



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Tipificación y susceptibilidad de *Candida* en secreciones vaginales de mujeres
en edad fértil del Centro de Salud N° 1 Loja

AUTOR:

Nathaly Silvana Amay Guachizaca

DIRECTORA:

Dra. Elsa Cumandá Ramírez Sanmartín.Mg. Sc

Trabajo de integración
curricular previo a la
obtención del título de
Licenciada en
Laboratorio Clínico

Loja – Ecuador

2022

Certificación



unl

Universidad
Nacional
de Loja

Facultad
de la Salud
Humana

FECHA: 04 de agosto de 2022

DE: Dra. Elsa Ramírez Sanmartín Mg. Sc., DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

PARA: Dra. Sandra Freire Cuesta Esp. DIRECTORA DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ASUNTO: CERTIFICADO DE CULMINACIÓN Y APROBACIÓN DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

CERTIFICO:

Que una vez asesorada, monitoreada con pertinencia y rigurosidad científica la ejecución del trabajo de integración curricular del tema: **TIPIFICACIÓN Y SUSCEPTIBILIDAD DE CANDIDA EN SECRECIONES VAGINALES DE MUJERES EN EDAD FÉRTIL DEL CENTRO DE SALUD N° 1 LOJA**, de la autoría de **NATHALY SILVANA AMAY GUACHIZACA**, el mismo cumple con las disposiciones institucionales, metodológicas y técnicas, que regulan esta actividad académica; consecuentemente, dicho trabajo de integración curricular se encuentra **culminado y aprobado**, por lo que autorizo continuar con el proceso de titulación.



ELSA CUMANDA
RAMÍREZ
SANMARTÍN

.....
Dra. Elsa Cumanda Ramírez Sanmartín Mg. Sc.

Autoría

Yo, Nathaly Silvana Amay Guachizaca, declaro ser la autora del presente trabajo de integración curricular 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: 

Cédula de identidad: 1104114911

Autora: Nathaly Silvana Amay Guachizaca

Fecha: 15/11/2022

Correo electrónico: nathaly.amay@unl.edu.ec

Celular: 0998800264

Carta de autorización

Yo, **Nathaly Silvana Amay Guachizaca**, declaro ser la autora del trabajo de integración curricular titulado **Tipificación y susceptibilidad de *Candida* en secreciones vaginales de mujeres en edad fértil del Centro de Salud N° 1 Loja**, como requisito para optar el grado de Licenciada en Laboratorio Clínico, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre a 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 RDI, 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 15 días del mes de noviembre del año 2022.

Firma: 

Autora: Nathaly Silvana Amay Guachizaca

Cédula de Identidad: 1104114911

Dirección: Ciudadela Monseñor Alberto Zambrano Palacios. Calles: Suiza y Alemania

Correo electrónico: nathaly.amay@unl.edu.ec

Celular: 0998800264

DATOS COMPLEMENTARIOS

Directora del trabajo de integración curricular: Dra. Elsa Cumandá Ramírez. Mg.Sc.

Tribunal de grado:

Presidenta de tribunal: Lcda. Carmen Alejandra Ullauri González

Miembro de tribunal: Lcda. Ivanova del Cisne Zúñiga Román

Miembro de tribunal: Lcda. Iliana Alicia Delgado

Dedicatoria

El presente trabajo de integración curricular está dedicado a mis padres; quienes, con su amor, paciencia y esfuerzo me han brindado su apoyo incondicional para cumplir mi meta dentro de este maravilloso campo profesional. Resalto también su enseñanza en cuanto a los valores como lo son el respeto, puntualidad, veracidad; pero sobre todo por enseñarme que existe un Dios, quien ha sido mi guía, fortaleza y ha sabido derramar sobre mis sus bendiciones, ha permitido que no decline ante ningún obstáculo que se me ha presentado.

De igual forma mi dedicatoria está dirigida a mis hermanas, que con son su inmenso cariño y apoyo permanente han sido pilar fundamental durante todo este proceso; y en general a toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona, permitiendo que hoy en día vea realizado mi sueño tan anhelado de ser profesional.

Agradecimiento

Mi gratitud está dirigido a las autoridades y personal docente que conforman la prestigiosa Universidad Nacional de Loja, quienes confiaron en mí, al abrirme las puertas de sus aulas y permitirme adquirir el conocimiento necesario; que hoy en día está reflejado a través del presente trabajo de investigación curricular. Además, es para mí un orgullo poder ser reciproca del conocimiento recibido durante estos años por parte de la institución; aportando de esta manera con un trabajo de investigación curricular que estoy segura es de gran aporte a nuestra sociedad.

De igual manera quiero expresar mi profundo agradecimiento a la Dra. Elsa Ramírez principal colaboradora durante todo este proceso; quien con su dirección, conocimiento, enseñanza y colaboración permitió que pueda culminar con éxito el desarrollo del presente trabajo de integración curricular, a quien, a más de su valioso aporte académico como Directora del trabajo de integración curricular, me ha demostrado que es un invaluable ser humano entregada y comprometida con su labor profesional.

A las técnicas docentes Lic. Silvia Molina y Lic. Diana Carrión, encargadas de los Laboratorios de “Microbiología y Parasitología” y del “Centro de Diagnóstico Médico”; gracias a su guía, paciencia, dedicación, apoyo incondicional y amistad, me han permitido culminar con éxito el procedimiento práctico de la investigación.

A mis estimados y apreciados docentes en general, fueron un apoyo fundamental para mi desarrollo intelectual permitiéndome adquirir a través de sus metodologías un aprendizaje ágil, dinámico, analítico, actualizado y central que sin duda alguna se convirtió en una base sólida dentro mi campo profesional.

Índice de contenidos

Carátula.....	i
Certificación.....	ii
Autoría	iii
Carta de autorización	iv
Dedicatoria.....	v
Agradecimiento.....	vi
1. Título	1
2. Resumen	2
Summary	3
3. Introducción.....	4
4. Marco Teórico	6
4.1 Hongos	6
4.1.1 <i>Levaduras</i>	6
4.1.2 <i>Morfología</i>	6
4.1.3 <i>Fisiología</i>	6
4.1.4 <i>Reproducción</i>	7
4.2 Género <i>Candida</i>	7
4.2.1 <i>Estructura</i>	7
4.2.2 <i>Características</i>	7
4.2.3 <i>Taxonomía</i>	7
4.2.4 <i>Especies</i>	8
4.3 Candidiasis	9
4.3.1 <i>Candidiasis Vaginal</i>	9
4.3.2 <i>Etiología</i>	9
4.3.3 <i>Epidemiología</i>	9

4.3.4	<i>Fisiopatología</i>	10
4.3.5	<i>Características Clínicas</i>	10
4.3.6	<i>Factores predisponentes</i>	11
4.4	Mujeres en Edad Fértil	11
4.5	Diagnóstico de laboratorio	12
4.5.1	<i>Tipo de muestra</i>	12
4.5.1.1	Secreción vaginal	12
4.5.2	<i>Exámenes en Fresco</i>	12
4.5.3	<i>Medios de Cultivo</i>	13
4.6	Antimicóticos para Tratar la Candidiasis Vulvovaginal	14
4.6.1	<i>Fluconazol</i>	14
4.6.2	<i>Voriconazol</i>	14
4.7	Mecanismos de Resistencia a los Azoles	14
4.8	Método para el Estudio de Sensibilidad a los Antifúngicos.....	15
4.8.1	<i>Método de Difusión en Disco</i>	15
4.9	Análisis estadístico.....	15
4.9.1	<i>Tabla de frecuencias</i>	15
5.	Metodología.....	16
5.1	Tipo de Estudio	16
5.2	Área de Estudio	16
5.3	Universo	16
5.4	Muestra.....	16
5.5	Criterios de Inclusión	17
5.6	Criterios de Exclusión	17
5.7	Equipos y Materiales.....	17
5.8	Instrumentos de Recolección de Datos	18
5.9	Fuentes de Información.....	18

5.10 Consideraciones Éticas.....	18
6. Resultados.....	19
7. Discusión.....	22
8. Conclusiones.....	26
9. Recomendaciones.....	27
10. Bibliografía.....	28
11. Anexos.....	34

Índice de tablas

Tabla 1. Examen directo con KOH al 10% en muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil del Centro de Salud N ° 1 Loja. Mayo-Julio 2022.....	19
Tabla 2. Cultivo en Agar Sabouraud de muestras de secreción vaginal con presencia de estructuras micóticas de mujeres en edad fértil del Centro de Salud N o 1 Loja. Mayo-Julio 2022.....	19
Tabla 3. Identificación de especies de <i>Candida</i> en CHROMagar – Candida, de muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil del Centro de Salud N o 1 Loja. Mayo-Julio 2022.	20
Tabla 4. Susceptibilidad a fluconazol de las especies de <i>Candida</i> aisladas de muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil del Centro de Salud N o 1 Loja. Mayo-Julio 2022	20
Tabla 5. Susceptibilidad a voriconazol de las especies de <i>Candida</i> aisladas de muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil del Centro de Salud N o 1 Loja. Mayo-Julio 2022	21

Índice de anexos

Anexo 1. Oficio de aprobación de cambio de objetivos.....	35
Anexo 2. Oficio de permiso para la toma de muestras en el Laboratorio del Centro de Salud N° 1 de Loja.	36
Anexo 3. Oficio de permiso el procesamiento de muestras en el Centro de Diagnóstico Médico de la Facultad de la Salud Humana.....	37
Anexo 4. Consentimiento informado y encuesta.....	38
Anexo 5. Condiciones pre-analíticas para la toma de muestra de secreción vaginal	42
Anexo 6. Protocolo para la toma de muestra de secreción vaginal.	44
Anexo 7. Protocolo para la conservación y transporte de las muestras de secreción vaginal .	47
Anexo 8. Protocolo para la preparación del medio Sabouraud Dextrose Agar®	50
Anexo 9. Protocolo para la preparación del medio de CHROMagar Candida®.....	53
Anexo 10. Preparación del medio Mueller Hinton Agar®.....	56
Anexo 11. Protocolo para el examen directo con KOH al 10%	59
Anexo 12. Protocolo para realizar el control de calidad con cepas conocidas de <i>Candida</i>	61
Anexo 13. Procedimiento para el cultivo de las muestras en el medio Sabouraud Dextrose Agar®	65
Anexo 14. Procedimiento para el cultivo de colonias aisladas de <i>Candida</i> en el medio CHROMagar Candida®.....	68
Anexo 15. Protocolo para el método de difusión en disco	71
Anexo 16. Protocolo para eliminación de residuos microbiológicos	74
Anexo 17. Hoja de registro de resultados	76
Anexo 18. Certificado de pertinencia y aprobación del tema de trabajo de integración curricular.....	97
Anexo 19. Certificado de traducción de inglés.....	98

1. Título

Tipificación y susceptibilidad de *Candida* en secreciones vaginales de mujeres en edad fértil
del Centro de Salud N° 1 Loja

2. Resumen

La candidiasis vulvovaginal es una infección fúngica causada por levaduras del género *Candida spp.* Catalogada como la segunda causa a nivel mundial de infección vaginal en mujeres en edad fértil, en donde uno de los problemas de importancia clínica es la resistencia a los antifúngicos debido al uso indiscriminado de los mismos. Por lo cual, se planteó el presente estudio con el fin de identificar la presencia de *Candida*, junto con su susceptibilidad antifúngica en muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil que acudieron al Centro de Salud N°1 de Loja, durante el periodo mayo- julio 2022. El presente estudio tuvo un enfoque cuantitativo, de diseño no experimental y de corte transversal descriptivo. Se usaron técnicas directas con KOH al 10% y cultivo de hongos en agar Sabouraud y cromogénico para determinar la frecuencia y especies de *Candida* y la técnica de difusión en disco en agar Mueller Hinton con glucosa y azul de metileno basado en el protocolo M44-A del CLSI para determinar la susceptibilidad a voriconazol y fluconazol. Participaron 187 mujeres, en cuyas muestras se identificaron blastoconidios en un 18,2 % (n=34) y estructuras mixtas de blastoconidios y pseudohifas en un 11,8 % (n=22). Crecimiento positivo de *Candida* en un 80,4 % (n=45). De las cuales el 97,8 % (n=44) correspondieron al Complejo *C. albicans* y el 2,2 % (n=1) a *C. Krusei*. Frente al voriconazol el 80 % (n=35) del Complejo *C. albicans* y el 100 % (n=1) de *C. krusei* resultaron sensibles; mientras que frente al fluconazol el 80 % (n=35) del Complejo *C. albicans* fueron sensibles y el 100 % (n=1) de *C. krusei* resistente.

Palabras clave: Vulvovaginitis, recurrencia, fluconazol, voriconazol.

Summary

Vulvovaginal candidiasis is an opportunistic infection caused by yeasts of the genus *Candida spp.* It is ranked as the second leading cause of vaginal infection in women of childbearing age worldwide, and one of the most important clinical problems is resistance to antifungal drugs due to their indiscriminate use. Therefore, the present study was proposed with the aim of identifying the presence of *Candida*, together with its antifungal susceptibility in vaginal secretion samples from women of childbearing age who attended the Centro de Salud No1 de Loja, during the period May-July 2022. The present study had a quantitative, non-experimental design and descriptive cross-sectional approach. Direct techniques with 10% KOH and fungal culture on Sabouraud agar and chromogenic agar were used to determine the frequency and species of *Candida* and the disc diffusion technique on Müller Hinton agar with glucose and methylene blue based on the M44-A CLSI protocol to determine susceptibility to voriconazole and fluconazole. A total of 187 women participated, in whose samples blastoconidia were identified in 18.2 % (n=34) and mixed blastoconidial and pseudohyphal structures in 11.8 % (n=22). Positive *Candida* growth in 80.4% (n=45). Of which 97.8% (n=44) corresponded to the *C. albicans* complex and 2.2% (n=1) to *C. Krusei*. Against voriconazole 80% (n=35) of the *C. albicans* Complex and 100% (n=1) of *C. krusei* were sensitive; while against fluconazole 80% (n=35) of the *C. albicans* Complex were sensitive and 100% (n=1) of *C. krusei* were resistant.

Key words: vulvovaginitis, recurrence, fluconazole, voriconazole.

3. Introducción

La candidiasis vulvovaginal (CVV) es una micosis causada por diversas especies levaduriformes del género *Candida spp.*, que afecta directamente al aparato urogenital femenino, provocando la inflamación de la vulva o la vagina. En donde *C. albicans* es la especie aislada con mayor frecuencia en el 85% a 95% de los casos, seguida de *C. glabrata* y en menos del 5% otras especies como: *C. krusei*, *C. tropicalis* y *C. parasilopsis* (Pineda et al., 2017).

