % o 20%, a fin de ablandar, digerir y aclarar parcialmente la queratina de los hongos, facilitando la visualización de los elementos fúngicos (Pérez et al., 2017).

La microscopía tiene un papel fundamental, debido a que permitirá orientar sobre la etiología del agente fúngico, dado que dependiendo de las estructuras fúngicas que se observen se podrá confirmar la etiología micótica, permitiendo iniciar el tratamiento antifúngico inmediatamente, hasta el aislamiento del agente causal a través del cultivo (Pérez et al., 2017).

4.1.5.2 Medios de cultivo. Los medios que se utilicen en el área de micología deben ser óptimos para el desarrollo de los agentes causales de patologías micóticas, por ende, mínimo debe contar con los nutrientes suficientes para asegurar el desarrollo de los hongos como carbono, nitrógeno, vitaminas, oligoelementos, entre otros. El pH bajo ha de ser ligeramente ácido para facilitar el crecimiento de los hongos e inhibir al mismo tiempo el desarrollo de otros microorganismos (Morales, 2018).

El medio más característico es el agar glucosado de Sabouraud, al que a menudo se le añaden antibacterianos (como cloranfenicol), con el objetivo de impedir el crecimiento de bacterias contaminantes. A veces se añade cicloheximida, que impide el crecimiento de hongos saprófitos. Cuando en los medios de cultivo de aislamiento las colonias desarrollan poco crecimiento o su morfología es inespecífica, se recurre a la siembra en medios de cultivo selectivos y técnicas adicionales (Bologna et al., 2015).

El medio CHROMagar™*Candida*, se utiliza para el aislamiento e identificación de las levaduras como *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei*. Contiene: Peptona, glucosa, cloranfenicol y sustratos cromogénico Para la preparación se debe inocular las placas por el método de estrías y se incuba a las placas, durante 24 horas y observar el crecimiento, las colonias de *C. albicans* crecerán verdes, las de *C. tropicalis* son de color azul oscuro o lilas y las colonias de *Candida krusei* aparecen rosadas (Mulet y Cardona, 2020).

4.1.6 Antifúngicos

Los medicamentos antifúngicos, son un conjunto terapéutico empleado en pacientes que pueden presentar enfermedades infecciosas de origen micótico y es atendida durante su hospitalización. Los medicamentos antimicóticos se clasifican en categorías como; medicamentos sistémicos orales o parenterales para infecciones sistémicas, medicamentos sistémicos orales y medicamentos tópicos para infecciones mucocutáneas (Sánchez et al., 2019).

Por ende, los medicamentos antifúngicos más eficientes para infecciones sistémicas, de interés son: Anfotericina B, Flucitosina, Azoles y Equinocandinas (Katzung, 2019).

4.1.6.1 Azoles. Los azoles contienen un anillo con átomos de N libres anexados por un enlace C-N a otros anillos aromáticos. Estos anillos cambian las propiedades fisicoquímicas, efecto terapéutico, toxicidad etc. Con función a la cantidad de nitrógenos que lleva el anillo se clasifican en imidazoles: miconazol y ketoconazol y triazoles: fluconazol, itraconazol, voriconazol (Nocua, et al., 2020).

Aquellos derivados imidazólicos son usados específicamente de forma tópica en dermatomicosis o candidiasis vulvovaginal. Se recetan en casos de *tinea corporis*, *tinea pedis*, *tinea cruris* y otras dermatofitosis. Pero si la infección afecta al pelo se recurre al tratamiento sistémico. Además, son indicados en candidiasis cutáneas y mucosas, pitiriasis versicolor y dermatitis seborreica. Por otro lado, los derivados triazólicos se utilizan en el tratamiento de micosis sistémicas (Sánchez et al., 2019).

4.1.6.1.1 Mecanismo de acción. En la pared celular de los hongos, el control de la permeabilidad y la armadura, lo protegen de los cambios osmóticos, confiriéndole una propiedad de plasticidad. La integridad de esta pared está dada por los esteroides que la conforman, como son el ergosterol, que es un componente lipídico principal que permite la acción de la quitina sintetasa, encargada del crecimiento y división celular fúngica (Nocua et al., 2020).

Por lo tanto, la actividad antifúngica de los fármacos azólicos resulta de la reducción en la síntesis de ergosterol, a partir de la inhibición de las enzimas fúngicas del citocromo P450. La toxicidad selectiva de los azólicos ocurre por su mayor afinidad por las enzimas fúngicas del citocromo P450 que por aquellas humanas (Katzung, 2019).

4.1.6.1.2 Resistencia. Cuando ocurre un cambio de sensibilidad o susceptibilidad en un antifúngico que es medido in vitro por procedimientos de laboratorio, se le conoce como resistencia. Estas herramientas de resistencia pueden ser de carácter microbiológica o resistencia clínica. (Katzung, 2019).

Por un lado, la resistencia microbiológica, hace alusión al crecimiento del microorganismo en dosis normales del antifúngico, pero puede ser inhibido por concentraciones más altas; mientras que la resistencia clínica, por otro lado, es el crecimiento del microorganismo sin importar la administración de un agente antifúngico, teniendo relación con falla terapéutica (Mangal et al., 2019).

4.1.6.1.2.1 Mecanismos de resistencia. Los imidazoles pueden exhibir menor grado de selectividad que los triazoles, por lo cual existe mayor incidencia de interacciones farmacológicas y efectos adversos. En cuanto a la resistencia a los azoles, sucede por múltiples mecanismos; actualmente existe un número creciente de cepas resistentes, en consecuencia, al uso creciente de estos antimicóticos para la profilaxis y la terapia, que, en ciertas condiciones, da paso a la resistencia clínica a los medicamentos (Nocua, et al., 2020).

Por consiguiente, un uso desmedido de azoles en cuanto al tratamiento y profilaxis de infecciones por *Candida* lleva por consecuencia, un incremento en el aislamiento de cepas resistentes (Quindós, 2015), debido a mecanismos como:

La modificación del enzima blanco; la incapacidad de alcanzar concentraciones adecuadas del antibiótico en el sitio de acción por la presencia de barreras de permeabilidad o sistemas de bombeo activo; y, por último, la inactivación del antibiótico por modificación del mismo (Bhattacharya et al., 2020). Sin embargo, de todos éstos, sólo se conocen los dos primeros como potenciales causas de resistencia.

En las especies de *Candida* y en otros hongos, el gen ERG11 está a cargo de la síntesis de la Erg11p o la enzima 14 α demetilasa, siendo indispensable para la síntesis del ergosterol. Razón por la cual, la resistencia a los azoles ha sido descrita en aislamientos clínicos en los que se demuestra una disminución de la expresión de dicha enzima o la presencia de mutaciones específicas que la afectan en su estructura o función; y puede ser inducida por regulación negativa de su síntesis tras la exposición prolongada al fluconazol. Existen otras enzimas involucradas en la síntesis del ergosterol como la $\Delta 5 - 6$ desaturasa, posibles responsables de este fenómeno (Bhattacharya et al., 2020).

Por otro lado, con relación al sistema de transporte activo por medio de bombas y en base a modelos experimentales con otras levaduras no patógenas como *Sacharomyces cerevisiae*, se ha determinado la presencia de un conjunto de genes denominados factores de resistencia múltiple o pleiotrópica a fármacos (PDR: Pleiotropic Drug Resistance), ya que otorgan resistencia a múltiples medicamentos sin ninguna semejanza estructural definida. El primero de ellos fue definido en *Candida spp.* fue MDR1, quien codifica una proteína MDR1p que pertenece a una superfamilia de proteínas transportadoras transmembranales con 6 dominios, (MFS: Major Facilitators Superfamily). Algunos de los genes caracterizados son CDR1 y CDR2 que codifican una proteína transportadora del tipo ABC (ATP Binding Cassette), que es de tipo multifuncional para diversos

compuestos. En relación con estos rasgos de resistencia adquiridos, se sabe, por ejemplo, que algunos de estos además se relacionan no sólo con resistencia a los azoles sino con mayor virulencia de la levadura, como ocurre en el caso de *C. glabrata* con sobreexpresión de la mutación CgPDR1 (Bhattacharya et al., 2020).

4.1.6.1.3 Fluconazol. Los derivados triazólicos como lo es Fluconazol pueden inhibir de modo selectivo la enzima 14 α esterol demetilasa en la síntesis del ergosterol, que depende del citocromo p450. La depleción del ergosterol, con la acumulación de compuestos intermedios en la síntesis del mismo, da paso a una pérdida de la funcionalidad de la membrana plasmática (Quindós, 2015).

4.1.6.1.4 Resistencia. Ciertas especies del género *Candida*, como *Candida krusei*, manifiestan resistencia intrínseca al fluconazol. El desarrollo y selección de resistencias al fluconazol a través del tratamiento se ha demostrado, en los pacientes con sida o sometidos a tratamientos prolongados, que la supresión de la profilaxis secundaria de las infecciones por *Candida* en ellos, disminuye el riesgo de variantes resistentes al fluconazol y a nuevos compuestos. No menos importante, son algunos los análisis retrospectivos de cepas de archivo procedentes de pacientes con candidiasis atendida con fluconazol que han manifestado resistencia cruzada, lo que indica, es un hecho y que los nuevos derivados presentan sensibilidad disminuida (Zurita, 2018).

5. Metodología

Tipo de estudio

El diseño de la investigación es cuantitativa porque se emplea la recolección de datos para demostrar una hipótesis en base al análisis estadístico, para lograr establecer un patrón de comportamiento y comprobar una teoría; el tipo de investigación es no experimental porque se realiza un estudio observando cada muestra respiratoria sin modificar ni manipular las variables de la investigación, no se puede influir en ellas porque ya sucedieron al igual que sus efectos, y el corte del estudio es transversal, ya que se identifica las especies del género *Candida* aisladas de muestras respiratorias pertenecientes a los pacientes hospitalizados en el Hospital General “Reina del Cisne” en un período de febrero 2022 a abril 2022 situándose dentro del análisis evolutivo porque se analiza si existe o no resistencia al antifúngico elegido tras ser identificada la especie.

Área de estudio

La presente investigación se realizó en la ciudad de Piñas perteneciente a la provincia de El Oro, en el suroeste del Ecuador, donde se estipula que tienen una población beneficiaria directa aproximadamente de 5.200 habitantes, la población cuenta con el hospital privado General “Reina del Cisne”, institución sanitaria que ofrece especialidades básicas: Gineco Obstetricia, Pediatría, Medicina Interna y Cirugía, además tiene implementada la Unidad de Cuidados Intensivos: de igual manera algunas subespecialidades clínicas, con una amplia cartera de servicios puesta a disposición de la ciudadanía que acude diariamente a recibir los servicios; constituyendo la unidad de salud en la que se realizó la obtención de muestras biológicas requeridas, que fueron transportadas para su análisis hasta el Centro de Diagnóstico Médico de la Universidad Nacional de Loja, unidad operativa de complejidad tipo 2.

Población

Se ejecutó en pacientes hospitalizados con orden de cultivo para investigación de hongos y bacterias, al Laboratorio Clínico del Hospital General “Reina del Cisne”.

Muestra

La muestra poblacional analizada estuvo constituida por pacientes hospitalizados que remitieron muestras respiratorias (esputo, aspirado traqueal, lavado broncoalveolar y minibal) con orden de cultivo y que contengan estructuras compatibles con hongos.

Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión

- Personas hospitalizadas en el área de UCI, hospitalización y neonatología.
- Personas que voluntariamente dieron el consentimiento informado.
- Personas de todas las edades seleccionadas, sin distinción de género, procedencia o etnia, que refieran orden de cultivo durante el periodo de estudio.
- Personas con orden de cultivo de muestras respiratorias.
- Muestras clínicas positivas a KOH.

Criterios de exclusión

- Conservación inadecuada de la muestra.
- Contenedores mal cerrados o rotos con muestras derramadas.

Equipos y materiales

El procesamiento de las muestras en el laboratorio se planificó de la siguiente manera:

Fase preanalítica

- Oficio de aprobación para la realización de la investigación en el Hospital General Reina del Cisne dirigido al director del mismo. (Anexo 1)
- Oficios de aprobación para el desarrollo del trabajo de Integración Curricular (Anexo 2)
- Aplicación del consentimiento informado a los pacientes con muestras de secreción bronquial remitida al Laboratorio Clínico del Hospital “Reina del Cisne” con órdenes de cultivo. (Anexo 3)
- Preparación del paciente para la toma de muestra. (Anexo 4)
- Recolección y transporte de muestras. (Anexo 5)
- Elaboración de medios de cultivo Mueller Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno y control de calidad. (Anexo 6)
- Control de calidad del agar Sabouraud y CHROMagar™*Candida*. (Anexo 7)
- Control de temperatura de la nevera e incubador. (Anexo 8)

Fase analítica

- Examen directo con KOH a las muestras recolectadas. (Anexo 9)

- Siembra de muestras en Agar Sabouraud y de haber crecimiento en CHROMagar™*Candida*. (Anexo 10)
- Identificada la especie, se hará antifungigrama. (Anexo 11)

Fase post analítica

- Limpieza del incubador. (Anexo 12)
- Registro de resultados. (Anexo 13)
- Relatoría gráfica del trabajo de campo. (Anexo 14)
- Certificado de traducción de idioma. (Anexo 15)

Instrumentos de recolección de datos

Los instrumentos empleados consistieron en la ficha de registro de datos de las muestras analizadas donde se incluya toda la información necesaria para la investigación.

Tabulación y análisis de datos

Se hizo uso del programa informático SPSS que permitió la tabulación, representación gráfica, y mediante este programa se usó la técnica de análisis, así como de la estadística descriptiva, para llegar a las conclusiones del estudio.

Presentación de datos

Los datos obtenidos fueron presentados a través de tablas de frecuencia y gráficos que representen e interpreten los resultados obtenidos.

Consideraciones Éticas

Se contemplaron los aspectos legales y éticos para la ejecución de una investigación en muestras biológicas humanas, para ello se gestionaron los permisos correspondientes.

Dentro de los criterios éticos se aplicó un consentimiento informado, el cual garantiza la participación voluntaria del paciente en el estudio, poniendo de manifiesto los objetivos, beneficios y posibles riesgos a los que se someterá, con énfasis en que todos aquellos datos obtenidos serán confidenciales. El documento contempla las consideraciones recomendadas por la OMS.

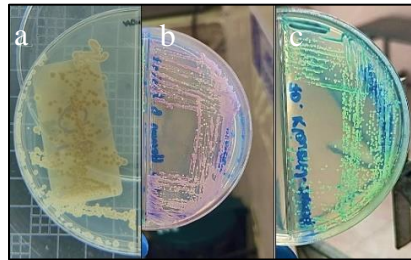
6. Resultados

Para el cumplimiento de los objetivos propuestos en la presenta investigación, se inició con la recolección de muestras respiratorias a 70 pacientes con pedido de cultivo para hongos y bacterias, se utilizó KOH como indicador de la presencia de estructuras compatibles con levaduras, de las que 37 muestras cumplieron con los criterios de exclusión e inclusión; las muestras fueron inoculadas en agar Sabouraud, de existir crecimiento se sembró en un medio cromogénico que otorgó coloración de acuerdo a la especie aislada como se observa en la Figura 1.

Figura 1

Coloración de colonias en medio CHROMagar™

Candida a partir de muestras respiratorias



Nota. a) Color beige (*Candida glabrata*).

b) Color lila (*Candida tropicalis*). c) Color verde

(*Candida albicans*)

En la tabla 2 se detalla la frecuencia de especies de *Candida* aislada a través de medios cromogénicos, los cuales, de acuerdo con las muestras respiratorias de los pacientes hospitalizados de todas las áreas del Hospital General Reina del Cisne, se observa que *Candida tropicalis* se presenta con mayor frecuencia.

Tabla 2

Identificación cualitativa de especies de *Candida* por métodos cromogénicos a partir de muestras respiratorias de los pacientes del Hospital General "Reina del Cisne"

Especie de <i>Candida</i>	Frecuencia	Porcentaje
<i>Candida albicans</i>	17	45,9
<i>Candida tropicalis</i>	18	48,6
<i>Candida glabrata</i>	2	5,4
Total	37	100,0

Nota. Datos obtenidos a partir de muestras respiratorias tomadas del "Hospital General Reina del Cisne"

En la tabla 3 se especifica la frecuencia de las especies de *Candida* de acuerdo con el área de hospitalización, presentándose con mayor frecuencia *Candida albicans* y *Candida tropicalis* en hospitalización y UCI, respectivamente.

Tabla 3

Frecuencia de las especies de Candida según el área de procedencia

Área hospitalaria	Especies de <i>Candida</i>			Total
	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida glabrata</i>	
Unidad de Cuidados Intensivos	2 (18,2%)	9 (81,8%)	0 (0,0%)	11 (100%)
Hospitalización	15 (57,7%)	9 (34,6%)	2 (7,7%)	26 (100%)
Total	17 (45,9%)	18 (48,6%)	2 (5,4%)	37 (100%)

Nota. Datos obtenidos a partir de muestras respiratorias tomadas del "Hospital General Reina del Cisne".

En la tabla 4 se especifica la frecuencia de las especies de *Candida* de acuerdo con el tipo de muestra respiratoria, presentándose con mayor frecuencia *Candida albicans* y *Candida tropicalis* en esputo y secreción traqueal, respectivamente.

Tabla 4

Frecuencia de las especies de Candida según tipo de muestra respiratoria

Tipo de muestra	Especies de <i>Candida</i>			Total
	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida glabrata</i>	
Esputo	15 (57,7%)	9 (34,6%)	2 (7,7%)	26 (100%)
Traqueal	2 (18,2%)	9 (81,8%)	0 (0,0%)	11 (100%)
Total	17 (45,9%)	18 (48,6%)	2 (5,4%)	37 (100%)

Nota. Datos obtenidos a partir de muestras respiratorias tomadas del "Hospital General Reina del Cisne"

En la tabla 5 se muestra el perfil de sensibilidad antifúngica a fluconazol.

Tabla 5

Frecuencia del perfil de sensibilidad de las especies de Candida frente a Fluconazol

Perfil de Sensibilidad a Fluconazol		
	Frecuencia	Porcentaje
Sensible	18	48,6%
Intermedio	5	13,5%
Resistente	14	37,8%
Total	37	100%

Nota. Datos obtenidos a partir de muestras respiratorias tomadas del "Hospital General Reina del Cisne".

En la tabla 6 se muestra que *Candida albicans* y *Candida tropicalis* tienen mayor resistencia antifúngica a fluconazol.

Tabla 6

Frecuencia resistencia a Fluconazol de las especies de Candida

Resistencia a Fluconazol		
Especies de <i>Candida</i>	Resistencia	Porcentaje
<i>Candida tropicalis</i>	7	50%
<i>Candida albicans</i>	7	50%
Total	14	100%

Nota. Datos obtenidos a partir de muestras respiratorias tomadas del "Hospital General Reina del Cisne".

7. Discusión

Las especies de *Candida* se presentan en el ser humano como parte de la microbiota, estas levaduras en general son de escasa patogenicidad pero se vuelven peligrosas, pudiendo algunas llegar a ser mortales en ciertas condiciones como: insuficiencia renal, neutropenia, perforación visceral, pancreatitis, politraumatismo, uso frecuente de antibióticos, el catéter venoso central y otros dispositivos invasivos, la cirugía abdominal y la internación prolongada en la UCI, etc., estas levaduras llegan a colonizar mucosas e invadir el torrente sanguíneo, convirtiéndose de levadura comensal en patógena, a razón de ello, se reconoce su importancia clínica, ya que las especies de *Candida* difieren en la expresión de factores de virulencia y susceptibilidad a los antifúngicos (Murray et al., 2017; Villalva et al., 2020).

En el presente estudio se aplica como método para identificación cromogénica, CHROMagar™*Candida* y otro de susceptibilidad antifúngica; mediante los cuales se analizaron 70 muestras respiratorias de pacientes procedentes del área de hospitalización y Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), obteniendo como resultado mayor prevalencia de casos en muestras de esputo en el área de Hospitalización y secreciones traqueales en el área de UCI.

Las pruebas convencionales para identificación de especies son fundamentales en el laboratorio, además de ser accesibles y rápidos, en cuanto a resultados, son muy útiles para determinar la especie. De este modo CHROMagar™*Candida*, al ser un método eficaz para distinguir la especie de *Candida*, también es ideal para la identificación de las mismas, proporcionando resultados en 24-48 horas. (Mulet y Cardona, 2020) En este trabajo investigativo se obtuvo una frecuencia de especie aislada en CHROMagar™ *Candida* para *C. tropicalis* del 48.6%, *Candida albicans* 45.9% y *Candida glabrata* 5.4%, respectivamente. Resultados afines con el estudio realizado por Sumitra y Megha (2019), quienes en cuanto al empleo de métodos cromogénicos consideran que es efectivo, obteniendo una sensibilidad y especificidad del CHROMagar™ *Candida* para: *Candida albicans* fue del 100 % y 96 %, *Candida tropicalis* fue del 100 % y 100 %, *Candida krusei* fue del 100 % y 100 % y *Candida glabrata* 75 % y 100 %, donde no existió identificación errónea y con resultados consistentes de los métodos convencionales. De forma análoga, en otro estudio realizado por Fallahi et al. 2020, donde se cultivaron 70 especies diferentes de *Candida*, que fueron identificadas por métodos convencionales, demostró que la comparación de los resultados del método CHROMagar™

Candida con los resultados del método PCR otorgan los resultados en perfecto acuerdo entre sí para identificar *Candida albicans*.

En relación a los resultados obtenidos por Sánchez et al. 2022, en 60 pacientes oncológicos con candidiasis oral, donde las muestras obtenidas se cultivaron en agar Sabouraud cloranfenicol, CHROMagar™ *Candida* y agar Sabouraud dextrosa, identificó un total de 107 cepas de *Candida* correspondientes a 15 especies, distribuidas del siguiente modo: *C. albicans* 23%, *C. glabrata* 18%, *C. tropicalis* 13%, *C. krusei* 10%, *C. intermedia* y *C. lipolytica* con 1,5%; resultados que coinciden con los encontrados en este trabajo de investigación, en cuanto a la frecuencia de *C. albicans* (45.9%), quien al ser parte de la microbiota del tracto respiratorio superior, en condiciones de inmunosupresión o factores de riesgo, puede llegar a colonizar el árbol respiratorio inferior, hasta el torrente sanguíneo y desencadenar así candidiasis invasivas, lo que afecta la supervivencia del paciente. Por otro lado, en este trabajo, la identificación de las especies fue inequívoca porque las características de acuerdo a la coloración dada por el medio cromogénico fueron afines a las instrucciones dadas por el proveedor, teniendo el CHROMagar™ *Candida* la ventaja de ser técnicamente simple, rápido y rentable en comparación con los métodos convencionales, por otro lado, no se observó la presencia de aislados de *Candida krusei* o *Candida dublinensis* en las muestras analizadas conforme a Gómez y Mora (2020); además de la enfermedad sistémica, la especie *Candida krusei* también se asocia con infecciones superficiales, pudiendo causar bronconeumonía y candidiasis vulvovaginal, no obstante es un agente etiológico raro de aislar, debido a que en el caso de los macrófagos primarios derivados de PBMC humanos *C. krusei* se fagocita más fácilmente que *C. albicans*, *C. auris*, *C. tropicalis* y *C. guilliermondii*, mientras que Ganiny et al. (2021) señalan en su estudio realizado en dos hospitales de Egipto, haber obtenido una tasa de prevalencia del 4.9% tanto para *C. glabrata* como *C. dubliniensis*, atribuyéndose a diversos factores, incluidas diferentes regiones geográficas, factores con relación al hospital, fuentes de la muestra y tipo de terapia antimicótica.

Se conoce que se ha incrementado el número de pacientes que desarrollan neumonía en diferentes áreas de hospitalización; sin mencionar la variedad de agentes microbianos, aún se desconoce si *Candida* puede causar una inflamación crónica de las vías respiratorias que puede provocar más secreciones respiratorias y taponamiento de mucosidad, puesto que coloniza las vías respiratorias sin evidencia de neumonía o invasión del parénquima pulmonar (Quindós, 2015); sin embargo, si es concebible que la “colonización” de las vías respiratorias por *Candida* pueda

desencadenar respuestas inmunitarias similares asociadas con el aumento de la mucosidad y el taponamiento mucoso de las vías respiratorias o la atelectasia (Johnson et al., 2020).

En el presente estudio se analizaron muestras respiratorias entre los pacientes del área de hospitalización con remisión de cultivo de muestras de esputo, dónde existe una alta frecuencia de *C. albicans* en un 57.7% mientras que para los pacientes en el área de UCI con cultivo de muestras obtenidas por aspirado traqueal predomina *C. tropicalis* con un 81.8% siendo clínicamente significativo; puesto que es de conocimiento que los pacientes de la UCI tienen un alto riesgo de infección por hongos; según Gómez y Mora (2020) al permanecer en un estado inmunodeprimido se sujetan a distintos factores de riesgo, el uso de vancomicina, ya que puede alterar la ecología del microbiota normal de la piel, promoviendo la colonización por especies de *Candida* y aumentando así el potencial de desarrollar una infección sistémica; mientras que los agentes antibacterianos antianaerobios, como piperacilina-tazobactam, pueden promover la sobrepoblación de especies de levaduras y la colonización. Resultados similares al estudio de Lamoth et al., (2018), en Estados Unidos, quienes afirman que *Candida albicans* fue la especie más prevalente (50,7%), seguida por *Candida parapsilosis* (17,4%), *Candida glabrata* (16,7%) y *Candida tropicalis* (10,2%) en pacientes hospitalizados con condiciones gastrointestinales (20,1%) y enfermedades pulmonares (13,0%), así como en el estudio de Zarrinfar et al. (2015) donde en las muestra obtenidas por líquido de lavado broncoalveolar de pacientes inmunocomprometidos e inmunocompetentes con síntomas pulmonares, a través de la identificación molecular indicó que los aislados pertenecían predominantemente a *C. albicans* (52 %), seguido de *C. tropicalis* (24 %), *C. glabrata* (14,7 %), *C. krusei* (5,3 %), *C. parapsilosis* (1,3 %), *C. kefyr* (1,3 %) y *C. guilliermondii* (1,3 %), en cambio un estudio realizado en pacientes inmunocompetentes con neumonía nosocomial por Terraneo et al. (2019) señaló, respecto a la identificación de especies de *Candida* provenientes de muestras del tracto respiratorio, que las proporciones relativas son aproximadamente las siguientes: *C. albicans* en el 50% de los casos, *C. glabrata* en el 20%, *C. parapsilosis* en el 10%, *C. tropicalis* en 10% y otras especies en 10%. Por otro lado, Sanguinetti et al. (2015) hacen mención en una revisión sistemática, que evaluó la distribución geográfica de las especies de *Candida* en muestras de sangre de pacientes hospitalizados en varias partes del mundo, encontró que *C. albicans* es el patógeno aislado con más frecuencia en el norte y centro Europa y EE. UU., mientras que las especies no albicans se encontraron predominando en Asia, el sur de Europa y sur de América.

Además, en el estudio de Johnson et al. (2020) destaca en pacientes hospitalizados con enfermedad respiratoria crónica, taponamiento mucoso y atelectasia, el cultivo de *Candida* en muestras de esputo o broncoscopia está asociado con malos resultados, dado que, requirieron broncoscopias repetidas por taponamiento mucoso y atelectasia aún con la terapia antibiótica, y muchos pacientes fallecieron por insuficiencia respiratoria; teniendo en cuenta que las exacerbaciones pulmonares fueron comunes entre pacientes ambulatorios con *Candida* en muestras de esputo. El estudio antes mencionado refirió en muchos pacientes con *Candida*, persistieron secreciones respiratorias, mucosidad y taponamiento mucoso después de un tratamiento antibiótico efectivo de bacterias, lo que respaldó su hipótesis de que *Candida* puede contribuir a la mucosidad, taponamiento mucoso y atelectasia, siendo clínicamente significativo. Por otro lado, Lazo et al., (2018) hace mención de que la epidemiología de las infecciones-colonización por *Candida albicans* ha dado un giro en el mundo, donde la frecuencia de colonización e infección que fue reportada por especies es para: *C. albicans* 40 a 60%, *C. glabrata* 20 a 30%, *C. krusei* 5 a 10%, *C. lusitaniae* 0 a 5%, *C. parapsilosis* 10 a 20% y *C. tropicalis* 20 a 30%. Según García et al. (2020) señala que el paciente críticamente enfermo tiene predisposición a contraer infección por *Candida* ya que, padece alteraciones en el sistema de defensa, como es la desnutrición, traslocación intestinal, ayuno prolongado, depresión medular con neutropenia o traumatismo mayor; a ello añade el efecto de factores externos, como son todos aquellos procedimientos invasivos, es decir, líneas centrales, cateterismo vesical, ventilación mecánica o sonda nasogástrica, incluso por factores de riesgo de candidemia como la hospitalización prolongada, administración de esteroides o antibióticos de amplio espectro, hemodiálisis, diálisis peritoneal, transfusiones sanguíneas, quimioterapia o radioterapia.

Los mecanismos de resistencia antifúngica continúan evolucionando y aumentando, los más conocidos y estudiados indican una resistencia adquirida a azoles, inducidas por bombas de eflujo codificadas por los genes MDR o CDR, y la adquisición de mutaciones puntuales en el gen que codifica para el enzima blanco de estos fármacos (gen ERG11), es así que la resistencia intrínseca a los azoles en algunas especies de *Candida*, así como el desarrollo de resistencia a los azoles de alto nivel, es un problema de importancia crítica en el entorno clínico (Pristov y Ghannoum, 2019).