Es un problema de alta frecuencia en la salud pública mundial y nacional, ya que representa el 25% de los principales motivos de consulta ginecológica en las mujeres en edad fértil y sexualmente activas, en donde tanto la colonización como la infección vaginal micótica suelen ser frecuentes (Barraza et al., 2019).

Por lo general, el 75% de las mujeres sexualmente activas tienden a desarrollar una vez en su vida CVV, pero existe la probabilidad de que dentro la misma clasificación un 45% a 50 % la desarrollen más de una vez y que un 10 % o 20 % de estos casos lleguen a complicarse (Sánchez Gaitán, 2018).

Los antifúngicos de elección para tratar la CVV son preferentemente los azoles como los triazoles fluconazol y voriconazol, cuyo mecanismo de acción reduce la concentración de ergosterol, esencial para la integridad de la membrana citoplasmática fúngica. Sin embargo, el problema de resistencia se va aumentando debido al uso indiscriminado de antifúngicos, incrementando así la recurrencia de la infección (Herrerías y Cárdenas, 2022).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera que en las mujeres en edad fértil y sexualmente activas los casos de CVV vaginal forman parte del 85% - 95% de las infecciones del tracto genital a nivel mundial, lo que lo vuelve un problema de salud pública (OMS, 2014).

En Perú, se realizó un estudio sobre la evaluación de la susceptibilidad a fluconazol y voriconazol, por el método de difusión en disco, en cepas del género *Candida spp.*, aisladas de muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil, donde se reveló que *C. albicans* fue la especie más frecuente aislada, seguida de *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*. Frente al fluconazol *C. albicans* resultó sensible en un 88,7%, sensible dosis dependiente en un 7,3% y resistente en un 4,0%; *C. krusei* 100% resistente; *C. parapsilosis* y *C. glabrata* 100% sensibles y *C. tropicalis* 100% sensible dependiente de la dosis. Mientras de frente al voriconazol *C. albicans* fue sensible en un 87,8%, sensible dosis dependiente en un 7,8% y resistente en un 4,3%; *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* 100%

sensibles (Chanco y Vega, 2020).

En Ecuador, Cuenca- Azogues se realizó un estudio, sobre la identificación y susceptibilidad de *Candida spp.* en el área ginecológica, donde se reflejó que la especie de *Candida* aislada con mayor frecuencia fue *C. albicans* con un 92,6 %, seguida de *C. glabrata* con un 6,6% y *C. parapsilosis* con un 0,7% y que la resistencia que mostraron casi todas las especies aisladas frente al fluconazol fue del 14 % (Orellana y Pacheco, 2021).

En la ciudad de Loja se realizó un estudio en mujeres en edad fértil en el año 2009, donde se reveló una prevalencia del 34,7% de infección vaginal, siendo una de las más frecuentes la CVV con su agente etiológico *C. albicans* (Duran et al., 2022).

Debido al alto porcentaje de CVV en mujeres en edad fértil, se vio necesario el desarrollo de la presente investigación con el fin de identificar la presencia de *Candida*, junto con su susceptibilidad antifúngica, en muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil, que acudieron al Centro de Salud N° 1 de Loja durante el periodo mayo- julio 2022, mediante la realización del examen directo con KOH al 10 % para la observación de estructuras micóticas, la identificación del crecimiento de colonias de levaduras en el medio agar Sabouraud, la identificación de especies de *Candida* en Cromo agar y la determinación de la susceptibilidad frente a fluconazol y voriconazol para las especies de *Candida* aisladas (Sánchez y González, 2021).

El presente trabajo de investigación se considera importante, ya que, al identificar las especies de *Candida* a tiempo junto con su susceptibilidad antifúngica, se apoya a dirigir un tratamiento adecuado y evitar el desarrollo de una enfermedad inflamatoria pélvica, la cual conllevaría a problemas de fertilidad. En la actualidad existe poca información estadística sobre esta patología a nivel local, por lo tanto, los resultados obtenidos de ese tes aportarán con datos estadísticos actualizados que sirvan como base para futuras investigaciones (Barraza et al., 2019).

Una vez analizados los datos, los resultados reflejaron que en las muestras de secreción vaginal de las pacientes que acudieron al Centro de Salud N°1 Loja, las estructuras micóticas observadas con mayor frecuencia fueron los blastoconidios, seguido de estructuras mixtas de blastoconidios y pseudohifas. También, que el Complejo *C. albicans* fue la especie aislada con mayor frecuencia seguida de *C. krusei*. Y que frente al voriconazol ambas especies aisladas presentaron un alto porcentaje de sensibilidad, mientras que frente al fluconazol el Complejo *C. albicans* presentó alta sensibilidad y *C. krusei* una resistencia total a este antimicótico.

4. Marco Teórico

4.1 Hongos

Los hongos son microorganismos eucariontes, heterótrofos, que presentan en su estructura al menos un núcleo con una envoltura nuclear bien definida, mitocondria, retículo endoplasmático y un aparato excretor (Melnick et al., 2016).

Son los responsables del desarrollo de micosis superficiales, cutáneas, subcutáneas o sistémicas, que afectan a diferentes partes del cuerpo como pelo, piel, mucosas, uñas, pies, órganos, entre otros, causando así que las personas que presenten cualquier tipo de micosis desarrollen de forma inmediata respuestas inmunitarias tanto celulares como humorales en contra de los antígenos micóticos (Melnick et al., 2016).

Existen dos formas básicas de crecimiento de los hongos, en forma de levaduras y como mohos. En donde la forma de moho se origina a partir del desarrollo de hifas, unos túbulos cilíndricos multicelulares que se ramifican, en cambio las levaduras se reproducen asexualmente por gemación, formación de blastoconidios (Melnick et al., 2016).

4.1.1 Levaduras

Las levaduras son hongos unicelulares y en ocasiones pluricelulares, ya que en ciertas ocasiones las células se unen para formar pseudomicelios que con frecuencia se ramifican (Prats Pastor, 2006).

4.1.2 Morfología

Con respecto a su forma las levaduras pueden ser: globulares, ovaladas, alargadas, rectangulares, esféricas y triangulares, con un tamaño que varía entre 3-6 μm generalmente. Estructuralmente presentan membrana y pared celular, siendo la quitina el principal componente de este último, el citoplasma está compuesto por vacuolas y núcleos pequeños, los cuales debido a su tamaño se suelen confundir a veces con las vacuolas (Bonifaz, 2012).

4.1.3 Fisiología

La mayoría de las especies de hongos son aeróbicos, aunque a veces algunos pueden ser anaerobios facultativos y otros estrictamente anaerobios, ya que algunas levaduras realizan procesos de fermentación, por lo tanto pueden tender a dejar de crecer debido a la falta de oxígeno. Las fuentes básicas en su dieta incluyen carbohidratos simples como glucosa y fructosa, o disacáridos como sacarosa y maltosa (Bonifaz, 2012).

Para un óptimo crecimiento la mayoría de levaduras necesitan una temperatura entre 20 - 48 °C y un medio neutro o ligeramente ácido, siendo el rango óptimo de pH entre 4,5 - 6,5, ya que tienden acidificar más el entorno por su metabolismo. Pocas levaduras son las que

crecen en rangos más amplios de 0 – 50 °C, ya que la mayoría tienden a ser mesófilas (Bonifaz, 2012).

En medios de cultivo sólidos las levaduras crecen dando lugar a colonias redondeadas, pálidas o mucoides (Estrada y Ramírez, 2019).

4.1.4 Reproducción

Se reproducen por gemación, de manera que una célula madre forma protusiones protoplásmicas o yemas denominadas blastoconidios, los cuales se van a ir separando conforme crecen para así al final dar origen a una célula nueva. Aunque en ciertas ocasiones estas células hijas no se separan, pero se elongan para formar pseudohifas (Murray et al., 2014).

4.2 Género *Candida*

Candida spp., es una levadura pequeña de 4 - 6 µm de diámetro, que se encuentra formando parte del microbiota normal de casi todos los sistemas del cuerpo humano, pero especialmente de la piel y las mucosas (Jameson et al., 2016).

4.2.1 Estructura

Candida spp., normalmente tiene un núcleo, doble membrana nuclear y una pared celular, la cual, en casi todas las especies, pero generalmente en *C. albicans* se encuentra constituida por β-(1,3)-d-glucano (50 a 70%), manano (20%), quitina (10-20%), proteínas (3-6%) y lípidos (1 a 5%) (Arenas, 2013).

4.2.2 Características

Candida spp. puede variar en su morfología dependiendo de la especie (globulares, ovaladas, alargadas y esféricas) y generalmente aquellas especies que sean patógenas tienden a desarrollar pseudohifas largas, ramificadas, con cúmulos pequeños o grandes de levaduras o blastoconidios a excepción de *Candida glabrata*. Además, tienen la característica de poder crecer en diferentes medios de cultivos como Papa dextrosa, Sabouraud Dextrosa y extracto de levadura agar, a una temperatura de 25 a 28 °C y en un período de dos a tres días, obteniendo de esta manera al final colonias de un color blanco- amarillo, planas, cremosas, limitadas y opacas (Bonifaz, 2012).

4.2.3 Taxonomía

Según Bonifaz en el año 2012 describe la taxonomía para el género *Candida spp.*:

- **Clase:** Ascomycetes
- **Subclase:** Hemyascomycetes
- **Orden:** Saccharomycetales

- **Familia:** Saccharomycetes
- **Género:** Pichia, Hansenula, Arxiozyma.

4.2.4 *Especies*

Entre las especies de *Candida*, que afectan regularmente a la mucosa vaginal encontramos: *C. albicans* en un 85 a 95% de los casos, seguida de *C. glabrata* y en menos del 5% otras especies como: *C. krusei*, *C. parasilopsis*, *C. tropicalis* y *C. dubliniensis* (Pineda-Murillo et al., 2017).

4.2.4.1 *C. albicans*. Esta especie presenta la característica de desarrollar blastoconidios o hifas muy largas, conocidos también como tubos germinales. Sin embargo, en medios especiales como el agar harina de maíz también pueden desarrollar clamidosporas, característica importante que le permite diferenciarse del resto de especies (Ryan y Ray, 2010).

4.2.4.2 *C. tropicalis*. Tiene la característica de formar hifas con blastoconidios ya sean de forma individual o en racimos pequeños, sin embargo, como este patrón no es específico, a veces suele ser necesario estudios de asimilación de hidratos carbono (Procop et al., 2017).

4.2.4.3 *C. glabrata*. Esta especie crece con gran facilidad en el medio agar glucosado de Sabouraud a 37 °C, formando así colonias lisas, no adherentes, blancas cremosas y ligeramente brillantes. Además de ello la característica de la ausencia de formación de pseudohifas o clamidosporas, junto con la presencia de blastoconidios pequeños también ayudan a la diferenciación de la especie (Torres-Rodríguez et al., 2018).

4.2.4.4 *C. parapsilosis*. Generalmente presenta forma redonda, ovalada o larga y con capacidad de formar pseudohifas (Rogelio et al., 2012). Para ayudar a su identificación se suele también observar a veces unas áreas focales múltiples de crecimiento satélite adyacente a las líneas de siembra que forman patrones de "artemisia", de "cerillas entrecruzadas" o de "arañas", los cuales suelen ser comparados luego con los códigos de identificación de los sistemas comerciales (Procop et al., 2017).

4.2.4.5 *C. krusei* y *C. dubliniensis*. Estas especies presentan la incapacidad de crecer a 45 °C.

Candida Krusei puede formar pseudohifas o clamidosporas alargados rectangulares, los cuales forman racimos agrupados de manera parecida a las ramas de un árbol, siendo esto una característica esencial en su identificación. Mientras que *Candida dubliniensis* puede formar clamidoconidios a partir de pseudomicelios (Procop et al., 2017).

4.3 Candidiasis

4.3.1 *Candidiasis Vaginal*

La candidiasis vaginal es una micosis producida por diversas especies del género *Candida spp.*, que se caracteriza por la inflamación de la vulva o de la vagina, pero no ambas zonas al mismo tiempo regularmente (Domingo, 2019).

Candida spp., generalmente forma parte de la flora vaginal normal, convirtiéndose en un problema cuando se producen alteraciones en el medio ambiente de la vaginal, como cambios del pH y un desbalance hormonal, permitiendo así su desarrollo y los síntomas de la infección (Strasinge y Schaub Di Lorenzo, 2016).

Aproximadamente el 75% de las mujeres padecen este tipo de infección al menos una vez en su vida y un 50 % tiende a sufrirlo más de una vez. Las mujeres en edad fértil es el grupo más propenso a desarrollarla ya que la fertilidad es uno de los factores que influyen para su desarrollo, mientras que los grupos menos frecuentes suelen ser las mujeres adultas postmenopáusicas y las mujeres que aún no llegan a la pubertad (Ugalde González et al., 2021).

4.3.2 *Etiología*

Generalmente suele estar presente una sola especie de *Candida*, aunque puede existir la probabilidad de que se aíslen dos especies, siendo así la más frecuente *Candida albicans*, seguida de *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. krusei* (Sánchez, 2018).

Las levaduras que producen o no blastoconidios se las relaciona con la colonización asintomática de la vagina y como medio de transmisión, mientras que las levaduras o las especies de *Candida* que producen pseudohifas se identifican en las vaginitis infecciosas (Pineda-Murillo et al., 2017).

4.3.3 *Epidemiología*

La candidiasis vaginal se ha vuelto el motivo de consulta con mayor frecuencia en la atención primaria de salud por parte de las mujeres en edad fértil (Enrique Pérez-Bastán, 2018). Ya que, a nivel mundial aproximadamente 138 millones de mujeres son afectadas anualmente por *Candida spp.*, de forma recurrente, por un periodo 1 o 2, pero en algunos

casos puede extenderse hasta por más de 5 años. Mientras que el resto de mujeres, aproximadamente 492 millones tienden a presentarla a lo largo de su vida (Ugalde González et al., 2021).

4.3.4 Fisiopatología

Generalmente entre el 17 y 75 % de los aislamientos de *Candida* pertenecen a mujeres que no presentan síntomas de la infección y que tienen concentraciones bajas de levaduras. Por lo tanto, para que *Candida* cambie de comensal a patógeno es enserio la combinación de la virulencia de la propia *Candida* y de los factores inmunitarios dependientes del huésped (Pineda-Murillo et al., 2017).

4.3.4.1 Inmunidad. Aquí intervienen los mecanismos inmunitarios tanto humorales como celulares, siendo los neutrófilos la primera línea de defensa. Sin embargo, muchas de las veces los neutrófilos polimorfonucleares no son capaces de destruir las hifas debido a su tamaño por lo cual, para poder destruir el hongo deben unirse a las hifas para descargar los productos metabólicos generados por la reacción oxidativa metabólica, para así provocar la destrucción del hongo. El rol de los anticuerpos y el complemento también es importante ya que, facilitan la destrucción de las levaduras especialmente de *C. albicans* al momento de opsonizarlas (Ryan y Ray, 2010).