Al analizar el patrón de resistencia de las especies identificadas de *Candida* se encontró que *C. tropicalis* presentó resistencia del 50 % de la misma forma que *C. albicans* en un 50% a

fluconazol, datos que concuerdan con un estudio retrospectivo en Boston, EE. UU (Oxman et al., 2018), donde informaron que el 19 % de sus infecciones por *Candida* involucraron cepas resistentes a fluconazol o cepas con susceptibilidad reducida, como en especies que generalmente se consideran susceptibles a fluconazol: *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis*, representaron el 36% de los aislamientos con susceptibilidad reducida y el 48% de los aislamientos resistentes. En Perú un estudio realizado en tres hospitales de Lima y Callao realizado por Zurita (2018), informó que las especies *Candida no albicans* representaron el 71,9%, *Candida parapsilosis* 25,3%; *Candida tropicalis* 24,7%, *Candida glabrata* 9,5%, *Candida guilliermondii* 7,0%, *Candida krusei* 0,6% y otras 5,1 % y *Candida albicans* 27,8%, y encontró cuatro aislamientos resistentes a fluconazol (2,6 %) y 17 fueron sensibles dosis dependiente a fluconazol (10,7%); además, se observó disminución en la susceptibilidad en tres aislados al posaconazol y uno a voriconazol.

Cabe señalar que un estudio realizado por Flowers et al. (2018) examinó 63 aislamientos clínicos de *C. albicans* resistentes a fluconazol en busca de mutaciones dentro de sus alelos ERG11, y encontró que 55 portaban al menos una mutación resultante en sustituciones de aminoácidos, con nueve de tales sustituciones de aminoácidos predichas; demostró que en *C. albicans*, la modulación del gen *ERG11* en la vía biosintética del ergosterol y la alteración de la proteína Erg11 a la que se dirigen los antifúngicos azoles contribuyen a la resistencia a los azoles. En cuanto a la resistencia de *C. tropicalis*, en Corea el estudio de Wang, et al. (2019) analizó de los 35 aislados clínicos de hospitales universitarios coreanos, que la expresión tanto de MDR1 como de CDR1 era significativamente mayor entre los aislados de *C. tropicalis* menos sensibles al fluconazol y los no sensibles al fluconazol, tomando en cuenta el alto grado de variabilidad en la expresión de MDR1 y CDR1 observada en el grupo de control altamente sensible a fluconazol, 50 veces y 30 veces respectivamente, por lo tanto este estudio permite poner de manifiesto que existen posibles causas que generen resistencia a antimicóticos en especies de *Candida*.

En general, podemos mencionar que la detección de resistencia a los antifúngicos y la investigación de nuevos mecanismos de resistencia nos permite cambiar o ajustar las terapias de acuerdo con la sensibilidad, desarrollar nuevos fármacos y modificar los ya existentes.

8. Conclusiones

De acuerdo con el estudio realizado dentro del Trabajo de Integración Curricular denominado “Identificación de especies de *Candida* y su resistencia a Fluconazol en muestras respiratorias de pacientes hospitalizados en el Hospital General Reina del Cisne”, se concluye lo siguiente:

El método cromogénico CHROMagar™ *Candida* demostró ser muy preciso en cuanto a la identificación en base a la coloración de la colonia según el tipo de especie de *Candida*, determinó que la especie con mayor frecuencia reconocida fue *Candida tropicalis*.

Candida tropicalis fue la especie de *Candida* predominantemente aislada en el servicio de Cuidados Intensivos y en muestras de aspirado traqueal.

En cuanto a la resistencia al antimicótico de elección Fluconazol se demostró que *Candida tropicalis* y *Candida albicans* fueron resistentes.

9. Recomendaciones

Vigilar la efectividad de la identificación a partir de medios cromogénicos de las especies de *Cándida* y su resistencia a Fluconazol, considerando el tratamiento que recibieron los pacientes con el antifúngico, realizándoles un nuevo cultivo y antifungigrama a pacientes de la Unidad de Cuidados Intensivos y del Área de Hospitalización.

Incrementar en el área de Microbiología el uso de Agar Mueller Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno para identificar la resistencia a antimicóticos a través de antifungigrama de las especies de *Cándida* que fueran aisladas, a fin de apoyar el diagnóstico y tratamiento de los pacientes, asegurando un diagnóstico oportuno y confiable.

Se recomienda realizar estudios similares a nivel cantonal de la provincia de El Oro, ampliando población y áreas de estudio, con la finalidad de crear datos epidemiológicos de las especies de *Cándida* en diversos tipos de muestras que expongan la realidad de nuestro medio.

Mejorar y/o implementar protocolos que permitan un adecuado control del ambiente hospitalario a cumplirse por parte del personal sanitario, de manera especial para los que laboran en UCI; asegurar el cumplimiento de las normas de bioseguridad de los familiares de los pacientes que ingresan a la UCI con el uso de: batas, gorro, zapatones, mascarillas y guantes, inclusive; aplicar procedimientos necesarios para evitar aglomeración en el área de hospitalización, puesto que es relevante para evitar la transmisión de estos microorganismos.

10. Bibliografía

- Arenas, R. (2014). *Micología Médica Ilustrada*. 5ª edición. McGrawHill. China.
- Barac, A., Cevik, M., Colovic, N., Lekovik, D., Stevanovic, G., Mici, J., Rubino, S. (2020). Investigation of a healthcare-associated *Candida tropicalis* candidiasis cluster in a haematology unit and a systematic review of nosocomial outbreaks. *Mycoses*, 63: 326-333. DOI: 10.1111/myc.13048
- Bhattacharya, S., Sae, S., Fries, B. (2020). Candidiasis and Mechanisms of Antifungal Resistance. *Antibiotics*, 9(312). Recuperado de <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics9060312>
- Bologna, Schaffer, & Cerroni. (2015). *Dermatología* (Cuarta ed., Vol. XXVII). España: Elsevier.
- Bonifaz, A. (2012). *Micología Médica Básica*. 4ª edición. McGrawHill. China
- Brenner. (2019). *Farmacología básica* (Quinta ed., Vol. III). España: Elsevier
- Carroll, K., Hobden, J., Miller, S., Morse, S., Mietznier, T., Detrick, B., Mitchell, T., McKerrow, J., Sakanari, J. (2016). *Jawetz, Melnick, & Adelberg Microbiología médica*. 27ª edición. McGrawHill. México
- Duque, C., Sanchez, D., Gaviria, A., Vallejo, A., Gómez, B., Gómez, O., Giraldo, A., Hernández, O. (2020). Caracterización de *Candida* spp. aisladas a partir de urocultivos en la ciudad de Medellín. *ACIN*: 24(4), 217-223. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v24n4/0123-9392-inf-24-04-217.pdf>
- Ellepola, K., Truong, T., Liu, Y., Lin, Q., Lim, T., Lee, Y., Cao, T., Koo, H., Seneviratne, C. (2019). Multi -omics analyses reveal synergistic carbohydrate metabolism in *Streptococcus mutans*-2 *Candida albicans* mixed -species biofilms. *Infection and Immunity*, DOI: 10.1128/IAI.00339-19
- Fallahi, S., Babaei, M., Rostami, Ali., Mirahmadi, H., Arab, Z., Sepahvand, A. (2020). Diagnosis of *Candida albicans*: conventional diagnostic methods compared to the loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay. *Archives of Microbiology*, Recuperado de <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01736-7>
- Flowers, S., Colón, B., Whaley, S., Schuler, M., Rogers, D. (2018). Contribution of Clinically Derived Mutations in *ERG11* to Azole Resistance in *Candida albicans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59, 450-460. Recuperado de <https://doi.org/10.1128/AAC.03470-14>

- García, D., Duarte, R., Mesa, L., López, M., Adjudah, C. (2020). Situación actual de la candidiasis sistémica en pacientes hospitalizados. *Acta Médica del Centro*, 14(2), 182-192. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/medicadelcentro/mec-2020/mec202e.pdf>
- Ganiny, A., Yossef, N., Kamel, H. (2021). Prevalence and antifungal drug resistance of nosocomial *Candida* species isolated from two university hospitals in Egypt. *Current Medical Mycology*, 7(1): 31-37. DOI: 10.18502/cmm.7.1.6181.
- Gómez, M., Mora, H. (2020). Current Aspects in the Biology, Pathogeny, and Treatment of *Candida krusei*, a Neglected Fungal Pathogen. *Infection and Drug Resistance*, 13: 1673-1689. <https://doi.org/10.2147/IDR.S247944>
- Gutiérrez-Martínez, M. J., Araiza-Santibáñez, J., Hernández, M. A., Chávez-Mayol, J. M., Rodríguez-Piñeyro, O. M., & Bonifaz, A. (2012). Estudio in vitro de antimicóticos contra cepas de *Candida* aisladas de pacientes del hospital general de México. *Dermatología Revista Mexicana*, 56(2), 93–101.
- Healey, K., Perlin, D. (2018). Fungal Resistance to Echinocandins and the MDR Phenomenon in *Candida glabrata*. *Journal of Fungi*, 4(105): 1-14. <http://dx.doi.org/10.3390/jof4030105>
- Jamiu, A., Albertyn, J., Sebolai, O., Pohl, C. (2021). Update on *Candida krusei*, a potential multidrug-resistant pathogen. *Medical Mycology*, 1(59): 14-30. <https://doi.org/10.1093/mmy/myaa031>
- Johnson, D., Chirumilla, S., Paez, A. (2020). Respiratory *Candida* in Patients with Bronchitis, Mucus Plugging, and Atelectasis. *Open Respiratory Medicine Journal*, 14: 87-92. <https://doi.org/10.2174%2F1874306402014010087>
- Katzung, B. (2019). *Farmacología básica y clínica*. McGrawHill. México.
- Lamoth, F., Lockhart, S., Berkow, E., Calandra, T. (2018). Changes in the epidemiological landscape of invasive candidiasis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(Suppl 1): i4-i13. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx444>
- Lazo, V., Hernández, G., Méndez, R. (2018). Candidiasis sistémica en pacientes críticos, factores predictores de riesgo. *Horizonte Médico*. 18(1): 75-85. Recuperado de <http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v18n1/a11v18n1.pdf>

- Mangal, U., Yeong, J., Young, J., Sung Kwon, J., Sung Hwan, C. (2019). Novel Poly(Methyl Methacrylate) Containing Nanodiamond to Improve the Mechanical Properties and Fungal Resistance. *Materials*, 12(20): 3438. <https://doi.org/10.3390/ma12203438>
- Méndez, R. (2018). Micosis en las uñas. Obtenido de Enciclopedia médica: Recuperado de <https://healthtools.aarp.org/es/health/micosis-en-las-unas#>
- Morales, N., Cardona, N. (2018). Métodos de diagnóstico en micología. *CES Medicina*, 32(1). Recuperado de <https://doi.org/10.21615/cesmedicina.32.1.5>
- Mulet, J., Cardona, C. (2020). Evaluation of a novel chromogenic medium for *Candida* spp. identification and comparison with CHROMagar™ *Candida* for the detection of *Candida auris* in surveillance samples. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 98(4): 115168. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2020.115168>
- Murray, P., Rosenthal, K., Pfaller, M. (2017). *Microbiología Médica*: S.A. Elsevier España.
- Neetu, J., Purva, M., Mahesh, C., Bijayini, B., Inmaculata, X., Satya, P. (2018). Rapid identification of yeast isolates from clinical specimens in critically ill trauma ICU patients. *J Lab Physicians*, 4(1): 30-4. Recuperado de [10.4103/0974-2727.98667](https://doi.org/10.4103/0974-2727.98667)
- Nocua, L., Uribe, P., Tarazona, L., Robles, R., Cortés, J. (2020). Azoles de antes y ahora: una revisión. *Revista Chilena de Infectología*, 37(3): 219-230.
- Oxman, D., Chow, J., Frendl, G., Hadley, S., Hershkovitz, S., Irlanda, P., McDermott, L., Tsai, K., Marty, F., Kontoyiannis, D., Golán, Y. (2018). Candidaemia asociada con la disminución *in vitro* de fluconazol susceptibilidad: ¿la especiación de *Candida* es predictiva del patrón de susceptibilidad? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(1): 1460-1465. Recuperado de <https://doi.org/10.1093/jac/dkq136>
- Pereira, R., Santos, R., Brito, E., Morais, S. (2021). Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance. *Journal of Applied Microbiology*, 131(1): 11-22. <https://doi.org/10.1111/jam.14949>
- Pérez, J., Casado, I., Y Nuño, F. (2017). Técnica de examen directo de la onicomicosis mediante microscopía con hidróxido de potasio. *Revista Española de Podología*, 28(1): 46-52. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.repod.2017.01.001>
- Pristov, K., Ghannoum, M. (2019). Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. *Clinical Microbiology and Infection*, 25: 792-798. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.028>

- Quindós, G. (2015). *Micología clínica*. Barcelona: Elsevier S.A. España
- Rosales-López, C., Valerín-Berrocal, K., Jiménez-Bonilla, V. (2018). Crecimiento dimórfico y caracterización molecular de *Candida guilliermondii* aislado de *Panicum maximum*. *Tecnología en marcha*. 31(1): 120-130. DOI:10.18845/tm.v31i1.3502
- Sanguinetti, M., Posteraro, B., Lass, C. (2015). Antifungal drug resistance among *Candida* species: mechanisms and clinical impact. *Mycoses*, 58(Supl. 2): 2-13. Recuperado de <https://doi.org/10.1111/myc.12330>
- Sánchez, L., Núñez, N., Galeano, L., Rodríguez, J., Gómez, R., Pérez, M. (2019). Uso de medicamentos antifúngicos la unidad de cuidados intensivos de adulto en una institución prestadora de servicio. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 38(2). Recuperado de https://www.revistaavft.com/images/revistas/2019/avft_3_2019/8_uso_medicamentos.pdf
- Sánchez, M., Rebolledo, M., Filott, M., Vilorio, S., Bettín, A. (2022). Diversidad de especies de *Candida* recuperadas de la cavidad bucal de pacientes oncológicos en Barranquilla, Colombia. *Revista Argentina de Microbiología*:1-8. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2022.05.011>
- Siopi, M., Aikaterini, T., Kalogeropoulou, E., Damianidou, S., Vasilakopoulou, A., Vourli, S., Pournaras, S., Meletiadi, J. (2019). Epidemiological Trends of Fungemia in Greece with a Focus on Candidemia during the Recent Financial Crisis: a 10-Year Survey in a Tertiary Care Academic Hospital and Review of Literature. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1(6). <https://doi.org/10.1128/AAC.01516-19>
- Staniszewska, M. (2020). Virulence Factors in *Candida* species. *Current Protein and Peptide Science*, 21(3): 313-323. DOI: <https://doi.org/10.2174/1389203720666190722152415>
- Sumitra, L., Megha, M. (2019). Speciation of *Candida* Species Isolated from Clinical Specimens by Using Chrom Agar and Conventional Methods. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 3(4), 1-5. ISSN 2250-3153
- Talapak, J., Juzbasic, Matijevic, T., Pustijanac, E., Bekic, S., Kotris, I., Skrlec, I. (2021). *Candida albicans*—The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection. *Journal of Fungi*, 7(79): 2-19. <https://doi.org/10.3390/jof7020079>

- Tepal, K., Bonifaz, A. (2020). Aspectos inmunológicos de la candidosis mucocutánea crónica. *Dermatología CMQ*, 18(4): 296-305. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2020/dcm2041.pdf>
- Terraneo, S., Ferrer, M., Loeches, M., Esperatti, M., Pasquale, M., Giunta, V., Rinaudo, M., Rosa, F., Bassi, G., Centanni, S., Torres, A. (2019). Impact of *Candida* spp. isolation in the respiratory tract in patients with intensive care unit-acquired pneumonia. *Clinical Microbiology and Infection*, doi: 10.1016/j.cmi.2015.09.002.
- Toth, R., Nosek, J., Mora, H., Gabaldon, T., Bliss, J., Nosanchuk, J., Turner, S., Butler, G., Vagvolgyi, C., Gacser, A. (2019). *Candida* parapsilosis: from Genes to the Bedside. *Clinical Microbiology Reviews*, 2(32): e00111-18. DOI: <https://doi.org/10.1128/CMR.00111-18>
- Toner L, Papa N, Aliyu SH, Dev H, Lawrentschuk N, Al-Hayek S. (2016). *Candida* growth in urine cultures: a contemporary analysis of species and antifungal susceptibility profiles. *QJM*. May;109(5), 325–9.
- Torre V, Martínez M, Reséndiz J. (2014). Risk factors and Epidemiology of candidemia at Hospital Juárez de México. *Medicine Internal Mexico*, 30(2):121-132.
- Vega, D., Bernal, L., Villanueva, S., Arenas, R. (2015). Infecciones urinarias por *Candida* spp. Estudio de 29 pacientes en un hospital general. *Medicina Interna de México*, 31(1): 19-24.
- Vieira, A., Zuza, D., Silva, W., Ferreira, L., Salles, A., Maranhao, G. (2019). Virulence factors of *Candida* spp. obtained from blood cultures of patients with candidemia attended at tertiary hospitals in Northeast Brazil. *Journal de Mycologie Médicale*, 29(2): 132-139. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2019.02.002>
- Vigazzi, C., Riera, F., Icely, P., Miró, M., Fig, C., Ceiro, J., Sotomayor, C. (2021). Candidiasis invasora: un enfoque a la infección en el sistema nervioso central. *Revista Argentina de Microbiología*, 53(2). ISSN 1851-7617
- Villalva, V., Mecías, G., Moya, S., Vaca, F. (2020). Infecciones micóticas en UCI. *RECIAMUC*, 4(3): 99-108. DOI: 10.26820/reciamuc/4. (3).julio.2020.99-108
- Wang, E., Farmokiotis, D., Yang, D., McCue, D., Kantarjian, H., Kontoyiannis, D., Mathisen, M. (2019). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(8), 2362-2368. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv087>

Zarrinfar, H., Kaboli, S., Dolatabadi, S., Mohammadi, R. (2015). Rapid detection of *Candida* species in bronchoalveolar lavage fluid from patients with pulmonary symptoms. *Medical Microbiology*, 47(1). Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.02.001>

Zurita, S. (2018). Situación De La Resistencia Antifúngica De Especies Del Género *Candida* En Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 35(1): 126-131. [10.17843/rpmesp.2018.351.3563](https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.351.3563)

11. Anexos

Anexo 1

Oficio de aprobación para la realización de la investigación en el Hospital General Reina del Cisne dirigido al director del mismo



Piñas, 21 de febrero de 2022

Oficio N.012-HGRC-CONT-2022

Dra.
Sandra Freire Cuesta
DIRECTORA DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO FSH. UNL.
Loja.

Asunto: AUTORIZACIÓN RECOLECCIÓN DE MUESTRAS SRTA. XIOMARA LISSETTE CUEVA GUAJALA

De mis consideraciones.

Yo, Jacome Ponce Johnny Alejandro con CI. 0909453524, representante del Hospital General Reina del Cisne; en atención al oficio recibido Nro. 2022-00179-CLC-FSH-UNL, **AUTORIZO** a la Srta. **XIOMARA LISSETTE CUEVA GUAJALA** para que realice las actividades de recolección de muestras respiratorias a los pacientes hospitalizados de esta institución de salud.

Atentamente,

Johnny Alejandro Jácome Ponce
REPRESENTANTE LEGAL
HOSPITAL GENERAL REINA DEL CISNE

 reinadelcisne
HOSPITAL GENERAL
Dr. Johnny Jácome
DIRECTOR MÉDICO

Anexo 2

Oficios de aprobación para el desarrollo del trabajo de Integración Curricular

Loja, 10 de febrero 2022

Dra. Sandra Freire Cuesta.
DIRECTORA CARRERA LABORATORIO CLINICO
Ciudad. -

De mi consideración:

Por medio del presente me permito dar a conocer el informe solicitado mediante Of. Nro. 2022-0090-CLC-FSH-UNL, que en su parte pertinente señala: "emita el informe de estructura, coherencia y pertinencia del proyecto; por lo cual se le ha designado para que dé informe de pertinencia al trabajo de la estudiante: XIOMARA LISSETTE CUEVA GUAJALA".

Después de haber revisado el anteproyecto de tesis presentado, y, cumplidas las sugerencias por parte de la estudiante XIOMARA LISSETTE CUEVA GUAJALA, cuyo tema "IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE *CANDIDA* Y SU RESISTENCIA A FLUCONAZOL EN MUESTRAS RESPIRATORIAS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS EN EL HOSPITAL GENERAL "REINA DEL CISNE"; indico que el proyecto CUMPLE con los requisitos de **ESTRUCTURA, COHERENCIA Y PERTINENCIA** para ejecutar la investigación.

Por la favorable atención a la presente, antelo los debidos agradecimientos.



PROF. G. ALFARITA RUIZ
GLENDA ALFARITA
RODRIGUEZ LEON

Lcda. Glenda Rodríguez León
DOCENTE CARRERA DE LABORATORIO CLINICO



UNL

Universidad
Nacional
de Loja

Facultad
de la Salud
Humana

Of. Nro. 2022-0117-DFSH-UNL
Loja, 02 de marzo de 2022

Señorita
Xiomara Lissette Cueva Guajala
ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO
Presente.-

De mi especial consideración:

En atención a Of. No. 2022-00202-CLC-FSH-UNL de 24 de febrero de 2022, suscrito por la Dra. Sandra Freire Cuesta, Directora de la Carrera de Laboratorio Clínico, en mi calidad de Autoridad Académica de esta Facultad, en el marco del proyecto de tesis denominado: "IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE CANDIDA Y SU RESISTENCIA A FLUCONAZOL EN MUESTRAS RESPIRATORIAS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS EN EL HOSPITAL GENERAL REINA DEL CISNE"; autorizo el préstamo de la incubadora del Centro de Diagnóstico Médico para realizar el procedimiento requerido.

De la misma manera, solicito a la Lcda. Diana Ramón Montaña, brindar el apoyo técnico con respecto a la incubación de medios.

Aprovecho la oportunidad para reiterar mi sentimiento de consideración y estima.

Atentamente,
**EN LOS TESOROS DE LA SABIDURIA,
ESTA LA GLORIFICACION DE LA VIDA.**



Dr. Amable Bermeo Flores, Mg. Sc.
DECANO FACULTAD DE LA SALUD HUMANA UNL

Cc: Lcda. Diana Ramón Montaña, Archivo

ABF/ Yadira Córdova.

Anexo 3

Consentimiento informado que acudieron Laboratorio Clínico del Hospital Reina del Cisne con órdenes de cultivo de muestras respiratorias

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Identificación de especies de *Candida* y su resistencia a Fluconazol en muestras respiratorias de pacientes hospitalizados en el Hospital General Reina Del Cisne

Investigador:

Tutor:

Fecha:

Hora:

Domicilio:

En el marco del proyecto de tesis “**Identificación de especies de *Candida* y su resistencia a Fluconazol en muestras respiratorias de pacientes hospitalizados en el Hospital General Reina Del Cisne**” bajo la coordinación de la Dra. Sandra Freire, Gestora de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Facultad de la Salud Humana, se realizarán investigaciones con diversos enfoques, aportando a la contribución científica a nivel nacional e internacional con la publicación de artículos de los temas investigativos y finalmente aportar al perfil epidemiológico local.

Para la ejecución del mismo, se necesita la recolección de muestras pulmonares (esputo, aspirado traqueal, lavado broncoalveolar y minibal) de las personas que se encuentren ingresados en el Hospital “Reina del Cisne” y que en adelante se denominarán: ‘pacientes’.

Los participantes del proyecto pertenecen a la ciudad de Piñas, se recolectará la información requerida por la ficha EPI-1 de vigilancia epidemiológica del Ministerio de Salud Pública, para la obtención de datos personales y de contacto; y para el seguimiento de datos, para la toma de muestras, así como para procesarla para su posterior análisis, mismo que se llevará a cabo en el laboratorio CDM de la Universidad Nacional de Loja.

Considerando que la muestras serán recolectadas de acuerdo al protocolo asignado al tipo de muestra respiratoria, en caso de ser esputo será tomada por el paciente, de ser necesario, realizando

un enjuague con agua destilada o solución salina y tras expectoración profunda en la mañana se recolectara en un frasco tapa hermética estéril y si el paciente se encuentra en un estado que no le permita tomarla solo o el médico sugiera, se procederá a realizar aspirado traqueal por aspiración a través del tubo endotraqueal, miniBAL o lavado bronquial, por el profesional a cargo, mismo que le hará aspiración de secreciones del árbol bronquial superior por fibrobroncoscopia tras instilación de 5-10 ml suero fisiológico. Estos procedimientos utilizados serán de muy bajo riesgo para la salud del paciente.

Los resultados, serán informados en medida del procesamiento y análisis de las muestras a las instancias correspondientes al Hospital “Reina del Cisne” y serán registrados para su monitoreo posterior. Toda la información recolectada se recopilará y procesará con estricta confidencialidad para asegurar la privacidad de los pacientes.

DECLARACION DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA OBTENCIÓN DE MUESTRA

Siendo mayor de edad, en uso pleno de mis facultades mentales y sin presión, coacción ni violencia alguna; en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio indicado, declaro mediante la presente que, he facilitado la información completa hasta mi conocimiento sobre mi estado de salud; que he sido informado de manera clara y sencilla por parte investigadores, de todos los aspectos relacionados con el proyecto y estoy de acuerdo con el procedimiento que se me ha propuesto; que está claro, que mi participación en dicho proyecto consiste en entregar una muestra de secreción bronquial para que sea procesada y que dicha muestra no será empleada para otros fines sin mi consentimiento.

Declaro que he sido informado de las ventajas e inconvenientes de mi participación en el proyecto. Que he escuchado, leído y comprendido toda la información recibida y se me ha dado la oportunidad de preguntar lo que he necesitado sobre el proyecto.

Que el grupo de investigadores coordinados por la Dra. Sandra Freire me ha garantizado la total confidencialidad relacionada a mi identidad como a cualquier información relacionada a mi persona, a la que tengan acceso para el desarrollo de este proyecto.

Que bajo ningún aspecto podré restringir el uso académico de los resultados obtenidos en el presente estudio.

Que bajo ningún aspecto se me ha ofrecido ni pretendo recibir ningún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que puedan producirse en el referido proyecto de investigación.

Que puedo retirarme del proyecto en caso de considerar que el mismo ya no es de mi interés o conveniencia.

Nombre, firma y número
cédula del paciente

Nombre, firma y número de
cédula del testigo

NEGATIVA DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

Fecha:

Siendo mayor de edad, en uso pleno de mis facultades mentales y sin presión, coacción ni violencia alguna, NO autorizo y me niego a que se me realice el procedimiento, propuesto, responsabilidades futuras de cualquier índole al servicio de salud y a la intervención sugerida.

Nombre y número

Firma del paciente

REVOCATORIA DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO


Siendo mayor de edad, en uso pleno de mis facultades mentales y sin presión, coacción ni violencia alguna, REVOCO el consentimiento realizado en fecha..... y no deseo que se prosiga con el procesamiento de la muestra entregada o el uso de mis datos. Doy por finalizado en esta fecha..... mi consentimiento.

Nombre y número

Firma del paciente

Anexo 4

Recolección y transporte de muestras respiratorias

 <p>1859</p>	<p align="center">Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico Preparación de material</p>	<p align="center">Protocolo para la recolección y transporte de muestras respiratorias</p>
<p>Fecha de elaboración: 09 de enero del 2022</p>	<p>Tutor de proyecto de tesis:</p>	<p>Código: 0001</p> <p>Versión: 001</p>

<p>Equipo/Área</p>	<p>Laboratorio de Diagnóstico Médico de la Universidad Nacional de Loja</p>	
<p>Responsable del laboratorio</p>	<p>Lic. Diana Ramón</p>	
<p>Frecuencia</p>	<p>Durante el periodo febrero-abril del 2022</p>	
<p>Acciones preliminares</p>	<p>Verificar que se disponga de todo el material necesario.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Guantes, gorro, mascarillas y mandil • Frascos estériles • Contenedor estanco • Geles • Material absorbente • Rotulador
<p>Procedimiento para la preparación del material</p>	<p>Antes de iniciar cada procedimiento, el investigador se debe realizar un correcto lavado de manos y colocarse todos los implementos de seguridad. Explicar al paciente en que consiste cada procedimiento.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Toma de muestra de esputo 2. Inicialmente, el paciente, lava su boca con agua limpia para eliminar restos alimenticios. 3. Segundo, inhala profundamente 2 veces y exhala fuertemente en cada ocasión. 4. Tose profundamente para producir el esputo. 5. Coloca el frasco recolector cerca de su boca para colocar la muestra, evitando contaminación fuera de este. 6. Posterior, lavar sus manos. 7. En caso de no producirse esputo espontáneamente, se debe nebulizar (hacer inhalar) al paciente aproximadamente 10 	


	<p>minutos con solución fisiológica, a temperatura poco superior a la corporal. (OPS, 2008)</p> <p>8. Si el paciente se encuentra en estado crítico o incapacitado, la muestra será tomada por aspirado traqueal por medio de aspiración a través del tubo endotraqueal y si el especialista lo sugiere, sería lavado bronquial, para ello, el profesional a cargo realizará una aspiración de secreciones del árbol bronquial superior por fibrobronscopía tras instilación de 5-10 ml SF. (López, 2017)</p> <p>9. Transporte de muestra de secreción bronquial</p> <ul style="list-style-type: none"> - Al llegar aquellas muestras al laboratorio, revisar que el recipiente sea tapa hermético y estéril. - Las muestras deben ser conservadas de preferencia en refrigeración o de no ser posible, en un lugar fresco y protegido de la luz, ya que la temperatura y el transcurso del tiempo favorecen la multiplicación de los gérmenes habituales de la boca. - Por lo tanto, las muestras deben refrigerarse a 4–8°C, por un máximo de 24 horas, si se demora el transporte. <p>Para el transporte considerar:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Protección del calor excesivo. - Protección de la luz solar. - Acomodo de las muestras y utilización de los insumos. (Montoro y Moquete, 2014) <p>Por el contrario, si se va a enviar en menos de 2 horas, a temperatura ambiente en horarios de 7 horas. Fuera de ese horario conservar en el lugar de origen hasta el día siguiente, en heladera (4°C-8C). (Santillán, 2021)</p> <ul style="list-style-type: none"> - El número total de muestras en la caja corresponderá al número de solicitudes que lleva incluidas, utilizando el triple empaque para su movilización. (Montoro y Moquete, 2014)
<p>Elaborado por: Xiomara Lissette Cueva Guajala</p>	<p>Revisado por:</p>
<p>Firma:</p>	<p>Firma:</p>

Nota 1: Organización Panamericana de la Salud, (2008). Manual para el diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis. Organización Mundial de la Salud. México. <https://files.sld.cu/tuberculosis/files/2009/12/tb-labs-baciloscopial.pdf>

- López, A. (2017). Manual De Toma De Muestras De Microbiología. Servicio Aragonés de Salud. Obtenido de https://sectorzaragozados.salud.aragon.es/uploads/documentos/documentos_Manual_Toma_de_Muestras_2017_6208e76d.pdf
- Santillán, M. (2021). Manual de Toma y Transporte De Muestras de Microbiología. Hospital de Pediatría Garrahan. [Consultado el 06 de enero del 2022]. Obtenido de <https://www.garrahan.gov.ar/lab/images/MTmicro.pdf>
- Montoro, E., Moquete, E. (2014). Procedimientos de Bioseguridad en el transporte de muestras biológicas en la Red Pública de Servicios. [Consultado el 06 de enero del 2022]. Obtenido de https://siapsprogram.org/wp-content/uploads/2015/01/2_Manual-Bioseguridad-en-Transporte-de-Muestras1.pdf

Anexo 5

Elaboración de medios de cultivo Mueller Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno.