4.3.4.2 Factores de Virulencia. *Candida* ingresa a luz vaginal a través de la región perianal adyacente y su establecimiento depende de la cohesión de las levaduras con las células epiteliales gracias a manoproteínas como las adhesinas. Sin embargo, también participan enzimas proteolíticas, aspartil- proteinasas fosfolipasas y una molécula de gliotoxina que tiene como función inactivar la fagocitosis de las células del sistema inmunitario innato. Por otro lado, el desarrollo de blastoconidios y pseudohifas contribuyen a la destrucción de las células del epitelio vaginal debido a la invasión directa y la adhesión de levaduras a hierro-ferroso puede provocar que se desarrolle resistencia ante ciertos antifúngicos (Pineda-Murillo et al., 2017).

4.3.5 Características Clínicas

Las manifestaciones clínicas más comunes de la CVV suelen ser picazón, dolor vaginal, ardor vulvar, si olor fétido, eritema el cual se observa como un enrojecimiento en la vulva y la vagina, fisuras las cuales se observan como unas grietas un poco profundas en la entrada de la vagina y una secreción blanca espesa con aspecto de requesón (González et al., 2019).

4.3.6 Factores predisponentes

Los principales factores predisponentes que contribuyen al desarrollo de CVV son el uso de tratamientos con antibióticos debido a la supresión de bacterias vaginales en mujeres colonizadas anteriormente. El embarazo debido al aumento de estrógeno generalmente y también de otras hormonas sexuales. El uso de anticonceptivos tanto orales como locales como por ejemplo el dispositivo intrauterino, el cual ayuda a que la infección se desarrolle ya que *Candida*, tiene la capacidad de producir tanto biopelículas en el dispositivo como de realizar la metabolización de ciertos compuestos de sustancias espermicidas, facilitando de esta manera la cohesión de *Candida* al revestimiento interno aglandular de la vagina (Pineda-Murillo et al., 2017).

La diabetes mellitus también es un factor predisponente que contribuye al desarrollo de la infección, ya que la hiperglucemia facilita el asentamiento de microorganismos debido a la fagocitosis que realizan los neutrófilos y la eliminación de microorganismos por medio de especies reactivas. Por otro lado, las secreciones vaginales con bastante glucosa también facilitan la cohesión de *Candida* a los epitelios, ya que el isómero de glucosa que es una fucosa tiene la función de receptor, permitiendo de manera la adhesión y colonización de los tejidos (Gallegos- García, 2018).

Aunque la CVV no se trata de una enfermedad de transmisión sexual, las relaciones oro-genitales también contribuyen al desarrollo de la infección. Los hábitos de higiene personal como el uso de jabones perfumados, baño de burbujas, uso de tampones, toallas, entre otros ayudan a que la infección sea recurrente. Finalmente, el estrés también es otro factor debido a que causa cambios en la inmunidad, provocando de esta manera una alteración en el equilibrio del microbiota vaginal normal (Jaqueti -Aroca et al., 2020).

4.4 Mujeres en Edad Fértil

Según la OMS la etapa reproductiva de la mujer se define entre los 15 a los 45 años de edad, entendiéndose así que se extiende desde la primera menstruación hasta la menopausia (Herrera-Cuenca, 2017).

Las mujeres en esta etapa de vida, poseen una flora bacteriana vaginal con un gran número de microorganismos, predominando así los *Lactobacillus* y *Corynebacterium*, los cuales, a partir del glucógeno producido por las células maduras del epitelio vaginal y estimuladas por los estrógenos, son capaces de producir ácido láctico y ácido acético. Por lo tanto, esas grandes cantidades de estrógeno producido van a causar que la vagina madure rápidamente y aumente a la vez la producción de glucógeno, facilitando de esta manera la

proliferación y adherencia de la *Candida*, para el desarrollo de la infección (Gallardo y Puig, 2018).

4.5 Diagnóstico de laboratorio

4.5.1 Tipo de muestra

Las infecciones causadas por hongos se dividen en dos grupos importantes, que son las micosis superficiales y profundas, Por lo tanto, en el primero se encuentran las muestras de piel, uñas, mucosas orofaríngeas y vagina. Mientras que en el segundo se encuentran las muestras derivadas de la mucosa gastrointestinal o del torrente sanguíneo. Sin embargo, para el presente trabajo de investigación se utilizó solo muestras de secreción vaginal para el respectivo análisis (Lazo et al., 2018).

4.5.1.1 Secreción vaginal. La secreción vaginal es un líquido que se origina del útero, el cérvix o la vagina y que normalmente presenta un color blanco y una consistencia un poco espesa, pero que, al momento de desarrollarse una infección por hongos, el aspecto de esta va a cambiar a un color blanco grisáceo y con aspecto de leche cortada como requesón, lo cual es característico de una infección por *Candida* (León Hoyos et al., 2018).

4.5.2 Exámenes en Fresco

Los exámenes en fresco son técnicas rápidas y fáciles que se utilizan dentro del Laboratorio Clínico para la detección temprana de una infección por hongos, los cuales se llevan a cabo mediante la utilización de diferentes sustancias que permitan, la digestión de proteínas, mejorar los pigmentos y la separación de las células queratinizadas, facilitando así, la observación de estructuras micóticas. Por lo tanto, las soluciones comúnmente utilizadas que presentan dichas características son: suero fisiológico, hidróxido de potasio (KOH) y el azul de lactofenol (Morales et al., 2018).

4.5.2.1 Examen Directo con KOH. El KOH al 10% es una sustancia comúnmente utilizada dentro del Laboratorio Clínico para la detección rápida de una infección por hongos. La función que cumple es de disolver los elementos celulares y de digerir ciertos componentes proteicos, pero asegurándose de no destruir los polisacáridos de las paredes celulares de los hongos. En ocasiones, también se suele añadir glicerol para prevenir la degradación de elementos fúngicos, la formación de cristales y la deshidratación de la preparación, facilitando de esta manera aún más la observación de las estructuras fúngicas (Morales et al., 2018).

4.5.3 Medios de Cultivo

Un medio de cultivo es un conjunto de nutrientes que crean las condiciones fisicoquímicas adecuadas para el desarrollo de microorganismos, existiendo así diferentes medios específicos que permiten el aislamiento de hongos como: BD Brain Heart Infusión (BHI) Agar® (cerebro-corazón) con 5% sangre de oveja, Agar Papa Dextrosa (PDA)®, Sabouraud Dextrose Agar®, CHROMagar® y el medio de sensibilidad Mueller Hinton Agar®. Sin embargo, en la presente investigación se utilizaron solo tres medios que fueron el Sabouraud Dextrose Agar®, CHROMagar® y el medio de sensibilidad Mueller Hinton Agar® (Barrero, 2016).

4.5.3.1 Sabouraud Dextrose Agar®. Este es un medio no selectivo para el cultivo y mantenimiento de hongos patógenos y no patógenos, que contiene peptona, tripteína, glucosa, pH ácido, al cual se le suele añadir en ocasiones antibióticos como gentamicina o cloranfenicol, para evitar el crecimiento de un gran número de bacterias y aislar así de mejor manera los hongos. En este medio las colonias de *Candida spp* se van a presentar de un color blanco a amarillo, grandes, cremosas, lisas, opacas, rugosas y algunos cebroides (Barrero, 2016).

4.5.3.2 CHROMagar Candida®. Es un medio selectivo y de diferenciación, que contiene sustratos cromogénicos que ayudan a la diferenciación rápida, clara y precisa de ciertas especies de *Candida spp*, tras la incubación a 30-37°C durante 48 h, permitiendo así que el color de las colonias se desarrolle completamente. Terminado el tiempo las colonias de *C. albicans* van a ser lisas y de color verde esmeralda, las de *C. tropicalis* azul oscuro y con un halo púrpura marrón, las de *C. krusei* colonias rugosas con el centro rosado y el borde blanco, las de *C. glabrata* violetas y las de *C. dubliniensis* colonias verde oscuro y lisas (Zuluaga et al., 2018).

4.5.3.3 Mueller Hinton Agar®. Es un medio no selectivo que permite el desarrollo microbiano y se lo utiliza en el procedimiento de difusión en disco para la determinación de la sensibilidad de cepas aisladas que en este caso serían de *Candida*. Se le suele añadir en ocasiones 2 % de glucosa y 0,5 µg/ml de azul de metileno, bien al momento de preparar los medios o en las placas ya preparadas, con el fin de mejorar el crecimiento de las levaduras por parte de la glucosa y aumentar la definición de los halos de inhibición por parte del azul de metileno. La lectura por lo regular se la realiza en un periodo de 24 a 48 horas, siendo a las 24 h lo más recomendable (Pemán et al., 2010).

4.6 Antimicóticos para Tratar la Candidiasis Vulvovaginal

Los azoles forman parte de un grupo heterogéneo de antifúngicos que tienen como característica en común la presencia de un anillo de imidazol libre unido a otros anillos aromáticos mediante un enlace carbonitrógeno y se clasifican según el número de nitrógenos que tenga el anillo, dividiéndose así en triazoles e imidazoles (Nocua-Báez et al., 2020).

Son utilizados como la primera línea de elección para el tratamiento de infecciones micóticas como la candidiasis vaginal (Cárdenas Parra y Pérez Cárdenas, 2020). Su mecanismo de acción consiste en bloquear la síntesis de ergosterol que es el principal componente de la membrana celular fúngica, al inhibir la conversión de lanosterol a ergosterol por medio de la enzima 14- α desmetilasa, afectando de esta manera la composición lipídica de la membrana y su permeabilidad, debilitando hasta inhibir el crecimiento de las células fúngicas. (Quiles-Melero y García-Rodríguez, 2021).

4.6.1 Fluconazol

Es un antifúngico perteneciente al grupo de los triazoles, tiene buena biodisponibilidad y baja toxicidad (Carpio-Jiménez et al., 2021). El tracto gastrointestinal lo absorbe fácilmente y no lo afecta ni el pH ni el consumo de otros alimentos, posee buena eliminación renal y tiene un volumen de distribución bajo, por lo cual las concentraciones séricas serán mayores (Nocua-Báez et al., 2020).

4.6.2 Voriconazol

Es un triazol de amplio espectro, derivado de la síntesis del fluconazol y con buen perfil de absorción oral (Ruiz-Boy et al., 2021). Tiene como función detener la desmetilación de 4 alfa-lanosterol mediado por el citocromo P-450 fúngico, ya que este ayuda en la producción del ergosterol fúngico. Su volumen de distribución no es tan bueno en comparación con el resto de azoles y la eliminación es misma por vía renal en un periodo de 48 h (Nocua-Báez et al., 2020).

4.7 Mecanismos de Resistencia a los Azoles

El uso indiscriminado de antifúngicos por parte de las mujeres que se automedican es la principal causa del aumento de resistencia a los azoles y de la recurrencia de la infección. Siendo así dos los mecanismos de resistencia a los azoles: el primero corresponde a los cambios de la diana, en donde alteraciones de 14 α -desmetilasa y otras enzimas, provoca que algunas especies de *Candida* necesiten una mayor concentración del antifúngico para detener al menos la mitad de la síntesis de ergosterol. Y el segundo mecanismo son los hongos blanco de acción de los azoles, los cuales poseen proteínas pertenecientes a la superfamilia de

proteínas de casete de unión de ATP (ABC) y de la superfamilia facilitadora principal (MFS), que se encargan de la expulsión de las moléculas de azoles (Nocua-Báez et al., 2020).

4.8 Método para el Estudio de Sensibilidad a los Antifúngicos

El antifungigrama es un método muy utilizado dentro del Laboratorio Clínico para la determinación de la sensibilidad antifúngica de un hongo, frente a uno o varios antifúngicos, existiendo así una gran cantidad de métodos, tanto automatizados como manuales, sin embargo, para la presente investigación solo se llevó a cabo el método de difusión en disco con el medio Mueller Hinton Agar®, ya que es el método recomendado por CLSI, para este tipo de levaduras (Aguilera et al., 2022).

4.8.1 Método de Difusión en Disco

Es un método muy sencillo recomendado por el CLSI para el estudio de la sensibilidad de las especies de *Candida*, en función del halo de inhibición producido por la difusión de los antifúngicos fluconazol y voriconazol, los cuales se encuentran impregnados en unos pequeños discos o tabletas con concentraciones específicas del antifúngico, siendo así fluconazol de 25 µg y voriconazol de 1µg. El tiempo de incubación recomendado es de 24 horas para *Candida spp.* pero si no hay suficiente crecimiento se puede volver a reincubar para leer a las 48 h. La medición del halo debe ser donde se produce una reducción del crecimiento y la presencia de pequeñas o grandes colonias en su borde o su interior se deben ignorar (Pemán et al., 2010).

4.9 Análisis estadístico

4.9.1 Tabla de frecuencias

Son tablas en donde los datos estadísticos obtenidos de la investigación están representados y distribuidos de forma ordenada mediante frecuencias, es decir según las veces que se repitan en la muestra. Se las pueden emplear tanto para variables cuantitativas como para cualitativas ordinales. Por lo general, las tablas aparecen ordenadas en forma de columnas, facilitando de esta manera la realización de los gráficos o diagramas estadísticos (Francisco et al., 2020).

5. Metodología

5.1 Tipo de Estudio

El presente estudio tuvo un enfoque cuantitativo de diseño no experimental y de corte transversal descriptivo, ya que, se identificó las diferentes especies de *Candida* más frecuentes presentes en muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil, así como su susceptibilidad frente a los antifúngicos fluconazol y voriconazol para las especies de *Candida* aisladas. Y fue de corte transversal, porque se llevó a cabo en un determinado tiempo y espacio, en el Centro de Salud N° 1 de Loja, durante el periodo mayo-julio 2022.

5.2 Área de Estudio

El estudio se llevó a cabo en el Centro de Salud N°1 del Ministerio de Salud Pública, de la ciudad de Loja, ubicado entre la Av. Universitaria y la calle Pasaje Rodríguez, frente al puente Lea. Las muestras recolectadas fueron analizadas en el Centro de Diagnóstico Médico de la Facultad de Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja ubicado en la calle Raúl Montero.

5.3 Universo

Mujeres en edad fértil que acudieron a la consulta médica general en el Centro de Salud N° 1 de Loja durante el periodo mayo-julio 2022, con sospecha de presentar infecciones por *Candida*.

5.4 Muestra

La muestra estuvo conformada por 187 mujeres en edad fértil que acudieron al Centro de Salud N° 1 de Loja, con sospecha de presentar infecciones por *Candida* en el periodo mayo-julio 2022. Dicho cálculo se obtuvo mediante el programa STATS, con un máximo de error del 5%, estimación del porcentaje del 50% y un índice de confianza del 95%. Mencionando además que se utilizó un muestreo probabilístico.

5.5 Criterios de Inclusión

- Pacientes que estuvieron de acuerdo con ser parte de la investigación y que otorgaron su consentimiento informado.
- Mujeres en edad fértil que oscilaron entre 15 y 45 años con pedido médico de examen de secreción vaginal.

5.6 Criterios de Exclusión

- Mujeres de 15 a 45 años que no cumplieron con las condiciones pre-analíticas para la toma de muestra de secreción vaginal (Anexo 5).
- Mujeres en edad fértil con tratamiento antifúngico.

5.7 Equipos y Materiales

Fase pre-analítica

- Oficio de aprobación de cambio de objetivos (Anexo 1).
- Oficio de permiso para la toma de muestras en el Laboratorio del Centro de Salud N° 1 de Loja (Anexo 2).
- Oficio de permiso para el procesamiento de muestras en el Centro de Diagnóstico Médico de la Facultad de la Salud Humana (Anexo 3).
- Consentimiento informado y encuesta (Anexo 4).
- Condiciones pre-analíticas para la toma de muestra de secreción vaginal (Anexo 5).
- Protocolo para la toma de muestra de secreción vaginal (Anexo 6).
- Protocolo para la conservación y transporte de las muestras de secreción vaginal (Anexo 7).

- Protocolo para la preparación del medio Sabouraud Dextrose Agar® (Anexo 8).
- Protocolo para la preparación del medio CHROMagar-*Candida*® (Anexo 9).
- Protocolo para la preparación del medio de Mueller Hinton® (Anexo 10).

Fase analítica

- Protocolo para realizar el control de calidad con cepas conocidas de *Candida spp.* (Anexo 11).
- Protocolo para realizar el examen directo con KOH al 10 % (Anexo 12).
- Protocolo para el cultivo en el medio Agar Sabouraud Dextrosa de las muestras de secreción vaginal que tuvieron una prueba de KOH positiva (Anexo 13).
- Protocolo de pase de cepas crecidas al medio CHROMagar-*Candida* (Anexo 14).
- Protocolo para antifungigrama en disco (Anexo 15).
- Protocolo para la eliminación de residuos microbiológicos (Anexo 16).

Fase post- analítica

- Registro de los resultados obtenidos (Anexo 17).
- Para la tabulación de datos se utilizó el programa SPSS versión 25, los cuales fueron presentados mediante tablas según el examen directo con KOH al 10%, el cultivo en Agar Sabouraud, la identificación de las especies de *Candida* en CHROMagar-*Candida* y la susceptibilidad a fluconazol y voriconazol de las especies de *Candida* aisladas.
- Los datos obtenidos en la presente investigación fueron analizados mediante bioestadística descriptiva.

5.8 Instrumentos de Recolección de Datos

Para la recolección de datos de la presente investigación se realizó solo el trabajo experimental dentro del Laboratorio Clínico de los métodos descritos.

5.9 Fuentes de Información

Como fuentes de información se utilizaron tanto los pedidos del laboratorio, para poder registrar los datos de la paciente, así como también una encuesta (Anexo 4) con información útil para la fase pre-analítica y para el análisis del antifungigrama.

5.10 Consideraciones Éticas

Se utilizó un consentimiento informado (Anexo 4), en el cual se describía de forma detallada, clara y precisa los propósitos de la investigación, mismo que fue presentado con su respectiva firma para corroborar que decidió formar parte de la investigación de forma libre y voluntaria, además se salvaguardó la identidad y datos personales del usuario.

6. Resultados

Para la realización de esta investigación se trabajó con muestras de secreción vaginal de 187 mujeres en edad fértil que oscilaron entre 15 y 45 años, atendidas en el Centro de Salud N° 1 de Loja. Para poder identificar la presencia de *Candida*, junto con su susceptibilidad antifúngica frente al fluconazol y voriconazol.

Para dar cumplimiento al primer objetivo se realizó el examen directo con KOH al 10% para identificar la presencia de estructuras micóticas (Tabla 1), observando que la gran mayoría de muestras presentaron blastoconidios.

Tabla 1.

Examen directo con KOH al 10% en muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil del Centro de Salud N o 1 Loja. Mayo-Julio 2022.

	Frecuencia	Porcentaje (%)
Blastoconidios	34	18,2
Blastoconidios y pseudohifas	22	11,8
Sin presencia de estructuras micóticas	131	70
Total	187	100

Luego, para dar cumplimiento al segundo objetivo las muestras que presentaron estructuras micóticas se sembraron en Agar Sabouraud a una temperatura de 35°C por un periodo de 72 horas, observando un crecimiento de colonias lisas, cremosas y de color blanco- amarillento (Tabla 2).

Tabla 2.

Cultivo en Agar Sabouraud de muestras de secreción vaginal con presencia de estructuras micóticas de mujeres en edad fértil del Centro de Salud N o 1 Loja. Mayo-Julio 2022.

	Frecuencia	Porcentaje (%)
Crecimiento	45	80,4
Sin crecimiento	11	19,6
Total	56	100

Después, para dar cumplimiento al tercer objetivo, las muestras que presentaron las características de colonias de levaduras en el medio Agar Sabouraud se les realizó el pase al medio selectivo CHROMagar – *Candida* a una temperatura de 35 °C, por 48 horas donde se identificó (Tabla 3) al Complejo *C. albicans* en el 97,8 % de muestras positivas.

Tabla 3.

Identificación de especies de Candida en CHROMagar – Candida, de muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil del Centro de Salud N o 1 Loja. Mayo-Julio 2022.

	Frecuencia	Porcentaje (%)
Complejo <i>C. albicans</i>	44	97,8
<i>C. Krusei</i>	1	2,2
Total	45	100

Finalmente, para dar cumplimiento al cuarto objetivo se realizó el antifungigrama mediante el método de difusión en disco de las especies de *Candida* aisladas para conocer su susceptibilidad tanto al fluconazol como al voriconazol en el medio Mueller Hinton a una temperatura de 35°C, la lectura de los halos de inhibición se realizó a las 48 horas de incubación (Tabla 4, 5).

Tabla 4.

Susceptibilidad a fluconazol de las especies de Candida aisladas de muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil del Centro de Salud N o 1 Loja. Mayo-Julio 2022

		Susceptibilidad a fluconazol de especies de <i>Candida</i> aisladas		Total	
		Sensibles	Resistentes		
		Especies <i>Candida</i> aisladas	Complejo <i>C. albicans</i>		Frecuencia
		%	80%	20%	100%
	<i>C. Krusei</i>	Frecuencia	0	1	1
		%	0%	100%	100%

Tabla 5.

Susceptibilidad a voriconazol de las especies de Candida aisladas de muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil del Centro de Salud N o 1 Loja. Mayo-Julio 2022

		Susceptibilidad a voriconazol de especies de <i>Candida</i> aisladas			Total
			Sensibles	Resistentes	
Especies <i>Candida spp.</i> aisladas	Complejo	Frecuencia	35	9	44
	<i>C. albicans</i>	%	80%	20%	100%
	<i>C. Krusei</i>	Frecuencia	1	0	1
		%	100%	0%	100%

7. Discusión

La CVV es una micosis que afecta frecuente a mujeres en edad fértil. En donde aproximadamente el 75% de esta población tienden a desarrollar una vez en su vida CVV, pero existe la probabilidad de que dentro la misma clasificación un 45% la desarrollen más de una vez y que un 20% de estos casos lleguen a complicarse (Sánchez Gaitán, 2018).

El presente estudio se realizó en un total de 187 muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil entre 15 y 45 años, que acudieron al Centro de Salud N° 1 de Loja durante el periodo mayo- julio 2022, con el fin de identificar la presencia de *Candida*, junto con su susceptibilidad antifúngica frente al fluconazol y voriconazol.

Por lo tanto, en primera instancia mediante el examen directo con KOH al 10%, se obtuvo la frecuencia de estructuras micóticas presentes en las muestras de secreción vaginal, en donde se reflejó un mayor porcentaje de blastoconidios 18,2 % (n=34), lo cual se corrobora con el estudio realizado por Occhionero et al.(2018) en Argentina ,donde menciona que, del total de 69 muestras de secreción vaginal de mujeres asintomáticas de edad fértil entre 15 y 60 años, analizadas mediante el mediante el examen directo con KOH al 10%, el 13,9 % (n=41) presentaron levaduras. Evidenciando de esta manera que ambos estudios son similares, ya que, generalmente la presencia de levaduras con o sin blastoconidios se asocian con la colonización asintomática de la vagina, debido a que *Candida* se encuentra formando parte del microbiota normal de la vaginal. (Durán et al., 2022).

Sin embargo, en el presente estudio también se observó en menor porcentaje combinaciones de blastoconidios y pseudohifas en un 11,8 % (n=22), lo cual resulta semejante a varios estudios como la investigación de Merchán et al. (2020) realizada en el Centro de Salud Jipijapa de la Provincia de Manabí, donde menciona que, del total de 250 mujeres en edad reproductiva entre 15 y 45 años, el 14% presentaron blastoconidios y pseudohifas en el examen directo con KOH al 10%. Al igual que en el estudio de Delgado y Zapata (2018) en Chiclayo, donde menciona que del total de 90 muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil y embarazadas sintomáticas entre 15 y 45 años, el 22,2% (n=20) presentaron pseudohifas en el examen directo con KOH al 10%. Apreciándose de esta manera que los tres estudios son semejantes, ya que en mujeres con síntomas como picazón, dolor vaginal, ardor vulvar y leucorrea grumosa sin olor, la presencia de estructuras mixtas de blastoconidios y pseudohifas de las especies de *Candida* se asocia con la enfermedad activa (López et al., 2020).

Así mismo, en el presente estudio se obtuvo el porcentaje del crecimiento de los cultivos positivos de *Candida* de las muestras de secreción vaginal con presencia de estructuras micóticas sembradas en Agar Sabouraud e incubadas a 35°C por 72 horas, en donde se reflejó que el 80,4% (n=45) presentó crecimiento de colonias lisas, cremosas y de color blanco- amarillento, propio de *Candida*, lo cual se corrobora con varios estudio como el realizado por Parrales et al. (2018) en la provincia de Manabí, donde menciona que, del total de 30 muestras de secreción vaginal de mujeres sexualmente activas con sospecha de CVV previo examen directo con KOH al 10%, el 80% (n=24) presentaron crecimiento positivo de levaduras de *Candida* en el medio Agar Sabouraud al cabo de 24 horas a 35°C . Otro estudio realizado por Iza (2018) en Latacunga, menciona que, del total de 70 muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil de 18 a 44 años con sospecha de CVV analizadas mediante el examen directo con KOH al 10 % e incubadas después a 35°C por 48 horas, el 92 % (n=64) presentó crecimiento positivo de *Candida*. Así mismo, un estudio realizado por Orellana y Pacheco (2021) en Paraguay, donde involucró a 136 mujeres en edad fértil entre 15 y 45 años sintomáticas, menciona que el 100% (n=136) presentó crecimiento propio de levaduras de *Candida* en el medio Agar Sabouraud al cabo de 48 horas a 35°C. Lo cual indica que los cuatro estudios son similares, ya que, el porcentaje de crecimiento de levaduras de *Candida* de las muestras con presencia de estructuras micóticas sembradas en el medio Agar Sabouraud fue alto, debido principalmente a que las muestras de secreción vaginal sembradas presentaron un significativo número de estructuras micóticas, además de presentar condiciones de incubación como temperatura y medio de cultivo iguales, lo que nos indica que el tiempo de incubación que fue lo que varió no interfiere de gran medida en el crecimiento de colonias de hongos. Sin embargo, para justificar la falta de crecimiento en Agar Sabouraud, se puede mencionar que se debe a la gran cantidad de *Lactobacillus* presentes en la mucosa vaginal, los cuales evitan el desarrollo de otros microorganismos como *Candida*. Evidenciando esto en nuestro estudio ya que los crecimientos negativos de colonias de hongos, solían contener bacterias al momento de observar microscópicamente dichas colonias crecidas en el medio agar Sabouraud (Kalia et al., 2020).

A continuación, en el presente estudio las muestras que presentaron crecimiento positivo de *Candida* en el medio Agar Sabouraud, se les realizó el pase al medio selectivo CHROMagar-*Candida* a una temperatura de 35 °C por 48 horas, donde se observó un crecimiento de colonias verde claro correspondientes al Complejo *C. albicans* en el 97,8 % (n=44) de los cultivos y un crecimiento de colonias rosa claro con bordes blancos propias en cambio de *C. krusei* en el 2,2 % (n=1) de los cultivos; corroborando esto con varios estudios

como el realizado por Solís et al. (2019) en México, donde menciona que del total de 150 muestras de secreción vaginal de mujeres asintomáticas entre 15 y 77 años, mediante el cultivo en CHROMagar-*Candida* a una temperatura de 37°C por 48 horas de incubación, obtuvo 21 aislamientos de *Candida*, cuya clasificación reveló que *C. albicans* fue la especie más frecuente con un 42,9 % (n=9), seguida de *C. krusei* 23,8 % (n=5), *C. glabrata* 19 % (n=4) y *C. tropicalis* 14,3 % (n=3). Así mismo, otro estudio realizado por Aguilar et al. (2017) en Paraguay, donde involucró a 522 pacientes embarazadas y 221 pacientes no embarazadas entre 15 y 48 años sintomáticas, menciona que en esta última población, mediante el cultivo en CHROMagar- *Candida* a una temperatura de 35°C por 72 horas de incubación, obtuvo 222 aislamientos de *Candida*, resultando las especies más frecuentes: *C. albicans* 73,4% (n=163), *C. glabrata* 14% (n=31), *C. krusei* 4,6% (n=10), *C. parapsilosis* 4,1% (n=9), *C. tropicalis* 2,7% (n=6), *C. guilliermondii* 0,4% (n=1), *C. kefyr* 0,4% (n=1) y *C. novyensis* 0,4% (n=1). De igual manera, Delmonte et al. (2018) en Zulia, menciona que, del total de 107 muestras de secreción vaginal de mujeres en edad reproductiva entre 16 y 45 años, mediante el cultivo en CHROMagar-*Candida* a una temperatura de 35°C por 48 horas de incubación, aisló 24 cepas de *Candida*, siendo *C. albicans* la especie más frecuente con el 66,7% (n=16), seguida de *C. glabrata* 16,7% (n=4), *C. tropicalis* 8,3% (n=2) y *C. krusei* 8,3 % (n=2). Apreciándose de esta manera que los cuatro estudios son semejantes, ya que, *C. albicans* fue la especie aislada con mayor frecuencia; este hecho se debe a que dicha especie presenta carácter dimórfico y una alta capacidad patógena, lo que permite una rápida colonización de la mucosa vaginal. Sin embargo, en los estudios mencionados se lograron aislar una mayor variedad y cantidad de especies de *Candida* como *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr* y *C. novyensis*. Lo cual puede deberse a la localización geográfica, edad, tipo de paciente y la exposición previa a fármacos antimicrobianos e inmunosupresores (Quindós, 2018).