 <p>1859</p>	<p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico Preparación de material</p>	<p>Protocolo para la elaboración de medios de cultivo Mueller Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno</p>
<p>Fecha de elaboración: 09 de enero del 2022</p>	<p>Tutor de proyecto de tesis:</p>	<p>Código: 0002</p> <p>Versión: 002</p>


<p>Equipo/Área</p>	<p>Laboratorio de Diagnóstico Médico de la Universidad Nacional de Loja</p>	
<p>Responsable del laboratorio</p>	<p>Lic. Diana Ramón</p>	
<p>Frecuencia</p>	<p>Al inicio del periodo febrero-abril del 2022</p>	
<p>Acciones preliminares</p>	<p>Verificar que se disponga de todo el material necesario.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Guantes, gorro, mascarillas y mandil • Cajas monopetri • Glucosa • Azul de Metileno • Agar Muller Hinton • Autoclave • Nevera
<p>Procedimiento para la preparación del material</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. El investigador debe preparar el medio de Agar Muller Hinton (MHA) siguiendo las indicaciones del fabricante y añadir 20 g de glucosa por litro de medio. 2. Adicionar 100 µl de la solución de azul de metileno (5 mg/ml) por cada litro de medio. 3. Llevará la preparación a esterilizar en autoclave. 4. Dejar enfriar el medio a 45-50 °C y llenar las placas con aproximadamente 28-30 ml de medio para placas de 9-10 cm de diámetro y con 67-70 ml si son de 5 cm (la altura de la capa de agar debe ser de al menos 4 mm). 5. Dejar enfriar y guardar en la nevera. 6. Una vez preparadas las placas pueden ser almacenadas un lapso de 7 días (CLSI, 2007). 	

Elaborado por: Xiomara Lissette Cueva Guajala	Revisado por:
Firma:	Firma:

Nota 2: CLSI, M. e. (2007). Estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A). <http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo15.pdf>.

Anexo 6

Control de calidad de los agares

 <p>1859</p>	<p align="center">Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico Preparación de material</p>	<p align="center">Protocolo para Control de calidad de los agares</p>
<p>Fecha de elaboración: 09 de enero del 2022</p>	<p>Tutor de proyecto de tesis:</p>	<p>Código: 0003</p> <p>Versión: 003</p>

<p>Equipo/Área</p>	<p>Laboratorio de Diagnóstico Médico de la Universidad Nacional de Loja</p>	
<p>Responsable del laboratorio</p>	<p>Lic. Diana Ramón</p>	
<p>Frecuencia</p>	<p>Al inicio del periodo febrero-abril del 2022</p>	
<p>Acciones preliminares</p>	<p>Verificar que se disponga de todo el material necesario.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Guantes, gorro, mascarillas y mandil • Cajas monopetri • Glucosa • Azul de Metileno • Agar Muller Hinton • Autoclave • Nevera
<p>Procedimiento para la preparación del material</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Correcto lavado de manos del investigador y colocación de todos los implementos de bioseguridad como guantes, mascarillas, gafas, mandil, gorro y pijama 2. Desinfectar con cloro correctamente el lugar de trabajo 3. Colocar una caja Petri con el agar Mueller Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno por cada lote, en la incubadora durante 42 horas a 35°C y observar si existe crecimiento en el medio de cultivo (Méndez, Quintos, 2016). 4. Si no existe crecimiento escribir la fecha de preparación. (Méndez Y Quintos, 2016) 	
<p>Elaborado por: Xiomara Lissette Cueva Guajala</p>	<p>Revisado por:</p>	
<p>Firma:</p>	<p>Firma:</p>	

Nota 3: Méndez, M., Quintos, M. (2016). Control De Calidad De Medios De Cultivo. Obtenido de <https://es.scribd.com/document/369554242/Maricela-Esteba-Et-Al-Calidad-Medios-Cultivo>

	MEDIBAC LABORATORIO		Rev: 04 Fecha: 16/02/2018
	CERTIFICADO DE CONTROL DE CALIDAD		Pag 1/1 
LABORATORIO MEDIBAC Av: Las Aguas 1111 entre Jiguas y Laureles Guayaquil Ecuador	Fecha de Emisión: 23/02/2022	Elaborado por: Coordinador de Calidad	Revisado y Aprobado por: Inspector de Calidad

CONTROL DE CALIDAD MEDIOS DE CULTIVO

NOMBRE DEL MEDIO: AGAR SABOURAUD BIPETRI

USO ESPECIFICO: Medio de cultivo utilizado principalmente para la recuperacion y aislamiento de hongos y levaduras.

LOTE: 7034-220222
 F. ELAB: 22/02/2022
 F. EXP: 24/03/2022

Nota: Basados en Norma CLSI M22-A3

ASPECTOS FISICOS DEL MEDIO		RESULTADOS	
Apariencia	Medio solido de color Beige - Ambar palido	CUMPLE	
Color del medio solido	Beige - Ambar palido	CUMPLE	
Consistencia	La consistencia del medio debe ser ligeramente dura, para que permita la siembra de muestras sin romperse.	CUMPLE	
Volumen del medio	20cc que deben dar con una capa de 4 - 5 mm de agar en placa de petri.	CUMPLE	
Tersura	El medio debe ser completamente liso, no debe presentar rugosidad ni burbujas que dificulten la siembra.	CUMPLE	
Esterilidad	El medio antes de usarse debe encontrarse libre de cualquier crecimiento microbiano	CUMPLE	
PRUEBAS DE CRECIMIENTO			
MICROORGANISMOS	ATCC	INOCULO A PARTIR DEL TUBO 0,5 DE LA ESCALA DE MAC FARLAND	RESULTADOS
Candida albicans	10231	1/1000	SE OBSERVA CRECIMIENTO ABUNDANTE EN PLACA.
Escherichia coli	25922	1/1000	NO SE OBSERVA CRECIMIENTO DEBIL EN PLACA.
Staphylococcus aureus	25923	1/1000	NO SE OBSERVA CRECIMIENTO DEBIL EN PLACA.

COMPORTAMIENTO: EL MEDIO FUNCIONA CORRECTAMENTE

SI X NO ___

NOTA: LOS MEDIOS DE CULTIVOS PREPARADOS ESTAN LISTOS PARA SU USO, NO DEBEN SER INCUBADOS. ESTE PROCEDIMIENTO YA FUE EFECTUADO EN LAS INSTALACIONES DE MEDIBAC_LAB



TEC. Gleydis Hernández
Coord. Calidad



QF. Juana Cedeño
Inspector de Calidad

Quito, 18 de febrero de 2022

A quien interese:

CULTIPREP CÍA. LTDA. certifica que los productos elaborados y distribuidos por la Empresa son medios de cultivo marca Becton Dickinson and Company, y que son realizados de acuerdo a las instrucciones dadas por el fabricante.

Se adjunta a este documento los certificados de análisis que entrega Becton Dickinson junto a los medios de cultivo.

Atentamente,



Mtr. María Laura Egas

Gerente general



Certificate of Analysis

Becton Dickinson and Company
 BD Diagnostic Systems
 PO Box 999
 Sparks MD 21152-0999 US

Page: 1 of 3

Product Name	: Bottle CHROMagar Candida 500 Gm			
Catalog Number	: 212961	Manufacture Date:	2021/03/20	
Batch Number	: 1097086			
Expiration Date	: 2023/03/31			

01. Dehydrated Medium Powder Appearance: Fine, homogeneous and free of extraneous material

02. Solubility (47.67 g/L): Soluble in distilled or deionized water

03. Prepared Plate Appearance: Clear to slightly hazy.

04. Biological Performance: Medium was prepared per label directions. Plates were inoculated with the test organisms, incubated at 33-37°C for 48 hours under appropriate atmospheric condition and gave cultural responses as indicated:

CULTURE	ATCC®	RESULT
Candida albicans	60193	Growth, light to medium green colonies
Candida albicans	10231	Growth, light to medium green colonies
Candida krusei	34135	Growth, mauve to rose pink; with or without a whitish border
Candida tropicalis	1369	Growth, metallic blue colonies; with or without violet halos in the surrounding medium
Candida tropicalis	9968	Growth, gray to blue colonies; with or without violet halos
Pseudomonas aeruginosa	27853	Partial to complete inhibition

Characteristic	Unit	Value	Lower Limit	Upper Limit
pH at 25°C :		6.0	5.7	6.1
Bulk Lot Number :	-	1074907		

Animal source	Country of Origin	Tissue Category		
		BIC	SIC	ABC
Bovine	New Zealand	IV	IV	MLK
Porcine	USA	III	III	IB
Porcine	USA	IV	IV	IB

This product contains a synthetic ingredient. Although the components used directly in the manufacture of this ingredient do not contain animal origin materials, the tertiary processing (i.e., two steps removed from the components used directly in the manufacture of this ingredient) includes a component from shrimp that typically originates in either China or the USA.

The Batch Number on this certificate is synonymous with the Lot Number shown on the product label.

Creation Date: 2021/04/21 15:00:23



Certificate of Analysis

Becton Dickinson and Company
BD Diagnostic Systems
PO Box 999
Sparks MD 21152-0999 US

Page: 2 of 3

Product Name : Bottle CHROMagar Candida 500 Gm
Catalog Number : 212961 **Manufacture Date:** 2021/03/20
Batch Number : 1097086
Expiration Date : 2023/03/31

BD Diagnostics - Diagnostic Systems products are manufactured in ISO 13485:2016 Registered facilities. In addition, BD Diagnostics - Diagnostic Systems facilities are registered with the United States Food and Drug Administration (FDA), and are regulated by the FDA's Quality System Regulations (QSRs). This product met BDDS stringent quality standards at time of batch/lot release. Any test results reported on this certificate were obtained at time of release. This material is not for human or animal consumption.

BD Diagnostics - Diagnostic Systems' Certificates of Analysis (COA) typically contain animal origin information when products are manufactured using materials of animal origin. This information may be contained in the animal source table and/or in one or more of the additional paragraphs found on the COA. Following Quality Control release, the COA is created and published at www.bd.com/regdocs. For each batch of finished product that contains animal origin raw materials, the COA shows the animal origin data from the individual lots of animal origin raw materials used, as provided by the raw material suppliers.

At times, suppliers notify BD Diagnostics - Diagnostic Systems of new and/or additional information they have received from their raw material suppliers that modifies the animal origin information for lots previously provided to BD. See "COA Animal Origin Information Position Statement" located at www.bd.com/regdocs under "Position Statements" for the impact that retrospective information has on COAs and on customers enrolled in the BDDS and BDAB Automated Change Notification Program.

For complete details on animal origin information, refer to "BD Diagnostics - Diagnostic Systems, Animal Origin Position Statement", at www.bd.com/regdocs under "Position Statements".

Manufacturer is Becton Dickinson and Company, 7 Loveton Circle, Sparks, MD 21152 USA. To determine location of manufacturing for this product, please see www.bd.com/en-us/support/bd-life-sciences-diagnostic-systems-customer-regulatory-support-information.

Stability data for this product is on file.

The pH stated was obtained at the time of release, and the pH may vary within the stated range depending on the age of the product and the type of pH meter and probe used.

Creation Date: 2021/04/21 15:00:23



Certificate of Analysis

Becton Dickinson and Company
BD Diagnostic Systems
PO Box 999
Sparks MD 21152-0999 US

Page: 3 of 3

Product Name : Bottle CHROMagar Candida 500 Gm
Catalog Number : 212961 **Manufacture Date:** 2021/03/20
Batch Number : 1097086
Expiration Date : 2023/03/31

Monty Hewick
Quality Director
Signature Date:2021/04/21

Creation Date: 2021/04/21 15:00:23

Anexo 7

Control de la temperatura de la nevera e incubador

 <p>1859</p>	<p align="center">Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico Preparación de material</p>	<p align="center">Protocolo para Control de la temperatura de la nevera e incubador</p>
<p>Fecha de elaboración: 09 de enero del 2022</p>	<p>Tutor de proyecto de tesis:</p>	<p>Código: 0004</p> <p>Versión: 004</p>
<p>Equipo/Área</p>	<p>Laboratorio de Diagnóstico Médico de la Universidad Nacional de Loja</p>	
<p>Responsable del laboratorio</p>	<p>Lic. Diana Ramón</p>	
<p>Frecuencia</p>	<p>Periodo febrero-abril del 2022</p>	
<p>Acciones preliminares</p>	<p>Verificar que se disponga de todo el material necesario.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Guantes, gorro, mascarillas y mandil • Registro de temperaturas • Bolígrafo
<p>Procedimiento para la preparación del material</p>	<p>1. El investigador revisa la temperatura de la nevera e incubador antes de iniciar el análisis. Ver tabla 1 y 2</p>	
<p>Elaborado por: Xiomara Lissette Cueva Guajala</p>	<p>Revisado por:</p>	
<p>Firma:</p>	<p>Firma:</p>	



UNL

Universidad
Nacional
de Loja

REGISTRO DE TEMPERATURA DE REFRIGERACION DE REATIVOS EN USO			
			Equipo: NEVERA
			Mes: FEBRERO
Fecha	Temperatura		Responsable del turno
	8:00 am	13:00 pm	
01/02/2022	3,4	3,3	d.
02/02/2022	3,3	3,4	d.
03/02/2022	3,8	3,9	d.
04/02/2022	3,8	3,8	d.
05/02/2022	-	-	
06/02/2022	-	-	
07/02/2022	4,5	4,3	d.
08/02/2022	4,2	4,2	d.
09/02/2022	4,0	4,3	d.
10/02/2022	4,3	4,3	d.
11/02/2022	4,5	4,9	d.
12/02/2022	-	-	
13/02/2022	-	-	
14/02/2022	5,2	5,0	d.
15/02/2022	4,8	4,6	d.
16/02/2022	4,8	4,7	d.
17/02/2022	4,1	4,0	d.
18/02/2022	3,9	4,3	d.
19/02/2022	-	-	
20/02/2022	-	-	
21/02/2022	4,4	4,0	d.
22/02/2022	4,1	4,0	d.
23/02/2022	5,0	4,8	d.
24/02/2022	5,1	4,9	d.
25/02/2022	4,9	4,9	d.
26/02/2022	-	-	
27/02/2022	-	-	
28/02/2022	4,0	3,9	d.