Finalmente, con respecto a la susceptibilidad al fluconazol de las especies de *Candida* aisladas, en el presente estudio, mediante el método de difusión en disco según el protocolo M44-A CLSI, se encontró que el 80% (n=36) del Complejo *C. albicans* resultaron sensibles y el 20% (n=9) resistentes y como era de esperar el 100% (n=1) de *C. krusei* resultó resistente, situación que obedece a su resistencia natural frente a este antimicótico; lo cual resulta semejante a varios estudios como el realizado por Herreras y Cárdenas (2022) en Perú, donde mencionan que mediante el método de difusión en disco, la susceptibilidad que presentaron frente al fluconazol las 110 cepas de *Candida* aisladas de muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil, fue: *C. albicans* 89,5% (n=85) sensible, 4,2 % (n=4) sensible dosis

dependiente y 6.3% (n=6) resistente; *C. glabrata* 70% (n=7) sensible, 20% (n=2) sensible dosis dependiente y 10% (n=1) resistente; *C. krusei* 100% (n=1) resistente. Así mismo, Espinoza et al. (2016) en Venezuela, menciona que mediante el método de difusión en disco, la susceptibilidad que presentaron al fluconazol las 23 cepas de *Candida* aisladas de muestras de secreción vaginal de pacientes con vulvovaginitis, fue: Complejo *C. albicans* y *C. guilliermondii* 100% (n=9 y 2) sensibles; Complejo *C. glabrata* 50% (n=4) sensible y 50 % (n=4) sensible dosis dependiente; *C. tropicalis* 100% (n=4) sensible dosis dependiente; Complejo *C. parapsilosis* 66,6% (n=2) sensible y 33,3 % (n=1) sensible dosis dependiente; *C. krusei* 100% (n=1) resistente. Por otra parte, con respecto a la susceptibilidad al voriconazol de las especies de *C.* aisladas, en el presente estudio, se encontró que el 80% (n=36) del Complejo *C. albicans* fueron sensibles y el 20% (n=9) resistentes y el 100% (n=100) de *C. krusei* sensible; lo cual se corrobora con el estudio de Chanco y Vega (2020) en Lima, donde mencionan que mediante el método de difusión en disco (M44-A CLS), la susceptibilidad al voriconazol que presentaron las 150 cepas de *Candida* aisladas de muestras de secreción vaginal de pacientes en edad reproductiva, fue: *C. albicans* 87,9 % (n=124) sensible, 7,8.% (n=11) sensible dosis dependiente y 4,3% (n=6) resistente; *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* 100% (n= 4, 2, 2 y 1) sensibles. Evidenciando de esta manera que todos los estudios analizados son semejantes ya que tanto el fluconazol como el voriconazol siguen siendo los antifúngicos de elección para tratar la CVV debido al buen porcentaje de sensibilidad presentado por las especies de *Candida* aisladas y que más bien el poco porcentaje de resistencia específicamente por parte de *C. albicans* frente a azoles puede deberse a varios factores como su capacidad para formar biopelículas, a su carácter difórmico, a mutaciones en el gen ERG11 que codifica el ergosterol de la membrana plasmática o bien por la sobreexpresión de genes que codifican para bombas de expulsión de fármacos fuera del microorganismo, pero sobre todo al uso indiscriminado de antifúngicos y a una inadecuada dosificación. (Cortés Hidalgo et al., 2018).

8. Conclusiones

- Se determinó la presencia de blastoconidios en un 18,2 % (n=34) y estructuras mixtas de blastoconidios y pseudohifas en un 11,8 % (n=22).
- Se identificó el crecimiento positivo de levaduras de *Candida* en el 80,4% (n=45) de los cultivos de las muestras con KOH positivo.
- Se identificó que la especie de *Candida* aislada con mayor frecuencia fue el Complejo *C. albicans* con 97,8 % (n=44), seguida de *C. Krusei* con 2,2 % (n=1).
- Se determinó que frente al voriconazol el 80% (n=35) del Complejo *C. albicans* y el 100% (n=1) de *C. krusei* resultaron sensibles. Mientras que frente al fluconazol el 80 % (n=35) del Complejo *C. albicans* resultaron sensibles y el 100% (n=1) de *C. krusei* resistente.

9. Recomendaciones

- Resulta importante la implementación del examen directo con KOH en los exámenes de rutina de secreción vaginal dentro del Centro de Salud N°1 de Loja.
- Realizar estudios similares a nivel de la ciudad de Loja, ampliando población y lugares de estudio, con el fin de crear datos epidemiológicos de las especies de *Candida* en muestras de secreción vaginal que estén acorde a la realidad de nuestro medio.
- Por el considerable porcentaje de resistencia observado, resulta importante la implementación de técnicas de cultivo para la identificación de especies de *Candida* en el Centro de Salud N°1 de Loja, con la finalidad de tener información confiable que guíe en el tratamiento, evitando así posibles fallas terapéuticas, ya que como se conoce *C. krusei* presenta resistencia natural al fluconazol.

10. Bibliografía

- Aguilar, G. y Araujo, P. y Godoy, E. y Falcón, M. y Centurión, M. y Ortiz, R. y Britez, M. y Martínez, M. (2017). Identificación y características de *Candida spp*, en secreción vaginal de pacientes embarazadas y no embarazadas. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud*, 15(3), 6–12. ISSN 1812-9528.
- Aguilera, D. y Martínez Campos, L. y Fernández Llamazares, C. M. y Calvo, C. y Baquero-Artigao, F. (2022). New antibiotic susceptibility testing definitions: no longer means intermediate susceptibility. *Anales de Pediatría*, 96(2), 157–158.
<https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2021.04.013>
- Arenas, R. (2013). *Micología médica ilustrada*. McGraw Hill. (3era Ed.). ISBN: 978-607-15-1125-6
- Barraza Guimarrea, N. L. y Ayala-Peralta, F. y Izaguirre-Lucano, H. y Luna-Figueroa, A. y Carranza-Asmat, C. (2019). Características clínicas de vulvovaginitis por *Cándida albicans* en mujeres en edad reproductiva. *Revista Peruana de Investigación Materno Perinatal*, 8(1), 8–12. <https://doi.org/10.33421/inmp.2019133>
- Barrero, L. (2016). *Microbiología clínica*. EdiSintesis. (1era Ed.). ISBN 978-84-9077-318-5
- Bonifaz, J. A. (2012). *Micología Médica Básica*. McGraw Hill. (4a Ed.) ISBN 978-607-15-0744-0
- Cárdenas Parra, L. Y. y Pérez Cárdenas, J. E. (2020). Mecanismos de resistencia a fluconazol expresados por *Candida glabrata*: una situación para considerar en la terapéutica. *Investigación En Enfermería: Imagen y Desarrollo*, 22(1).
<https://doi.org/10.11144/javeriana.ie22.mrfe>
- Carpio-Jimenez, C. y Gutierrez-Chavez, R. G. y Duran Arancibia, P. C. (2021). Perfiles de disolución de cinco medicamentos de fluconazol 150 mg cápsulas. *Universidad Nacional de San Antonio Abad Del Cusco*, 40(2), 1–5.
<https://doi.org/10.7705/biomedica.4723>
- CE. (2021). Inserto de Instrucciones de uso para KWIK-STIK™. www.microbiologics.com
- Chanco, R. y Vega, J. (2020). Susceptibilidad a fluconazol y voriconazol en cepas del género *Candida*, aisladas en secreción vaginal de pacientes en edad reproductiva atendidos en un policlínico categoría I-3, Lima [Tesis de maestría, Universidad Norbert Wiener].
http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/3971/T061_44772645_72885409_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Chiong, M. y Leisewitz, A. y Vironneau, L. y Álvarez, M. y Tischler, N. y Piñones, O. y Moreno, R. (2018). *Manual Técnico de Normas de Bioseguridad y Riesgos Asociados*. Conicyt (17º Ed.). ISBN 978-987-96497-4-9
- Cortés Hidalgo, A. P. y Roa Dueñas, O. H. y Méndez Fandiño, Y. R. y Álvarez Moreno, C. A. (2018). Opciones terapéuticas frente a especies de *Candida* resistentes a los azoles. *Universitas Médica*, 59(2), 1-7. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.umed59-2.cand>
- Cristina Nocua-Báez, L. y Uribe-Jerez, P. y Tarazona-Guaranga, L. y Robles, R. y Cortés, J. A. y Alberto, J. y Luna, C. (2020). Azoles de antes y ahora: una revisión. *Revista Chilena Infectol*, 37(3). <http://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182020000300219>
- Delgado, O. P. y Zapata, Y. V. (2018). Vaginitis y vaginosis bacteriana en mujeres en edad fértil y gestantes en un centro de Salud de la provincia de Chiclayo. *Revista. Salud & Vida Sipanense*, 3(2). <http://orcid.org/0000-0002-5849-1047>
- Delmonte, M. y Fernández, P. y Robertiz, S. y González, E. y Arcaya, N. (2018). Frecuencia del género *Candida* en vagina de mujeres en edad reproductiva. *Facultad de Medicina*, 45(1), 44–51. ISSN 00755222
- Domingo, A. (2019). Alteraciones vulvovaginales (bartolinitis, leucorreas, traumatismos, vaginosis e infecciones de transmisión sexual). *Revista de Formación Continuada de La Sociedad Española de Medicina de La Adolescenci*, 7(1), 26–38. ISSN 2695-5687
- Dzul, K. (2018). Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en *Candida albicans*. *Revista Biomédica*, 27(3), 34–45. <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v27i3.541>
- Elena, M. y Espinosa, S. y Ángela, C. y Rodríguez, A. (2021). Importancia de la fase preanalítica para el laboratorio clínico. *Acta Médica*, 15(1), 26–38. ISSN 1726 6696
- Enrique Pérez-Bastán, J. (2018). Clinical and epidemiological characterization of vaginal discharge syndrome in women of reproductive age. *Revista Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta*, 44(6), 6. ISSN 1029-3027
- Espinoza, D. y Villarroel, O. y Maniscalchi, M. (2016). *Candida spp.* aisladas en pacientes con vulvovaginitis de comunidades rurales del municipio Caripe, estado Monagas, Venezuela. *Revista Multidisciplinaria Del Consejo de Investigación de La Universidad de Oriente*, 28(4), 720–725. ISSN 1029-3027
- Espitia, F. D. L. H. (2021). Síndrome de flujo vaginal (vaginitis / vaginosis): Actualización diagnóstica y terapéutica. *Revista Peruana de Investigación Materno Perinatal*, 10(2), 42–55. <https://doi.org/10.33421/inmp.2021224>
- Estrada, G. I. y Ramírez, M. C. (2019). *Micología General*. EdiUCM. (1era Ed.). ISBN 978-958-52337-1-3


- Francisco, F. y Uribe, M. y Contreras, F. C. y Cesar, J. y Guerrero, O. y de Bibliotecólogos, A. y Perú, D. (2020). *Estadística descriptiva y probabilidad para las ciencias de la información con el uso del spss*. (1era Ed.). ISBN: 978-612-48342-0-2
- Gallardo, C. y Puig, L. (2018). Vulvovaginitis Tratamiento. 2(17), 1–5. *Revista Elsevier*, 17(2). <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-pdf-13044472>
- Gallegos- García, V. (2018). Vulvovaginitis por *Candida* en Diabéticas y embarazadas. *Revista Tlatemoani*, 34(5), 45–53. ISSN 1989-9300
- González, N. y Santisteban, A. y Ortiz, Y. y Pérez, D. y González, M. (2019). Factores de riesgo asociados a infección vaginal en mujeres embarazadas. *Revista Médica. Granma*, 3(1), 23–37. ISSN 1028-4818
- Herrera-Cuenca, M. (2017). Women of childbearing age: Key life period for the optimal development of future generations. *An Venez Nutr*, 30(2), 112–119. <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/10/1023558/art-5.pdf>
- Herrerías, L. y Cárdenas, V. (2022). Perfil de resistencia antifúngica en el tratamiento de candidiasis vaginal: Un diagnóstico de agentes etiológicos. *Revista Habanera de Ciencias Médica*, 21, 2. ISSN 1729-519X
- Himedia. (2018). Inseto Mueller Hinton Agar M173. <https://himedialabs.com/TD/M173.pdf>
- Himedia. (2018). Inseto Sabouraud Dextrose Agar M063. <https://himedialabs.com/TD/M063.pdf>
- Himedia. (2020). Inseto HiCrome™ Candida Differential Agar M1297A. <https://himedialabs.com/TD/M1297A.pdf>
- Iza, G. (2018). Identificación de *Candida albicans* y *Candida glabrata* [Tesis de maestría, Universidad Técnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/26898/2/PROYECTO%20IZA%20C%20HULUISA%20GABRIELA.pdf>
- Jameson, J. L. y Fauci, A. y Kasper, D. y Hauser, S. y Longo, D. y Loscalzo, J. (2016). *Harrison Principios de Medicina Interna*. EdiMcGraw-Hill. (20th Ed.). ISBN 978-607-15-1337-3
- Jaqueti -Aroca, J. y Ramiro- Martínez, P. y Molina - Esteban, L. y Fernández- González, A. y García-Arata, I. y Prieto- Menchero, S. (2020). Epidemiología y etiología de la candidiasis vaginal en mujeres españolas e inmigrantes en Fuenlabrada (Madrid). *Revista Española de Quimioterapia*, 33(3), 187–192. <https://doi.org/10.37201/req/099.2019>

- Kalia, N. y Singh, J. y Kaur, M. (2020). Microbiota in vaginal health and pathogenesis of recurrent vulvovaginal infections: A critical review. In *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 19(1), 8–12. <https://doi.org/10.1186/s12941-020-0347-4>
- Kneip-Fleury, M. (2019). *Manual de toma de muestras en Laboratorio Clínico*. EdiPNCQ. (3era Ed.). ISBN 17034 2017
- Lazo, V. y Hernández, G. y Méndez, R. (2018). Candidiasis sistémica en pacientes críticos, factores predictores de riesgo. *Horizonte Médico (Lima)*, 18(1), 75–85. <https://doi.org/10.24265/horizmed.2018.v18n1.11>
- Durán, A. I. y Quimis Nicole-Yuleidy, A. I. y Gabriela Menéndez-Gonzalez III, M. (2022). Infecciones Vaginales y Factores de Riesgo en Mujeres en Edad Reproductiva: ¿Cuánto Afecta, 8(2), 289–309? <https://doi.org/10.23857/dc.v8i1.2645>
- León Hoyos, F. A. y Ramos Dueñas, D. E. y Motta Rodríguez, J. W. (2018). Evaluación de los efectos de croton lechleri en la candidiasis vulvovaginal. *Revista Peruana de Investigación En Salud*, 2(1), 18–27. <https://doi.org/10.35839/repis.2.1.209>
- López, M. y Palma, S. y García, D. (2020). Infecciones cervicovaginales en pacientes sintomáticas atendidas en la Consulta externa de Ginecología. *Acta Médica Del Centro*, 14(1), 1–7. ISSN 2709-7927
- Melnick, J. L. y Jawetz, Ernest. y Adelberg, E. A. y Carroll, K. C. (2016). *Microbiología Médica*. McGraw-Hill. (27° Ed.). ISBN 9786071513700
- Merchán, K. y Leó, A. y Valero, N. y Quiroz, V. (2020). Vaginosis bacteriana en mujeres ecuatorianas en edad reproductiva: epidemiología y efectividad de los criterios diagnósticos. *Ciencias de La Salud*, 6(1), 236–265. ISSN 2477-8818
- Morales, N. y Cvlac, R. y Cardona-Castro Cvlac, N. (2018). Métodos de diagnóstico en micología Diagnostic methods in mycology. *Revista Ces Medicina*, 1, 41–52. <https://doi.org/10.21615/cesmedicina.32.1.5>
- Morales-Parra, G. y Castro-Amaris, G. y Mendoza, Y. y Rubiano-Orozco, L. y Pacheco-Villa, J. (2017). Una mirada rápida al control de calidad interno en el quehacer diario del laboratorio de microbiología. *Revista Medicina y Laboratorio*, 23(9), 459–474. <https://doi.org/10.36384/issn.0123-2576>
- Murray, P. y Rosenthal, K. y Pfaller, M. (2014). *Microbiología Médica*. McGraw-Hill. (7a Ed.). ISBN 978-84-9022-420-5
- Ochionero, M. y Paniccia, L. y Pedersen, D. y Gallo Vaulet, L. y Entrocassi, C. y Rodríguez Fermepin, M. y Lucero, L. y Blanca, B. (2018). Vaginal dysfunction prevalence in women of the city of Bahía Blanca (Argentina) A prevalência de disfunção vaginal em

- mulheres da cidade de Bahía Blanca (Argentina). *Acta Bioquím Clín Latinoam*, 52(4), 429–468. ISSN 1851-6114
- OMS. (2014). *Diagnóstico y Tratamiento de la infección vaginal en obstetricia*. Dirección General de la Normalización. ISBN: 978-9942-07-636-6
- Orellana Quito, J. M. y Pacheco Cárdenas, K. E. (2021). Identificación y susceptibilidad de *Candida* spp. en el área ginecológica. *Revista Vive*, 4(11), 335–344. <https://doi.org/10.33996/revistavive.v4i11.97>
- Parrales, I. y Franco, C. y Lino, W. y Chavez, M. (2018). Especies de *Cándida* como agentes causales de micosis vaginal en mujeres sexualmente activas. *Revista Científica Mundo de La Investigación y El Conocimiento*, 2(1), 283–301. <https://doi.org/10.26820/recimundo/2.1.2018.283-301>
- Pedraza, S. (2018). *Manual Microdiagnostica*. Lablisan. (3era Ed.). ISBN: 562-2239462
- Pemán, J. y Martín-Mazuelos, E. y Rubio Calvo, Ma. C. (2010). Identificación y diagnóstico en micología clínica guía práctica. Diagnóstico microscópico de las micosis. *Revista Iberoamericana de Micología*. ISSN 1130-1406
- Pineda-Murillo, J. y Cortés-Figuroa, A. A. y Uribarren-Berrueta, T. y Castañón, O. L. R. (2017). Candidosis vaginal. Revisión de la literatura y situación de México y otros países latinoamericanos. *Rev. Méd. Risaralda*, 23(1), 38–44. ISSN 0122-0667
- Procop, G. y Church, D. y Hall, G. y Janda, W. y Koneman, E. (2017). *Diagnóstico microbiológico Texto y Atlas en color*. Editorial Panamericana. (7a Ed.Vol.1). ISBN: 9788416781669
- Quiles-Melero, I. y García-Rodríguez, J. (2021). Systemic antifungal drugs. *Revista Iberoamericana de Micología*, 38(2), 42–46. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2021.04.004>
- Quindós, G. (2018). Epidemiology of invasive mycoses: A landscape in continuous change. In *Revista Iberoamericana de Micología*, 35(4), 171–178. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2018.07.002>
- Rodríguez, C. y Zhurbenko, R. (2018). *Manual de medios de cultivo 2018*. EdiBioCen. (4ta Ed.). <https://www.biocen.cu/wp-content/uploads/2021/05/Manual-MC-2018.pdf>
- Rogelio, M. C. y Treviño-Rangel, J. y de Revisión, A. y De, R. y Gerardo González-González, J. y Garza-González, E. y González, G. M. (2012). *Candida parapsilosis*, una amenaza desafiante. *Revista Medicina Universitaria*, 14(56), 157-165. ISSN 1665-5796
- Ruiz-Boy, S. y Bastida, C. y Brunet, M. y Soy, D. (2021). Evaluación de las concentraciones plasmáticas de voriconazol en práctica clínica. *Revista Ars Pharmaceutica*, 62(3), 305–314. <https://doi.org/10.30827/ars.v62i3.20756>

- Ryan, K. y Ray, G. (2012). *Sherris Microbiología Médica*. McGRAW-HILL. (5a Ed.Vol.1). ISBN: 978-0-07-160402-4
- Sánchez, E. (2018). Manejo de vulvovaginitis en la atención primaria. *Revista Médica Sinergia*, 8(4), 34–45. <https://doi.org/10.31434/rms.v3i8.305>
- Sánchez Gaitán, E. (2018). Management of vulvovaginitis in primary care. *Revista Médica Sinergia*, 3(8), 13–20. <https://doi.org/10.31434/rms.v3i8.305>
- Sánchez-Romero, M. I. y García-Lechuz Moya, J. M. y González López, J. J. y Orta Mira, N. (2019). Collection, transport and general processing of clinical specimens in Microbiology laboratory. *Revista Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 37(2), 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2017.12.002>
- Sánchez Tapia, M. de los Á. y González Armijos, V. Y. (2021). Infecciones vaginales y complicaciones durante el embarazo en usuarias del Centro de Salud Universitario de Motupe – Loja. *Revista CEDAMAZ*, 11(2), 119–123. <https://doi.org/10.54753/cedamaz.v11i2.1180>
- Solís, M. y Moreno, M. y Dávalos, M. y Fernández, R. y Díaz, O. y Arenas, R. (2019). Vaginal colonization by *Candida* spp. Frequency and description of the species isolated in asymptomatic women. *Rev Ginecol Obstet Mex*, 8(2), 1–8. ISSN 1561-3062
- Torres-Rodríguez, J. M. y Morera, Y. y López, O. (2018). *Candida glabrata*: un patógeno emergente. *Revista Enfermedades Infecciosas y microbiología Clínica*, 40(7). ISSN 0213-005X
- Ugalde González, F. y Rivera Gutierrez, H. y Durán Méndez, M. J. (2021). Candidiasis vulvovaginal recurrente. *Revista Médica Sinergia*, 6(9), 700. <https://doi.org/10.31434/rms.v6i9.700>
- Zuluaga, A. y Arango-Bustamante, K. y Caceres, D. H. y Sánchez-Quitian, Z. A. y Velásquez, V. y Gómez, B. L. y Parra-Giraldo, C. M. y Maldonado, N. y Cano, L. E. y de Bedout, C. y Rivera, R. E. (2018). Análisis de concordancia entre diferentes metodologías utilizadas para la identificación de aislados de especies de *Candida*. *Revista Colombia Médica*, 49(3), 193–200. <https://doi.org/10.25100/cm.v49i3.3774>

11. Anexos

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO	OFICIO DE APROBACIÓN DE CAMBIO DE OBJETIVOS	CODIGO: OACO
		Versión: 1
		Nº páginas: 1/1

Anexo 1.- Oficio de aprobación de cambio de objetivos.



unl
Universidad Nacional de Loja

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Facultad de la Salud Humana

Of. Nro. 2022-0459-CLC-FSH-UNL
Loja, 20 de mayo de 2022.

Señorita
Nathaly Silvana Amay Guachizaca
ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA FACULTAD DE LA SALUD HUMANA-UNL.
Ciudad. –

De mi consideración:

Luego de la revisión de su pedido, en Sesión de Consejo Consultivo de Carrera, se sugiere aceptar la misma, por lo tanto el tiempo de ejecución cambia a mayo-julio 2022 y cambio del cuarto objetivo específico, queda: **"DETERMINAR LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIFÚNGICA DE FLUCONAZOL Y VORICONAZOL PARA LAS ESPECIES DE CANDIDA AISLADAS"**.

Particular que me permito comunicar para fines legales pertinentes.

Atentamente,




SANDRA ELIZABETH FREIRE CUESTA

Dra. Esp. Sandra Freire Cuesta,
DIRECTORA DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO-FSH. UNL.

Referencia: Correo electrónico: Archivo Sección de la Carrera: Elaborado por: María del C. Salazar L.

072-57 1876 Ext. 102
Calle Manuel Montano,
1001 el Hospital Industrial - Loja - Ecuador

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO	OFICIO DE PERMISO PARA LA TOMA DE MUESTRAS EN EL LABORATORIO DEL CENTRO DE SALUD N° 1 DE LOJA	CODIGO: OPPCDM
		Versión: 1
		N° páginas: 1/1

Anexo 2. – Oficio de permiso para la toma de muestras en el Laboratorio del Centro de Salud N° 1 de Loja.



UNL

Universidad Nacional de Loja

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Facultad de la Salud Humana

Of. Nro. 2022-0382-CLC-FSH-UNL
Loja, 03 de abril de 2022

Doctora
Paula Quizhpe,
DIRECTORA DE LA UNIDAD OPERATIVA CENTRO DE SALUD N° 1-LOJA.
Ciudad. –

De mi consideración:

Por medio del presente, me dirijo a usted con la finalidad de expresarle un cordial y respetuoso saludo, deseándole éxito en el desarrollo de sus delicadas funciones. Aprovecho la oportunidad para solicitarle de la manera más respetuosa, se digne conceder su autorización a la Srta. **NATHALY SILVANA AMAY GUACHIZACA**, con número de cédula 1104114911, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja, para que ejecute el proyecto de tesis titulado: **"TIPIFICACIÓN Y SUSCEPTIBILIDAD DE CANDIDA EN SECRECIONES VAGINALES DE MUJERES EN EDAD FÉRTIL DEL CENTRO DE SALUD N° 1 LOJA"**,

Por la atención que se digne dar al presente, le expreso mi agradecimiento personal e institucional.

Atentamente,




SANDRA
ELIZABETH
FREIRE CUESTA

Dra. Esp. Sandra Freire Cuesta,
DIRECTORA DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO-FSH. UNL.


Referencia: Correo electrónico
Anexo: Archivo Secretaría de la Carrera
Elaborado por: María del C. Salazar L.

Recibido.
Dra. Paula Quizhpe I.
MÉDICO GENERAL
CUI: 3167201
FINHMT: 11-08-00346-11
2022-05-04.

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO	OFICIO DE PERMISO PARA EL PROCESAMIENTO DE MUESTRAS EN EL CENTRO DE DIAGNÓSTICO MÉDICO DE LA FACULTAD DE LA SALUD HUMANA	CODIGO: OPPCDM
		Versión: 1
		Nº páginas: 1/1

Anexo 3.- Oficio de permiso el procesamiento de muestras en el Centro de Diagnóstico Médico de la Facultad de la Salud Humana.

		Universidad Nacional de Loja	Facultad de la Salud Humana
Of. Nro. 2022-0306-DFSH-UNL Loja, 03 de mayo de 2022			
Señorita Nathaly Silvana Amay Guachizaca ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO Presente.-			
De mi especial consideración:			
<p>En atención a su pedido para uso de las instalaciones y equipos del Laboratorio de Microbiología y Parasitología, en mi calidad de Autoridad Académica de esta Facultad, en el marco del proyecto de tesis denominado: "TIPIFICACIÓN Y SUSCEPTIBILIDAD DE CANDIDA EN SECRECIONES VAGINALES DE MUJERES EN EDAD FÉRTIL DEL CENTRO DE SALUD No. 1 LOJA", autorizo el uso del referido laboratorio para el procesamiento de muestras y análisis conforme corresponda.</p>			
<p>De la misma manera, autorizo a la Lic. Silvia Molina, Técnica Docente responsable del Laboratorio de Microbiología y Parasitología, brinde el apoyo requerido por la Srta. Amay Guachizaca.</p>			
<p>Aprovecho la oportunidad para reiterar mi sentimiento de consideración y estima.</p>			
<p>Atentamente,</p> <p>EN LOS TESOROS DE LA SABIDURIA, ESTA LA GLORIFICACION DE LA VIDA.</p>			
 <p>SANTOS ANABLE BERMEO FLORES</p>			
<p>Dr. Anable Bermeo Flores, Mg. Sc. DECANO FACULTAD DE LA SALUD HUMANA UNL.</p>			
<p>Cc: Carrera Laboratorio Clínico, Archivo.</p>			
<p>ABF/ Yadira Córdoba, ANALISTA DE DESPACHO DE AUTORIDAD ACADÉMICA.</p>			
<p style="text-align: right;">Calle Manuel Montemayor tras el Hospital Isidro Ayora - Loja - Ecuador 072 - 67 3379 Ext. 30</p>			

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	CONSENTIMIENTO INFORMADO Y ENCUESTA	CODIGO: CCEE
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 1/4

Anexo 4.- Consentimiento informado y encuesta



**TIPIFICACIÓN Y SUSCEPTIBILIDAD DE CANDIDA EN
 SECRECIONES VAGINALES DE MUJERES EN EDAD FÉRTIL DEL
 CENTRO DE SALUD N 01 LOJA**

Investigador: Nathaly Silvana Amay Guachizaca

Nº de Telefono:0998800264

Número de cédula.....


Fecha:

APELLIDO PATERNO	APELLIDO MATERNO	NOMBRES	EDAD

En el marco de los trabajos de integración curricular de la Facultad de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja, se busca como fin último resolver una problemática de salud, en este caso el proyecto de tesis a realizar es “**TIPIFICACIÓN Y SUSCEPTIBILIDAD DE CANDIDA EN SECRECIONES VAGINALES DE MUJERES EN EDAD FÉRTIL DEL CENTRO DE SALUD N 01 LOJA**”, el cual está bajo la coordinación de la Dra. Sandra Freire, Gestora de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Facultad de la Salud Humana.