UNL

Universidad
Nacional
de Loja

REGISTRO DE TEMPERATURA DE REFRIGERACION DE REATIVOS EN USO			
			Equipo: NEVERA
			Mes: MARZO
Fecha	Temperatura		Responsable del turno
	8:00 am	13:00 pm	
01/03/2022	3,3	3,5	f.
02/03/2022	4,1	4,0	f.
03/03/2022	4,3	4,3	f.
04/03/2022	5,0	5,0	f.
05/03/2022	-	-	
06/03/2022	-	-	
07/03/2022	5,4	5,2	f.
08/03/2022	4,9	4,8	f.
09/03/2022	4,7	4,5	f.
10/03/2022	4,9	4,8	f.
11/03/2022	5,0	4,9	f.
12/03/2022	-	-	
13/03/2022	-	-	
14/03/2022	5,1	5,0	f.
15/03/2022	5,0	4,9	f.
16/03/2022	4,4	4,3	f.
17/03/2022	4,4	4,5	f.
18/03/2022	4,9	5,0	f.
19/03/2022	-	-	
20/03/2022	-	-	
21/03/2022	4,7	4,5	f.
22/03/2022	4,6	4,5	f.
23/03/2022	4,5	4,5	f.
24/03/2022	3,9	4,0	f.
25/03/2022	4,1	4,0	f.
26/03/2022	-	-	
27/03/2022	-	-	
28/03/2022	4,4	4,3	f.
29/03/2022	3,9	4,1	f.
30/03/2022	4,2	4,1	f.
31/03/2022	4,4	4,2	f.



UNL

Universidad
Nacional
de Loja

REGISTRO DE TEMPERATURA DE REFRIGERACION DE REACTIVOS EN USO			
		Equipo:	NEVERA
		Mes:	ABRIL
Fecha	Temperatura		Responsable del turno
	8:00 am	13:00 pm	
01/04/2022	4,5	4,6	f.
02/04/2022			
03/04/2022			
04/04/2022	5,4	5,6	f.
05/04/2022	5,7	5,9	f.
06/04/2022	4,8	4,7	f.
07/04/2022	5,1	5,0	f.
08/04/2022	4,8	4,9	f.
09/04/2022			
10/04/2022			
11/04/2022	5,7	5,9	f.
12/04/2022	3,9	3,9	f.
13/04/2022	4,9	5,0	f.
14/04/2022	5,0	5,1	f.
15/04/2022	5,0	5,0	f.
16/04/2022			
17/04/2022			
18/04/2022	4,8	4,8	f.
19/04/2022	3,9	4,0	f.
20/04/2022	4,0	4,1	f.
21/04/2022	5,0	5,0	f.
22/04/2022	5,4	5,5	f.
23/04/2022			
24/04/2022			
25/04/2022	4,5	4,6	f.
26/04/2022	3,8	4,0	f.
27/04/2022	3,3	3,4	f.
28/04/2022	4,1	4,3	f.
29/04/2022	5,3	5,5	f.
30/04/2022			



UNL

Universidad
Nacional
de Loja

REGISTRO DE TEMPERATURA DE INCUBADOR			
		Equipo:	INCUBADORA
		Mes:	FEBRERO
Fecha	Temperatura		Responsable del turno
	8:00 am	13:00 pm	
01/02/2022	34°C	35°C	J.
02/02/2022	35°C	35°C	J.
03/02/2022	35°C	35°C	J.
04/02/2022	35°C	35°C	J.
05/02/2022	-	-	
06/02/2022	-	-	
07/02/2022	35°C	35°C	J.
08/02/2022	35°C	35°C	J.
09/02/2022	35°C	35°C	J.
10/02/2022	35°C	35°C	J.
11/02/2022	35°C	35°C	J.
12/02/2022	-	-	
13/02/2022	-	-	
14/02/2022	35°C	35°C	J.
15/02/2022	35°C	35°C	J.
16/02/2022	35°C	35°C	J.
17/02/2022	35°C	35°C	J.
18/02/2022	35°C	35°C	J.
19/02/2022	-	-	
20/02/2022	-	-	
21/02/2022	35°C	35°C	J.
22/02/2022	35°C	35°C	J.
23/02/2022	35°C	35°C	J.
24/02/2022	35°C	35°C	J.
25/02/2022	35°C	35°C	J.
26/02/2022	-	-	
27/02/2022	-	-	
28/02/2022	35°C	35°C	J.



UNL

Universidad
Nacional
de Loja

REGISTRO DE TEMPERATURA DE INCUBADOR			
		Equipo:	INCUBADORA
		Mes:	MARZO
Fecha	Temperatura 8:00 am	Temperatura 13:00 pm	Responsable del turno
01/03/2022	35 °C	35 °C	f.
02/03/2022	35 °C	36 °C	f.
03/03/2022	35 °C	35 °C	f.
04/03/2022	35 °C	35 °C	f.
05/03/2022	—	—	
06/03/2022	—	—	
07/03/2022	35 °C	35 °C	g.
08/03/2022	35 °C	35 °C	f.
09/03/2022	35 °C	35 °C	f.
10/03/2022	35 °C	35 °C	g.
11/03/2022	35 °C	35 °C	f.
12/03/2022	—	—	
13/03/2022	—	—	
14/03/2022	35 °C	35 °C	f.
15/03/2022	35 °C	35 °C	f.
16/03/2022	35 °C	35 °C	f.
17/03/2022	35 °C	35 °C	f.
18/03/2022	35 °C	35 °C	f.
19/03/2022	—	—	
20/03/2022	—	—	
21/03/2022	35 °C	35 °C	f.
22/03/2022	35 °C	35 °C	f.
23/03/2022	35 °C	35 °C	f.
24/03/2022	35 °C	35 °C	f.
25/03/2022	35 °C	35 °C	f.
26/03/2022	—	—	
27/03/2022	—	—	
28/03/2022	35 °C	35 °C	f.
29/03/2022	35 °C	35 °C	f.
30/03/2022	35 °C	35 °C	f.
31/03/2022	35 °C	35 °C	f.




UNL

Universidad
Nacional
de Loja

REGISTRO DE TEMPERATURA DE INCUBADOR			
			Equipo: INCUBADORA
			Mes: ABRIL
Fecha	Temperatura	Temperatura	Responsable del turno
	8:00 am	13:00 pm	
01/04/2022	33°C	35°C	f.
02/04/2022	—	—	f.
03/04/2022	—	—	
04/04/2022	35°C	35°C	f.
05/04/2022	35°C	35°C	f.
06/04/2022	35°C	35°C	f.
07/04/2022	35°C	35°C	f.
08/04/2022	35°C	35°C	f.
09/04/2022	—	—	
10/04/2022	—	—	
11/04/2022	35°C	35°C	f.
12/04/2022	35°C	35°C	f.
13/04/2022	35°C	35°C	f.
14/04/2022	35°C	35°C	f.
15/04/2022	35°C	35°C	f.
16/04/2022	—	—	
17/04/2022	—	—	
18/04/2022	35°C	35°C	f.
19/04/2022	35°C	35°C	f.
20/04/2022	35°C	35°C	f.
21/04/2022	35°C	35°C	f.
22/04/2022	35°C	35°C	f.
23/04/2022	—	—	
24/04/2022	—	—	
25/04/2022	35°C	35°C	f.
26/04/2022	35°C	35°C	f.
27/04/2022	35°C	35°C	f.
28/04/2022	35°C	35°C	f.
29/04/2022	35°C	35°C	f.
30/04/2022	—	—	

Anexo 8

Examen directo con KOH a las muestras recolectadas

 <p>1859</p>	<p align="center">Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico Preparación de material</p>	<p align="center">Protocolo para Examen directo con KOH a las muestras recolectadas</p>
<p>Fecha de elaboración: 09 de enero del 2022</p>	<p>Tutor de proyecto de tesis:</p>	<p>Código: 0005</p> <p>Versión: 005</p>


<p>Equipo/Área</p>	<p>Laboratorio de Diagnóstico Médico de la Universidad Nacional de Loja</p>	
<p>Responsable del laboratorio</p>	<p>Lic. Diana Ramón</p>	
<p>Frecuencia</p>	<p>Periodo febrero-abril del 2022</p>	
<p>Acciones preliminares</p>	<p>Verificar que se disponga de todo el material necesario.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Guantes, gorro, mascarillas y mandil • Portaobjetos • KOH al 20 o 40% • Rotulador • Microscopio
<p>Procedimiento para la preparación del material</p>	<ol style="list-style-type: none"> 2. El investigador prepara el material. 3. Posterior, con ayuda de un rotulador identificará la lámina portaobjeto 4. Colocar una gota de KOH en el portaobjeto con la con la muestra y cubrir con su cubreobjeto, evitando formar burbujas. 5. Cargar la preparación en el microscopio con objetivo 10x y 40x. 6. Buscar la presencia de levaduras o pseudohifas que se encuentren en la muestra. 7. Tomar nota de lo observado en el registro de resultados. 8. Desechar la placa observada. 	
<p>Elaborado por: Xiomara Lissette Cueva Guajala</p>	<p>Revisado por:</p>	
<p>Firma:</p>	<p>Firma:</p>	

Nota 4: Cardona, M. (2018). Métodos de diagnóstico en micología Diagnostic methods in mycology. Revista CES Medicina, 33(1), 41–52. <https://www.mendeley.com/catalogue/d82e8cc1-5849-34b2->

a21a1fcb2196de6/?utm_source=desktop&utm_medium=1.19.4&utm_campaign=open_catalog&userDocumentId=%7Bedece2ff-dedd-43ec-940a-a5bf430d0411%7D

Anexo 9

Siembra de muestras en Agar Sabouraud y CROMOAgar™Candida

	<p align="center">Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico Preparación de material</p>	<p align="center">Protocolo para siembra de muestras en CROMOAgar™ Candida</p>
<p>Fecha de elaboración: 09 de enero del 2022</p>	<p>Tutor de proyecto de tesis:</p>	<p>Código: 0006 Versión: 006</p>


<p>Equipo/Área</p>	<p>Laboratorio de Diagnóstico Médico de la Universidad Nacional de Loja</p>	
<p>Responsable del laboratorio</p>	<p>Lic. Diana Ramón</p>	
<p>Frecuencia</p>	<p>Periodo febrero-abril del 2022</p>	
<p>Acciones preliminares</p>	<p>Verificar que se disponga de todo el material necesario.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Guantes, gorro, mascarillas y mandil • Portaobjetos • Asas desechables • Rotulador • Microscopio • Agar Sabouraud • CROMOAgar™Candida
<p>Procedimiento para la preparación del material</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. El investigador emplea todas las medidas de bioseguridad y preparará el material. 2. Posterior, encender la lámpara de alcohol 3. Rotular cada uno de los agares que va a utilizar. 4. Recoger muestra colocando el asa. 5. Con el asa cargada o el hisopo del medio Stuart Amies realizar 3 o 4 estrías perpendiculares repitiendo el procedimiento hasta agotar la superficie de la placa. 6. En Agar Sabouraud incubar a temperatura ambiente entre 25 °C a 30 °C por 6 a 30 días como máximo. 7. De existir crecimiento, realizar un pase a CROMOAgar™Candida con un asa tomar 3 o 4 colonias del agar Sabouraud y realizar la siembra por estriaciones. 8. Incubar a 42 horas a 35°C y observar si existe coloración en el medio de cultivo. 	

	<p>9. Tomar nota de lo observado en el registro de resultados.</p> <p>10. Desechar el medio observado. (Méndez Y Quintos, 2016)</p>
<p>Elaborado por: Xiomara Lissette Cueva Guajala</p>	<p>Revisado por:</p>
<p>Firma:</p>	<p>Firma:</p>

Nota 5: Méndez, M., Quintos, M. (2016). Control De Calidad De Medios De Cultivo. Obtenido de <https://es.scribd.com/document/369554242/Maricela-Esteba-Et-Al-Calidad-Medios-Cultivo>

Anexo 10

Restauración de la cepa control ATCC 90028 *Candida albicans*

 <p>1859</p>	<p align="center">Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico Preparación de material</p>	<p align="center">Protocolo para restauración de la cepa control ATCC 90028 <i>Candida albicans</i></p>
<p>Fecha de elaboración: 09 de enero del 2022</p>	<p>Tutor de proyecto de tesis:</p>	<p>Código: 0007</p> <p>Versión: 007</p>

<p>Equipo/Área</p>	<p>Laboratorio de Diagnóstico Médico de la Universidad Nacional de Loja</p>	
<p>Responsable del laboratorio</p>	<p>Lic. Diana Ramón</p>	
<p>Frecuencia</p>	<p>Periodo febrero-abril del 2022</p>	
<p>Acciones preliminares</p>	<p>Verificar que se disponga de todo el material necesario.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Guantes, gorro, mascarillas y mandil • Portaobjetos • Asas desechables • Rotulador • Microscopio • Agar Sabouraud
<p>Procedimiento para la preparación del material</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. El investigador emplea todas las medidas de bioseguridad y preparará el material. 2. Posterior, encender la lámpara de alcohol 3. Rotular el agar que va a utilizar. 4. Retirar el frasco sin abrir de LYFO DISK del almacenamiento entre 2 °C y 8 °C y dejar que se adapte a la temperatura ambiente 5. Posterior, abrir la bolsa rasgando a la altura de la muesca y quite la unidad de KWIK-STIK. 6. Retirar la porción de la etiqueta de tirar y rasgar y colocársela a la placa de cultivo principal o al registro de CC. 7. No desarmar el dispositivo durante la hidratación. 8. Sobre el borde de la mesa de trabajo o la encimera, agriete la ampolla en la parte superior de KWIK-STIK (justo debajo del menisco del líquido) para liberar el líquido hidratante. 	

	<p>9. Mantenerlo vertical y golpear suavemente sobre una superficie dura para facilitar el flujo del líquido por el mango hasta la parte inferior de la unidad que contiene el gránulo.</p> <p>10. Apretar la parte inferior de la unidad para que el gránulo se disuelva en el líquido hasta lograr una suspensión homogénea. De inmediato, saturar el hisopo abundantemente con el material hidratado y transféralo al medio con agar correspondiente o utilícelo según el procedimiento operativo estándar del laboratorio.</p> <p>11. Inocular la placa de cultivo principal girando con suavidad el hisopo sobre un tercio de la placa.</p> <p>12. Con el uso de un asa esterilizada, haga estrías para facilitar el aislamiento de la colonia.</p> <p>13. Descarte el KWIK-STIK de forma apropiada para desechos de riesgo biológico.</p> <p>14. Finalmente, incube en Agar Sabouraud a temperatura de 35 °C por 24 a 48 horas.</p> <p>15. Al día siguiente observar si existe crecimiento microbiano, de existir, realizar el antifungigrama para posterior control de Calidad del disco utilizado. Según (CLSI, 2007) sugiere que en cada ensayo debe incluirse al menos una cepa control de calidad para poder detectar cualquier anomalía o desactivación del antifúngico. Así mismo, el CLSI aconseja utilizar las siguientes cepas:</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019 - <i>C. krusei</i> ATCC 6258 - <i>C. albicans</i> ATCC 90028 - <i>C. tropicalis</i> ATCC 750 <p>En la Tabla 15a.7 se especifican los diámetros de los halos de inhibición para las cepas control de calidad.</p>
<p>Elaborado por: Xiomara Lissette Cueva Guajala</p>	<p>Revisado por:</p>
<p>Firma:</p>	<p>Firma:</p>

Nota 6: Leber, A. L. (2016) Clinical Microbiology Procedures Handbook (4th ed.) ASM Press

CLSI, M. e. (2007). Estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A). <http://www.guia.reviveroammicol.com/Capitulo15.pdf>.

Tabla 15a.7.

Diámetro de las cepas control de calidad


Antifúngico	Carga de disco	<i>C. krusei</i> ATCC 6258	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	<i>C. tropicalis</i> ATCC 750
Fluconazol	25 ug		22-33	28-39	26-37
Voriconazol	1 ug	16-25	28-37	31-42	*
Posaconazol	5 ug	23-31	25-36	24-34	23-33

***No se han establecido en esta cepa debido a la variabilidad encontrada**

Nota 7: (CLSI, 2007)

Anexo 11

Elaboración de antifungigrama en disco

 <p>1859</p>	<p align="center">Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico Preparación de material</p>	<p align="center">Protocolo para antifungigrama en disco</p>
<p>Fecha de elaboración: 09 de enero del 2022</p>	<p>Tutor de proyecto de tesis:</p>	<p>Código: 0008</p> <p>Versión: 008</p>

<p>Equipo/Área</p>	<p>Laboratorio Clínico del Hospital General “Reina del Cisne”</p>	
<p>Responsable del laboratorio</p>	<p>Lic. Diana Ramón</p>	
<p>Frecuencia</p>	<p>Periodo febrero-abril del 2022</p>	
<p>Acciones preliminares</p>	<p>Verificar que se disponga de todo el material necesario.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Guantes, gorro, mascarillas y mandil • Portaobjetos • Hisopos estériles • MHA suplementado con glucosa y azul de metileno • Rotulador • Microscopio
<p>Procedimiento para la preparación del material</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. El investigador emplea todas las medidas de bioseguridad y preparará el material. 2. Posterior, encender la lámpara de alcohol 3. Rotular cada uno de los agares que va a utilizar. <p>PREPARACIÓN DEL INÓCULO</p> <ol style="list-style-type: none"> 4. Se prepara tocando con el asa de cultivo 5 colonias ≥ 1 mm y de 24 h de crecimiento. 5. Se suspenden en un tubo de solución salina estéril. 6. Se agita y con ayuda de un densitómetro, se ajusta a una densidad óptica 0,5 McFarland, añadiendo la cantidad necesaria de solución salina (CLSI, 2007). <p>INOCULACIÓN DE LAS PLACAS</p>	

	<p>7. Sumergir un hisopo en la suspensión del inóculo de 0.5 McFarland.</p> <p>8. Retirar el exceso rozando la torunda con las paredes del tubo.</p> <p>9. Sembrar la placa uniformemente.</p> <p>10. Dejar secar 3-5 min y dejar la placa entreabierta.</p> <p>11. Aplicar los discos.</p> <p>TEMPERATURA Y TIEMPO DE INCUBACIÓN</p> <p>12. Incubar a 35 °C durante 20-24 h para <i>Candida spp.</i></p> <p>LECTURA</p> <p>13. Si no hay suficiente crecimiento a las 24 h reincubar y leer a las 48 h.</p> <p>14. Medir el halo de inhibición donde se produce una reducción importante del crecimiento. La lectura es subjetiva y se requiere experiencia para dar medidas exactas. La presencia de micro colonias en el borde del halo de inhibición o de colonias grandes en el interior del halo deben ser ignoradas. <i>C. glabrata</i> y <i>C. krusei</i>, pueden necesitar 48 h de incubación (CLSI, 2007).</p> <p>En la Tabla 15a.8 se exponen los diámetros equivalentes a los puntos de corte.</p>
Elaborado por: Xiomara Lissette Cueva Guajala	Revisado por:
Firma:	Firma:

Nota 8: CLSI, M. e. (2007). Estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A). <http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo15.pdf>.

Tabla 25a.8.

Puntos de corte y equivalencia diámetro-CMI para Candida spp.


Antifúngico	Carga de disco	Diámetro (mm)			CMI (ug/ml)		
		R	S-DD	S	R	S-DD	S
Fluconazol	25 ug	≤ 14	15-18	≥19	≤ 64	13-32	≥8
Voriconazol	1 ug	≤ 13	14-16	≥17	≤ 4	2	≥1
Caspofungina	5 ug	≤ 10*	-	≥11	≤ 2*	-	≥2

S, sensible. S-DD, sensible dependiente de la dosis. R, resistente. *No sensible

Nota 9: (CLSI, 2007)

Anexo 12

Limpieza de incubador

 <p>1859</p>	<p align="center">Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico Preparación de material</p>	<p align="center">Protocolo para limpieza de incubador</p>
<p>Fecha de elaboración: 09 de enero del 2022</p>	<p>Tutor de proyecto de tesis:</p>	<p>Código: 0009</p> <p>Versión: 009</p>

<p>Equipo/Área</p>	<p>Laboratorio de Diagnóstico Médico de la Universidad Nacional de Loja</p>	
<p>Responsable del laboratorio</p>	<p>Lic. Diana Ramón</p>	
<p>Frecuencia</p>	<p>Periodo febrero-abril del 2022</p>	
<p>Acciones preliminares</p>	<p>Verificar que se disponga de todo el material necesario.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Guantes, gorro, mascarillas y mandil • Alcohol al 70% • Toallas estériles
<p>Procedimiento para la preparación del material</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Al momento de reponer el agua, limpiar también la bandeja. Esto debe llevarse a cabo al menos una vez cada dos semanas. 2. Retirar la bandeja de la unidad. 3. Lavar con detergente neutro antes de pasar el paño. 4. Rociar con etanol al 70 % y pasar la toalla. (OMS, 2015) 5. Llenar la bandeja humidificadora con agua destilada estéril (preferiblemente precalentada a 37 °C). (Poma, 2019) 	
<p>Elaborado por: Xiomara Lissette Cueva Guajala</p>	<p>Revisado por:</p>	
<p>Firma:</p>	<p>Firma:</p>	

Nota 10: OMS. (2015). MANUAL DE MANTENIMIENTO PARA EQUIPO DE LABORATORIO. Obtenido de Tecnología y Prestación de servicios de salud.

Poma, M. (2019). Materiales de laboratorio. Obtenido de PHCBI: https://www.cultek.com/media/wysiwyg/catalogos/PHC-BIOMEDICAL/PHCbi_MCO_cleaning_manual_es.pdf

Anexo 13*Registro de resultados*

Cédula de identidad	Tipo y número de muestra	Examen con KOH		Especie de <i>Cándida</i> aislada	Sensibilidad a Fluconazol		
		Levaduras	Hifas		S	I	R

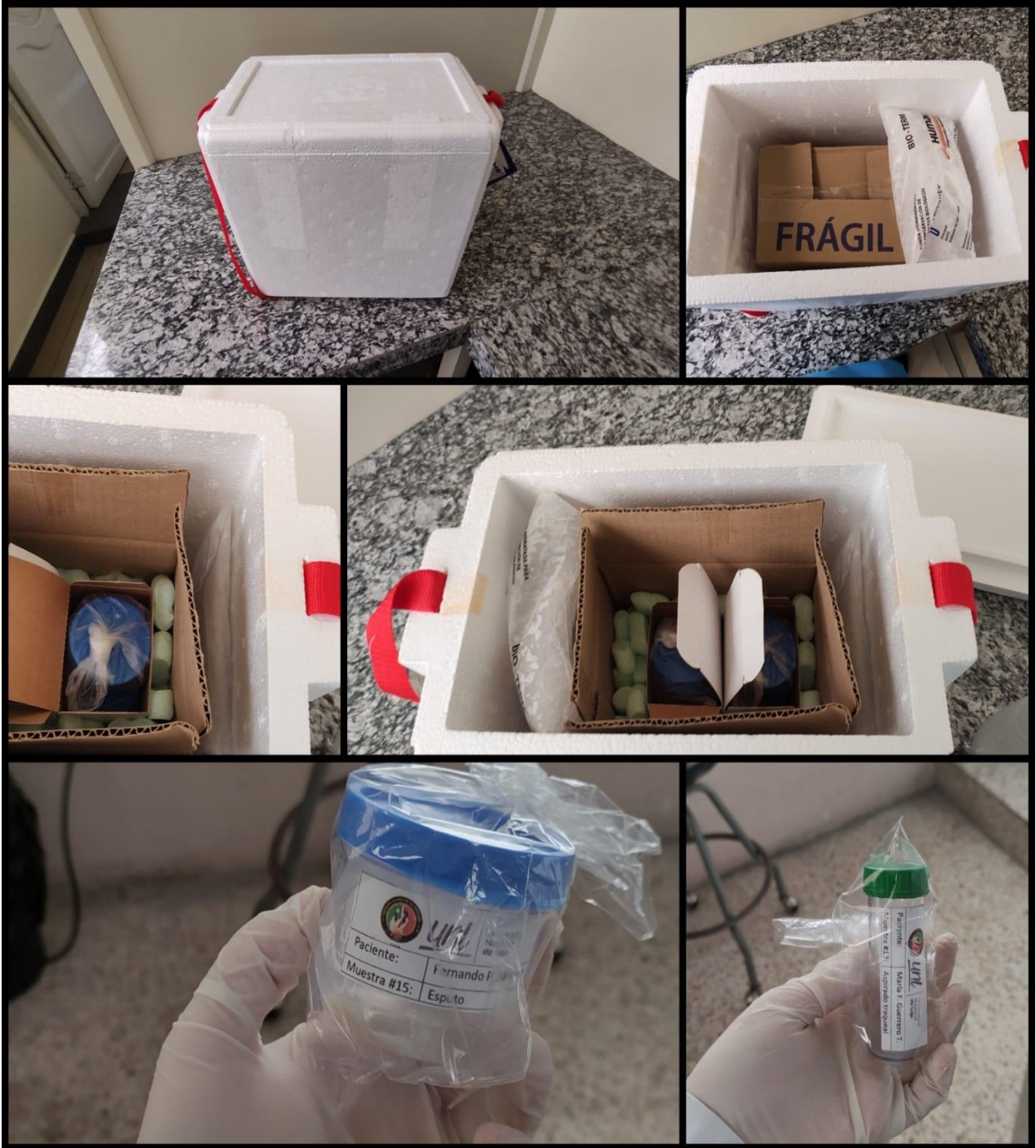
Anexo 14

Relatoría fotográfica

Fase preanalítica



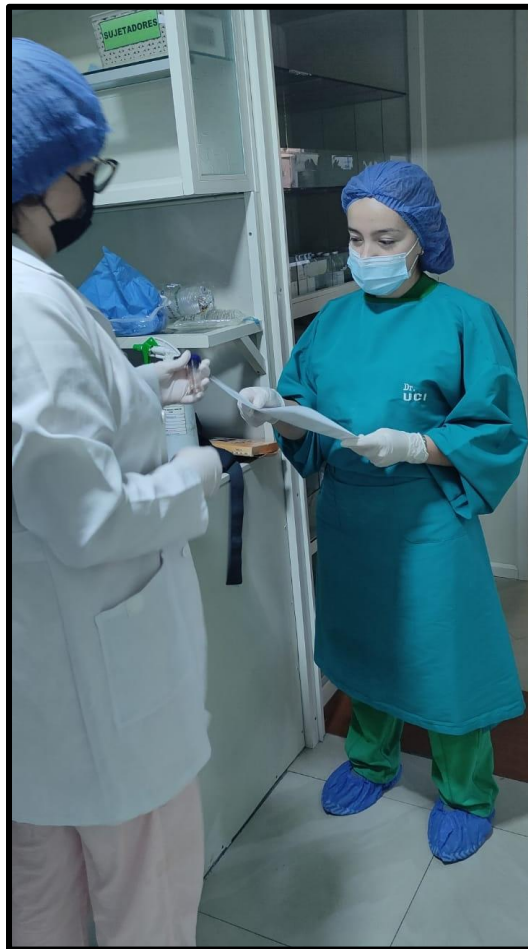
Nota. Indicación y firma del consentimiento informado