Para la recolección del mismo de muestras de secreción vaginal de las pacientes en edad fértil del Centro de Salud N 1 de Loja, que cumplan con los criterios de inclusión. El participante del proyecto perteneciente a la carrera de laboratorio clínico tomará y procesará la muestra para su posterior análisis. El análisis de las muestras se llevará a cabo en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Salud Humana.

Considerando que la muestra de secreción vaginal será recolectada mediante el uso de un

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico</p>	<p>CONSENTIMIENTO INFORMADO Y ENCUESTA</p>	<p>CODIGO: CCEE</p>
		<p>Versión: 1</p>
<p>ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO</p>		<p>Nº páginas: 2/4</p>

hisopo, con ayuda de un espéculo y que la paciente este en posición ginecológica, la paciente podría sentir un ligero dolor cuando se introduzca el hisopo y pueda sentir una sensación de incomodidad en el sitio después de que se recolecta la muestra de secreción vaginal, siendo este procedimiento de muy bajo riesgo para el paciente.


Toda la información recolectada se recopilará y procesará con estricta confidencialidad para asegurar la privacidad de la paciente.

DECLARACIÓN 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 del investigador, 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 vaginal 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

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	CONSENTIMIENTO INFORMADO Y ENCUESTA	CODIGO: CCEE
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 3/4

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

.....

.....

Firma y número de cédula del paciente

Firma y número 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.

.....


Firma y número de cédula 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.

.....

Firma y número de cédula del paciente

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	CONSENTIMIENTO INFORMADO Y ENCUESTA	CODIGO: CCEE
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 4/4



Universidad Nacional de Loja
Facultad de Salud Humana
Carrera de Laboratorio Clínico

Muy respetuosamente me dirijo a usted con la finalidad de pedir su colaboración para llenar la presente encuesta, la misma que me permitirá obtener datos sobre mi investigación.

Estimada paciente, le solicito comedidamente dar respuesta a las siguientes preguntas:

1. Edad:

2. ¿Está tomando algún antifúngico?

Si () No ()

En caso de ser sí. ¿Qué medicamento está tomando?.....

3. ¿Ha presentado infecciones vaginales frecuentes?

Si () No ()

Con que frecuencia al año usted presenta molestias o síntomas?.....

4. ¿Se realizó una ducha vaginal antes de realizarse el examen?


Si () No ()

OBSERVACIONES:

.....


GRACIAS POR SU COLABORACIÓN

ELABORADO POR:	Nathaly Silvana Amay Guachizaca	Fecha: 20/12/2021
Aprobado por:	Dra. Elsa Cumanda Ramírez Sanmartín.	Fecha: 19/01/2022

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico</p>	<p>CONDICIONES PRE-ANALÍTICAS PARA LA TOMA DE MUESTRA DE SECRECIÓN VAGINAL</p>	<p>CODIGO: CPAM</p>
		<p>Versión: 1</p>
<p>ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO</p>		<p>Nº páginas: 1/2</p>

Anexo 5.- Condiciones pre-analíticas para la toma de muestra de secreción vaginal

1. **Objetivo:** Indicar las condiciones pre-analíticas necesarias que la paciente debe cumplir previo a la obtención de la muestra de secreción vaginal, para así evaluar posteriormente la presencia de estructuras micóticas y realizar el respectivo cultivo en caso de que el examen directo con KHO sea positivo.
2. **Alcance:** Las presentes indicaciones aportan con información práctica y aplicable para instruir correctamente a la paciente acerca de las directrices que deben seguir antes de presentarse a la toma de muestra de secreción vaginal.
3. **Definiciones:** Los resultados que se obtendrán en la presente investigación deberán ser fiables, reproducibles y deben satisfacer las necesidades por los cuales se solicitaron. Por lo tanto, el cumplimiento de las condiciones preanalíticas por parte de las pacientes antes de la realización de examen viene a ser indispensable para la obtención de una buena muestra y sus resultados (Elena et al., 2021).
4. **Responsable**
Encargado del área de toma de muestras.
5. **Información al paciente:** Se debe explicar a la paciente de forma clara y sencilla todas las indicaciones que deben seguir antes de asistir a la toma de muestra de secreción vaginal.
6. **Proceso**
Según Kneip-Fleury en el año 2019, menciona que las pacientes antes de presentarse a la toma de muestra de secreción vaginal deben realizarse su aseo diario y cumplir con los siguientes requisitos:
 - Para la toma de muestra en adultos desde las 72 horas previas a la realización del estudio, no tomar antibióticos.
 - No realizarse duchas vaginales.
 - No aplicarse talcos, óvulos, cremas, ni ningún otro tratamiento intravaginal por 72 horas.


 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	CONDICIONES PRE-ANALÍTICAS PARA LA TOMA DE MUESTRA DE SECRECIÓN VAGINAL	CODIGO: CPAM
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 2/2

- Mantener abstinencia sexual durante tres días.
- No estar menstruando, es necesario que haya pasado cinco días después de su último periodo (Kneip-Fleury, 2019).5

Bibliografía

- Elena, M. y Espinosa, S. y Ángela, C. y Rodríguez, A. (2021). Importancia de la fase preanalítica para el laboratorio clínico Importance of the Preanalytical Phase for the Clinical Laboratory. In *Acta Médica* (Vol. 22, Issue 1).
- Kneip-Fleury, M. (2019). Manual de toma de muestras en Laboratorio Clínico (Tercera edición). Programa Nacional de Controle de Qualidade. <https://pncq.org.br/wp-content/uploads/2020/05/Manual-de-toma-2019-1.pdf>

ELABORADO POR:	Nathaly Silvana Amay Guachizaca	Fecha: 20/12/2021
Aprobado por:	Dra. Elsa Cumanda Ramírez Sanmartín.	Fecha: 19/01/2022


 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA LA TOMA DE MUESTRA DE SECRECIÓN VAGINAL	CODIGO: TMSV
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 1/3

Anexo 6.- Protocolo para la toma de muestra de secreción vaginal.

- 1. Objetivo:** Describir el procedimiento adecuado para la obtención correcta de una muestra de secreción vaginal significativa, para la posterior observación microscópica de posibles estructuras micóticas y siembra si fuera necesario.
- 2. Alcance:** El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para que investigador del proyecto pueda realizar una adecuada toma de muestra de secreción vaginal.
- 3. Definiciones:** La secreción vaginal es un fluido que contienen agua, electrolitos, células epiteliales, organismos microbianos, ácidos grasos y compuestos de carbohidratos. Su función es la de ayudar a mantener sanos los tejidos vaginales, proporcionar lubricación y brindar protección contra las infecciones y la irritación. Por lo tanto, una secreción normal suele ser clara, espesa o ligera y no tiene olor (Espitia, 2021).
- 4. Responsable:**
Encargado del área de toma de muestras.
- 5. Descripción del procedimiento:**

Recursos materiales

 - 1 par de guantes
 - 1 mascarilla
 - 1 gradilla
 - 1 espéculo
 - 1 tubo de ensayo
 - 1 suero fisiológico
 - Medio de transporte Stuart
 - 1 cofia
 - Camilla ginecológica
- 6. Indicaciones previas a la toma de la muestra de secreción vaginal**

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA LA TOMA DE MUESTRA DE SECRECIÓN VAGINAL	CODIGO: TMSV
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 2/3


La muestra no se deberá recolectar si la paciente está tomando antibióticos, se ha realizado duchas vaginales, aplicado talcos, óvulos, cremas, si tuvo relaciones sexuales tres días antes de realizarse el examen y si está menstruando (Kneip-Fleury, 2019).

7. Información al paciente: Se debe explicar a la paciente en términos claros y sencillos el procedimiento que se le va a realizar para la toma de muestra de secreción vaginal.

8. Proceso:

Según Kneip- Fleury en el año 2019 describió el procedimiento para la toma de muestra de secreción vaginal:


1. Pedir a la paciente que pase a la sala de toma de muestra y se descubra sus genitales, cubriéndose con una bata.
2. Solicitar a la paciente que se coloque en posición ginecológica.
3. Insertar el espéculo en la vagina sin utilizar lubricante, pero si se puede utilizar agua tibia si fuera necesario y eliminar el exceso de moco cervical con un algodón.
4. Luego, insertar el hisopo estéril, girándolo unos segundos en el fondo de saco vaginal. Retirar el primer hisopo de la vagina y colocarlo en el tubo de ensayo que contiene suero fisiológico.
5. Luego con el medio de transporte Stuart se recoge la segunda muestra la cual estará destinada para el cultivo.
6. Indicar a la paciente que puede proceder a incorporarse y a vestirse.
7. Identificar el tubo de ensayo que contiene la muestra con etiqueta del paciente, N° de muestra y fecha de recogida.

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA LA TOMA DE MUESTRA DE SECRECIÓN VAGINAL	CODIGO: TMSV
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 3/3

Bibliografía:


- Espitia, F. D. L. H. (2021). Síndrome de flujo vaginal (vaginitis / vaginosis): Actualización diagnóstica y terapéutica. *Revista Peruana de Investigación Materno Perinatal*, 10(2), 42–55. <https://doi.org/10.33421/inmp.2021224>
- Kneip-Fleury, M. (2019). *Manual de toma de muestras en Laboratorio Clínico* (Tercera edición). Programa Nacional de Controle de Qualidade. <https://pncq.org.br/wp-content/uploads/2020/05/Manual-de-toma-2019-1.pdf>

ELABORADO POR:	Nathaly Silvana Amay Guachizaca	Fecha: 20/12/2021
Aprobado por:	Dra. Elsa Cumanda Ramírez Sanmartín.	Fecha: 19/01/2022

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA LA CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE DE MUESTRAS DE SECRECIÓN VAGINAL	CODIGO: CTMSV
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 1/3

Anexo 7.- Protocolo para la conservación y transporte de las muestras de secreción vaginal

- 1. Objetivo:** Describir el procedimiento correcto para la conservación y transporte de muestras de secreción vaginal, para evitar así errores en el análisis de las mismas.
- 2. Alcance:** El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para instruir al investigador del proyector, sobre la correcta conservación y transporte de muestras de secreción vaginal.
- 3. Definiciones:** Las consecuencias de una muestra mal tomada, mal conservada o mal transportada, pueden suponer un fracaso en el aislamiento del agente etiológico o el aislamiento de posibles microorganismos contaminantes que pueden generar tratamientos innecesarios o inadecuados. Puesto que una gran parte de las determinaciones en microbiología se basan en la capacidad de crecimiento de los microorganismos. Siendo así el medio de transporte Stuart un medio excelente para el transporte ya que es un gel no nutriente de agar blando que contiene un agente reductor para evitar la oxidación y carbón vegetal para neutralizar, permitiendo de esta manera la supervivencia de los microorganismos (Sánchez-Romero et al., 2019).
- 4. Responsable:**
Investigador del proyecto.
- 5. Descripción del procedimiento**
Recursos materiales:
 - Marcadores
 - Medio de transporte Stuart Amies
 - Cooler
 - Gradillas
 - Tubos de ensayo con tapa
- 6. Proceso**

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE DE MUESTRAS DE SECRECIÓN VAGINAL	CODIGO: CTMSV
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 2/3

Según Pedraza en el año 2018 menciona las siguientes normas para el transporte de muestras:

1. Obtención de la muestra

- La misma se deberá realizar en condiciones de máxima asepsia y recoger la cantidad adecuada de muestra, ya que, una escasa cantidad puede dar falsos negativos.
- El material destinado a cultivo no debe estar en contacto con sustancias desinfectantes o anestésicas, siempre que sea posible.


2. Identificación de la muestra

- Debe tener la identificación del paciente (nombres completos, fecha de nacimiento, sexo, diagnóstico permanente, teléfono), datos de la muestra (hora de recogida, tipo de muestra, diagnóstico, localización anatómica, procedimiento de obtención de la muestra) y determinaciones solicitadas.

3. Tiempo de envío y conservación de muestras

- Para hongos se debe tener un tubo de ensayo estéril con boca ancha y su respectiva tapa para evitar derrames de la misma.
- Las muestras sin medio de transporte se deben enviar antes de 15 min a temperatura ambiente en un cooler.
- Las muestras con medio de transporte se podrán mantener a temperatura ambiente o en estufa a 35-37°C preferiblemente hasta el momento de la siembra, la cual deberá realizarse antes de 3-6 horas (Pedraza, 2018).

Una vez mencionadas estas reglas generales los pasos que se siguieron para el transporte de las muestras de secreción vaginal desde el Laboratorio del Centro de Salud N° 1 Loja hasta el Laboratorio Clínico del Centro de Diagnóstico Médico del Área de la Salud Humana de Universidad Nacional de Loja fueron:

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE DE MUESTRAS DE SECRECIÓN VAGINAL	CODIGO: CTMSV
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 3/3

1. Una vez que se tomaron las muestras de secreción vaginal según el protocolo del Anexo N° 6 se colocó la respectiva tapa o tapón hecho de gasa a los tubos de ensayo que contenían las muestras con suero fisiológico.
2. Después se colocaron los tubos de ensayo y los medios de transporte Stuart-Amies en una gradilla para facilitar su transporte.
3. Finalmente, se colocó la gradilla que contenía los tubos y los medios de transporte Stuart en un cooler y se los transportó inmediatamente después de haber culminado con la toma de muestras para su respectivo análisis en el Laboratorio Clínico del Centro de Diagnóstico Médico del Área de la Salud Humana de Universidad Nacional de Loja.

Nota: cada una de las muestras estaban respectivamente etiquetadas según las normas mencionada anteriormente para así evitar confusiones de las mismas (Pedraza, 2018).

Bibliografía:


Pedraza, S. (2018). *Manual Microdiagnóstica Tercera parte.*

https://www.academia.edu/32707934/MANUAL_MICRODIAGNOSTICA_TERCERA_PARTE

Sánchez-Romero, M. I. y García-Lechuz Moya, J. M. y González López, J. J. y Orta Mira, N.