Nota. Transporte de muestras respiratorias

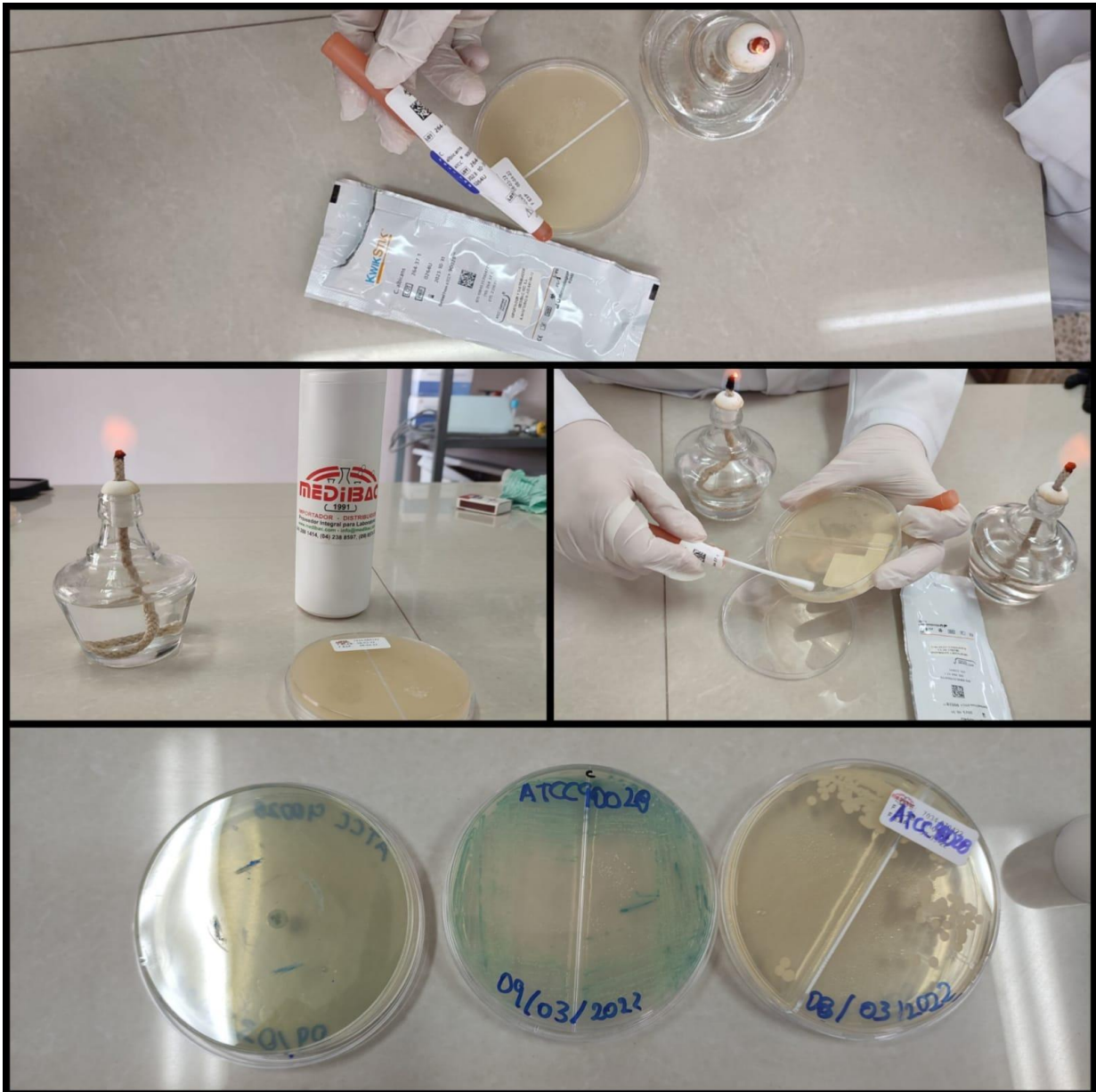


Nota. Recolección de muestra respiratoria por aspiración traqueal

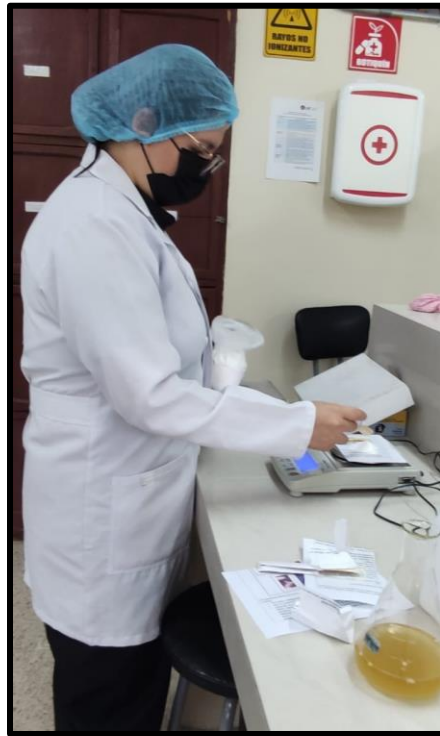


Nota. Entrega de orden y muestra

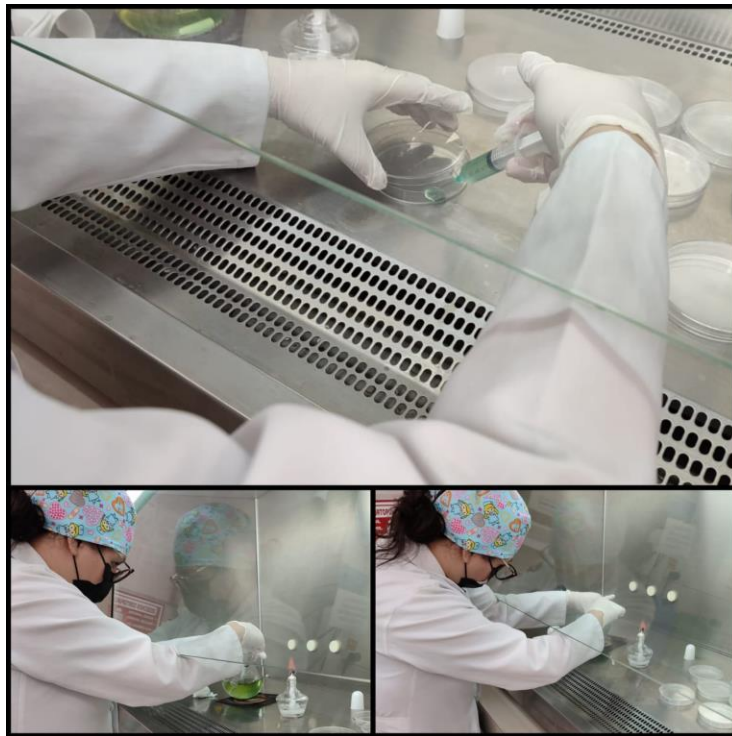
Fase analítica



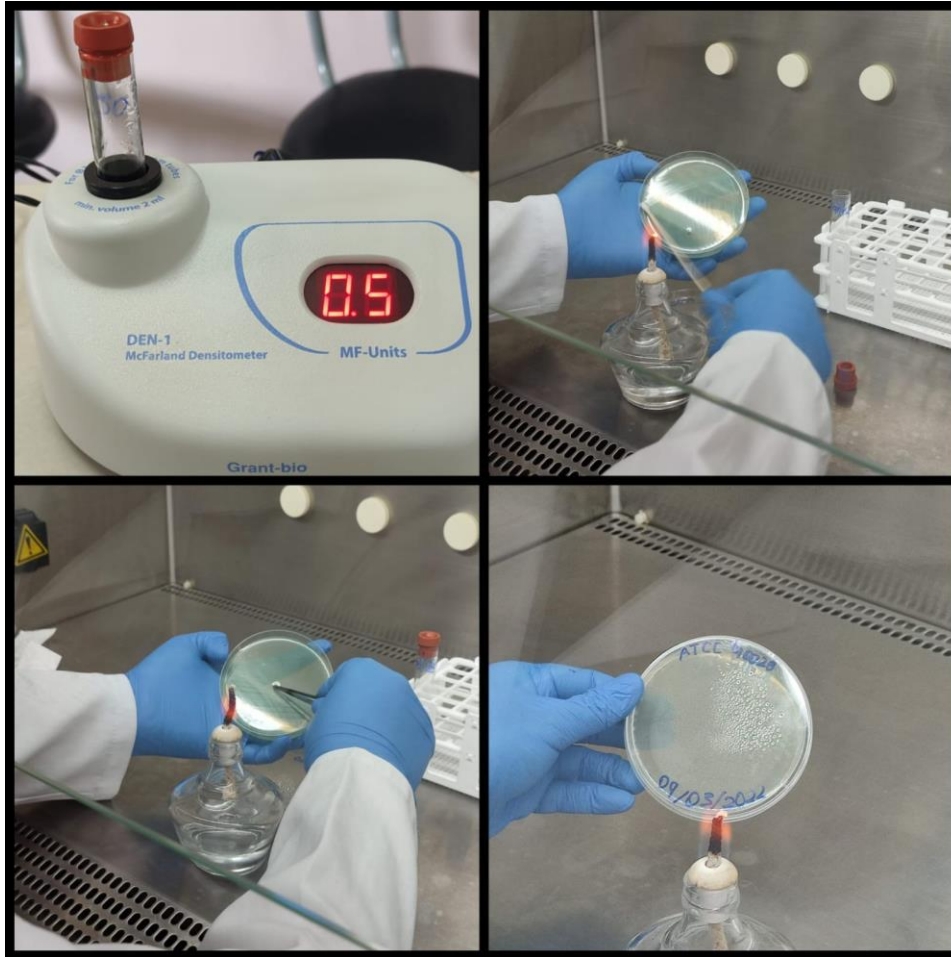
Nota. Activación de Cepa Control ATCC90023 *Candida albicans*



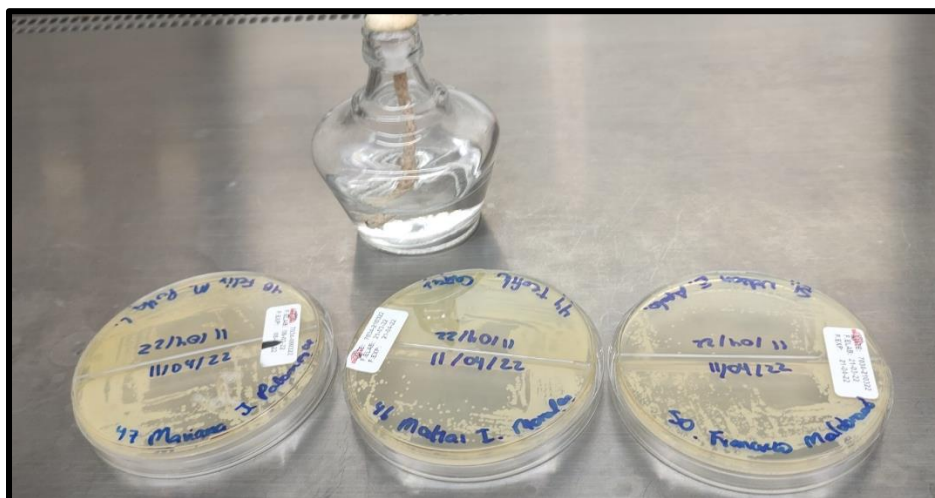
Nota. Preparación de material



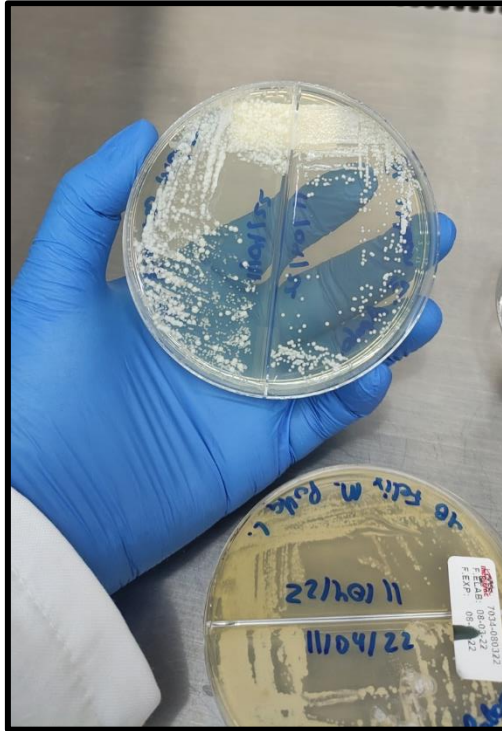
Nota. Dispensación de medios de cultivo



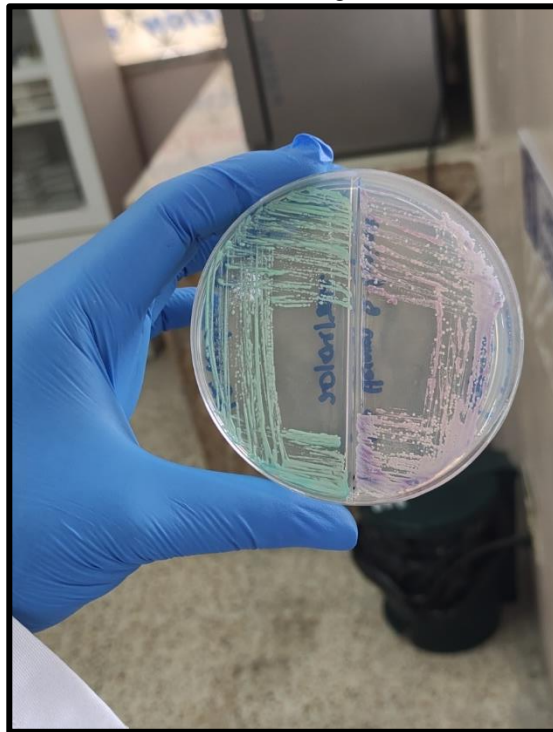
Nota. Preparación de antifungigrama



Nota. Revisión de crecimiento a las 24/48 horas

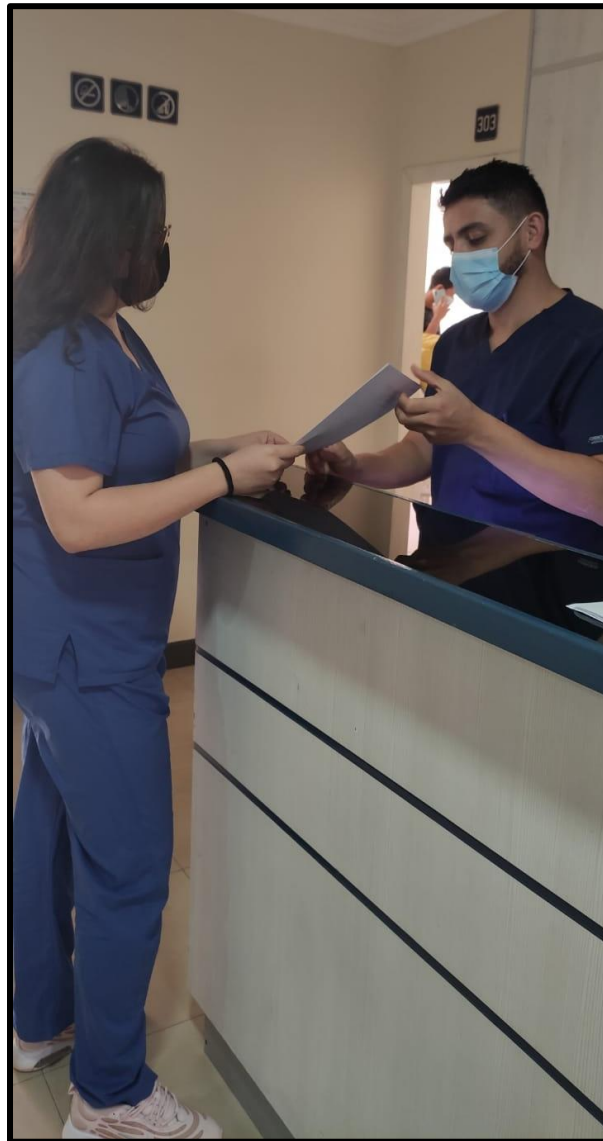


Nota. Crecimiento en Agar Sabouraud



Nota. Crecimiento de *Candida albicans* y *Candida tropicalis* en CROMOAgar™Candida

Fase postanalítica



Nota. Entrega de resultados

Anexo 15

Certificado de traducción de idioma



**FINE-TUNED ENGLISH
LANGUAGE INSTITUTE**
Líderes en la Enseñanza del Inglés

Ing. María Belén Novillo Sánchez.

ENGLISH TEACHER- FINE TUNED ENGLISH CIA LTDA.

CERTIFICA:

Que el documento aquí compuesto es fiel traducción del idioma español al idioma inglés del resumen de tesis "**IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE CANDIDA Y SU RESISTENCIA A FLUCONAZOL EN MUESTRAS RESPIRATORIAS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS EN EL HOSPITAL GENERAL "REINA DEL CISNE"** autoría de **Xiomara Lissette Cueva Guajala** con número de cédula **0704446814**, estudiante de la carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja.

Lo certifico en honor a la verdad y autorizo a la interesada hacer uso del presente en lo que a sus intereses convenga.



Loja, 23 de junio del 2022

Ing. María Belén Novillo Sánchez.

ENGLISH TEACHER- FINE TUNED ENGLISH CIA LTDA.

Matriz - Loja: Macará 205-51 entre Rocafuerte y Miguel Riofrío - Teléfono: 072578899
Zamora: García Moreno y Pasaje 12 de Febrero - Teléfono: 072608169
Yantzaza: Jorge Mosquera y Luis Bastidas - Edificio Sindicato de Choferes - Teléfono: 072301329

www.fte.edu.ec