(2019). Collection, transport and general processing of clinical specimens in Microbiology laboratory. In *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* (Vol. 37, Issue 2, pp. 127–134). Elsevier Doyma. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2017.12.002>

ELABORADO POR:	Nathaly Silvana Amay Guachizaca	Fecha: 20/12/2021
Aprobado por:	Dra. Elsa Cumanda Ramírez Sanmartín.	Fecha: 19/01/2022

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DEL MEDIO SABOURAUD DEXTROSE AGAR	CODIGO: PMAS
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 1/3

Anexo 8.- Protocolo para la preparación del medio Sabouraud Dextrose Agar®

1. **Objetivo:** Describir el procedimiento correcto para la preparación del medio Sabouraud Dextrose Agar®, para así posteriormente realizar el cultivo de las muestras que dieron positivo al examen directo con KOH.
2. **Alcance:** El presente procedimiento provee la información práctica y aplicable para instruir correctamente al investigador del proyecto acerca de la preparación del medio Sabouraud Dextrose Agar®.
3. **Definiciones:** El medio Sabouraud Dextrose Agar® es un medio no selectivo que permite el crecimiento de hongos (levaduras, mohos), asociados con infecciones de la piel, pero también se lo suele emplear para determinar la contaminación microbiana en alimentos, cosméticos y especímenes químicos. Este medio contiene peptonas que aportan compuestos nitrogenados, dextrosa que proporciona una fuente de energía y un pH bajo, convirtiéndolo de esta manera un medio favorable para el crecimiento de hongos e inhibición las bacterias (Himedia, 2018).
4. **Responsable:**
Investigador del proyecto
5. **Descripción del procedimiento:**
 - Recursos materiales**
 - Sabouraud Glucosado Agar® BRITANIA (LOT 0000500951)
 - Matraz de Erlenmeyer de 1000 ml
 - Agua destilada
 - Caja de fósforos
 - Gasa
 - Algodón
 - Mechero
 - Cajas Mono Petri

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DEL MEDIO SABOURAUD DEXTROSE AGAR	CODIGO: PMAS
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 2/3

Equipos

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


6. Proceso:

Según Britania en el año 2018 menciona el siguiente procedimiento para la preparación del medio Sabouraud Dextrose Agar®:

1. Desinfectar bien el área de trabajo y preparar todos los materiales a utilizar.
2. Suspender 65,0 gramos en 1000 ml de agua purificada/destilada. En caso de querer preparar cantidades más pequeñas sacar la cantidad por cálculo.
3. Después calentar a ebullición, agitándolo constantemente para disolver el medio por completo, sin olvidarse de colocar unos tapones hechos de gasa y algodón en la boca del matraz para evitar el derrame del mismo.
4. Luego esterilizar por esterilización en autoclave a 15 lbs de presión (121°C) durante 15 minutos.
5. Dejar enfriar a 45-50°C.
6. Finalmente mezclar bien y verter en las placas Petri estériles a la altura de 8 mm.
7. El medio ya preparado debe almacenarse a 2-8°C y debe estar bien sellado en fundas estériles para evitar la contaminación.

Nota:

- Evitar el sobrecalentamiento ya que se pierden los nutrientes del medio.
- Mantener en un lugar fresco pues la exposición al calor aumenta la hidrólisis de los componentes.
- Para muestras muy contaminadas, la placa debe complementarse con agentes inhibidores para inhibir el crecimiento bacteriano. Con pH más bajo.
- Al medio de cultivo deshidratado mantenerlo a 10-35° C.


 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DEL MEDIO SABOURAUD DEXTROSE AGAR	CODIGO: PMAS
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 3/3

- Se recomienda dejar una caja de cada lote de agares preparados en la incubadora para control de calidad.

Bibliografía:

Himedia. (2018). *Sabouraud Dextrose Agar M063*. Obtenido de: www.himedialabs.com

ELABORADO POR:	Nathaly Silvana Amay Guachizaca	Fecha: 20/12/2021
Aprobado por:	Dra. Elsa Cumanda Ramírez Sanmartín	Fecha: 19/01/2022


 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DEL MEDIO CHROMAGAR-CANDIDA	CODIGO: PMCA
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		N° páginas:1/3

Anexo 9.- Protocolo para la preparación del medio de CHROMagar Candida®

1. **Objetivo:** Describir el procedimiento correcto de la preparación del medio CHROMagar Candida®, para poder identificar las diferentes especies de *Candida* de las muestras de secreción vaginal sembradas anteriormente en Agar Sabouraud.
2. **Alcance:** El presente procedimiento provee la información práctica y aplicable para instruir al investigador del proyecto sobre la correcta preparación del medio de CHROMagar Candida®.
3. **Definiciones:** CHROMagar Candida® es un medio selectivo y de diferenciación para el aislamiento de hongos, que está compuesto por sustratos cromógenos que liberan compuestos de colores diferentes al ser degradados por enzimas específicas, haciendo posible así la diferenciación de las especies de *Candida* según el color de sus colonias: *C. albicans* (color verde), *C. tropicalis* (color azul verdoso), *C. krusei* (color rosado claro y borde blanco) y *C. glabrata* (color morado claro). Este medio además contiene extracto especial de peptona y levadura que proporciona compuestos nitrogenados y carbonosos y otros nutrientes esenciales. El fosfato amortigua bien el medio. El cloranfenicol inhibe la mayoría de los contaminantes bacterianos (Himedia, 2020).
4. **Responsables**
Investigador del proyecto.
5. **Descripción del procedimiento:**

Recursos materiales:

- CHROMagar Candida® HIMEDIA (LOT 2032975)
- Matraz de Erlenmeyer de 1000 ml
- Varilla de vidrio
- Agua destilada
- Caja de fosforo
- Gasa
- Algodón

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DEL MEDIO CHROMAGAR-CANDIDA	CODIGO: PMCA
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		N° páginas: 2/3

Equipos

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


6. Proceso:

Según Himedia en el año 2020 menciona el siguiente procedimiento para la preparación del medio CHROMagar Candida®

1. Desinfectar bien el área de trabajo y preparar todos los materiales a utilizar.
2. Suspender 42.72 gramos en 1000 ml de agua purificada/destilada. En caso de querer preparar cantidades más pequeñas sacar la cantidad por cálculo.
3. Después calentar a ebullición, agitándolo constantemente para disolver el medio por completo, sin olvidarse de colocar unos tapones hechos de gasa y algodón en la boca del matraz para evitar el derrame del mismo. No sobrepasar los 100 °C
4. No autoclavar
5. Enfriar a 45-50°C
6. Dispensar en las cajas Petri estériles a la altura de 4 mm.
7. El medio ya preparado se deberá almacenar en un lugar oscuro a una temperatura entre 2 y 8 °C, envueltas en su envase original, hasta justo antes de usarlas.

Nota:


- Evitar el sobrecalentamiento ya que se pierden los nutrientes del medio.
- Las placas pueden usarse durante una semana siempre que se almacenen en un lugar limpio a una temperatura entre 2 y 8 °C.
- No utilizar las placas si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro
- Dejar una caja de cada lote de agares preparados en la incubadora para control de calidad.

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DEL MEDIO CHROMAGAR-CANDIDA	CODIGO: PMCA
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		N° páginas:3/3

Bibliografía:

Himedia. (2020). *HiCrome™ Candida Differential Agar M1297A*. www.himedialabs.com

ELABORADO POR:	Nathaly Silvana Amay Guachizaca	Fecha: 20/12/2021
Aprobado por:	Dra. Elsa Cumanda Ramírez Sanmartín.	Fecha: 19/01/2022

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DEL MEDIO DE MULLER HINTON	CODIGO: PMMH
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 1/3

Anexo 10.- Preparación del medio Mueller Hinton Agar®

- 1. Objetivo:** Describir el procedimiento correcto de la preparación del medio Mueller Hinton Agar®, para así posteriormente realizar el respectivo antifungigrama de las especies de *Candida* aisladas.
- 2. Alcance:** El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para instruir al investigador del proyecto acerca de la correcta preparación del medio Mueller Hinton Agar®.
- 3. Definiciones:** Mueller Hinton Agar® es un medio no selectivo que permite el desarrollo microbiano y se utiliza en el procedimiento de difusión en disco para la determinación de la sensibilidad de cepas aisladas que en este caso serían de *Candida*. Sin embargo, también se lo utiliza en la actualidad como medio de prueba para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana impregnados en disco de papel a través de un gel de agar. Se recomienda su uso ya que presenta varias características como: demuestra una buena reproducibilidad de lote a lote para pruebas susceptibles, es bajo en inhibidores de sulfonamida, trimetoprima y tetraciclina y es compatible con el crecimiento de la mayoría de los patógenos bacterianos (Himedia, 2018).

Por otra parte, el CLSI para el estudio de sensibilidad a los antifúngicos recomienda la adición de glucosa y azul de metileno debido a que el primero proporcionan un mejor crecimiento de las levaduras y el segundo aumenta la definición de los halos de inhibición (Pemán et al., 2010).


4. Responsables:

Investigador del proyecto.

5. Descripción del procedimiento:

Recursos materiales:

- Mueller Hinton Agar® HIMEDIA (LOT 0000499187)
- Glucosa

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DEL MEDIO DE MULLER HINTON	CODIGO: PMMH
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas:2/3

- Azul de metileno
- Matraz de Erlenmeyer de 1000 ml
- Varilla de vidrio
- Agua destilada
- Caja de fosforo
- Algodón
- Gasa

Equipos

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


6. Proceso

Según Himedia en el año 2018 y el CLSI en el año 2010 mencionan el siguiente procedimiento para la preparación del Mueller Hinton Agar® junto con la adición de glucosa y azul me metileno al mismo:

Solución azul metileno (5 mg/ml)

- Azul metileno 0,1 g
- Agua destilada 20 ml

1. Esterilizar el área de trabajo y preparar todo el material a utilizar.
2. Suspender 38,0 gramos en 1000 ml de agua purificada o destilada. En caso de querer preparar cantidades más pequeñas sacar la cantidad por cálculo.
3. Añadir 20 g de glucosa por litro de medio. En caso de querer preparar cantidades más pequeñas sacar la cantidad por cálculo.
8. Añadir 100 µl de la solución de azul de metileno (5 mg/ml) por cada litro de medio. En caso de querer preparar cantidades más pequeñas sacar la cantidad por cálculo.
9. Después calentar a ebullición para disolver el medio por completo agitándolo constantemente, sin olvidarse de colocar unos tapones hechos de gasa y algodón en la

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DEL MEDIO DE MULLER HINTON	CODIGO: PMMH
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 3/3

10. boca del matraz para evitar el derrame del mismo.
11. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 lbs) de presión durante 15 minutos.
12. Enfriar a 45-50°C.
13. Mezclar bien y verter en las cajas Petri estériles a la altura de 4 mm.
14. Una vez preparadas las placas se pueden almacenar durante 7 días a menos que se tomen precauciones adicionales que eviten el secado de las placas.


Nota:

- Se recomienda dejar una caja de cada lote de agares preparados en la incubadora para control de calidad.

Bibliografía

- Himedia. (2018). *Mueller Hinton Agar M173*. <https://himedialabs.com/TD/M173.pdf>
- Pemán, J. y Martín-Mazuelos, E. y Rubio Calvo, Ma. C. (2010). *Identificación y diagnóstico en micología clínica guía práctica*. Revista Iberoamericana de Micología.
<http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo15.pdf>


ELABORADO POR:	Nathaly Silvana Amay Guachizaca	Fecha: 20/12/2021
Aprobado por:	Dra. Elsa Cumanda Ramírez Sanmartín	Fecha: 19/01/2022

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA EL EXAMEN DIRECTO CON KOH AL 10%	CODIGO: PMKHO
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas:1/2

Anexo 11.- Protocolo para el examen directo con KOH al 10%

- 1. Objetivo:** Describir el procedimiento correcto para la realización del examen directo con KOH 10%, para identificar la posible presencia de estructuras micóticas presentes en las muestras de secreción vaginal.
- 2. Alcance:** El presente procedimiento provee información práctica y aplicable al investigador del proyecto para la correcta realización del examen directo con KOH 10%.
- 3. Definiciones:** El KOH al 10% es una sustancia comúnmente utilizada dentro del Laboratorio Clínico para la detección rápida de una infección por hongos. La función que cumple es de disolver la queratina y de digerir ciertos componentes proteicos, pero asegurándose de no destruir los polisacáridos de las paredes celulares de los hongos. En ocasiones, también se suele añadir glicerol para prevenir la degradación de elementos fúngicos, la formación de cristales y la deshidratación de la preparación, facilitando de esta manera aún más la observación de las estructuras fúngicas (Morales et al., 2018).
- 4. Responsable:**
Investigador del proyecto
- 5. Descripción del procedimiento:**
 - Recursos materiales:**
 - Cubreobjetos
 - Portaobjetos
 - Rotulador
 - Equipos:**
 - Microscopio
 - Reactivos:**
 - KOH al 10%
- 6. Proceso**

Según Pemán, Martín y Rubio en el año 2010 menciona el siguiente procedimiento para el examen directo con KOH al 10 %:

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA EL EXAMEN DIRECTO CON KOH AL 10%	CODIGO: PMKHO
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 2/2

1. Rotular el portaobjetos con el número de muestra.
2. Depositar una gota de la muestra de secreción vaginal en el centro del portaobjetos.
3. Anadir una gota de KOH al 10% en la muestra y cubrir con cubreobjetos.
4. Dejar reposar por 10 minutos para permitir la clarificación de la muestra por el KOH.
5. Observar en el microscopio con el objetivo de 10x y 40x. Revisar todos los campos de la placa.

Resultado

- **Positivo:** presencia de estructuras micóticas (levaduras, hifas, pseudohifas, esporas de hongo).
- **Negativo:** ausencia de estructuras micóticas.

Control de Calidad

Colocar una gota del reactivo entre porta y cubre, observar con 40x, chequear ausencia de esporas de hongos y bacterias (Pemán et al., 2010)

Bibliografía

Morales, N. y Cvlac, R. y Cardona-Castro² Cvlac, N. (2018). Métodos de diagnóstico en micología


Diagnostic methods in mycology. *Revista Ces Medicina*, 1, 41–52.

<https://doi.org/10.21615/cesmedicina.32.1.5>

Pemán, J. y Martín-Mazuelos, E. y Rubio Calvo, Ma. C. (2010b). *Identificación y diagnóstico en micología clínica guía práctica*. Revista Iberoamericana de Micología.

<http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo14.pdf>

ELABORADO POR:	Nathaly Silvana Amay Guachizaca	Fecha: 20/12/2021
Aprobado por:	Dra. ElsaCumanda Ramírez Sanmartín.	Fecha: 19/01/2022

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA REALIZAR EL CONTROL DE CALIDAD CON CEPAS CONOCIDAS DE CANDIDA	CODIGO: PCCCCC
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 1/4

Anexo 12.- Protocolo para realizar el control de calidad con cepas conocidas de *Candida*


- 1. Objetivo:** Verificar que los resultados obtenidos de los medios Agar Sabouraud, CHROMagar-Candida y Mueller Hinton sean los descritos por el fabricante mediante la utilización de cepas ATCC antes de comenzar a realizar el trabajo de investigación.
- 2. Alcance:** El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para instruir al investigador del proyecto en la correcta verificación de los resultados obtenidos de los medios Agar Sabouraud, CHROMagar-Candida y Mueller Hinton sean los descritos por el fabricante mediante la utilización de cepas ATCC antes de comenzar a realizar el trabajo de investigación.
- 3. Definiciones:** Las cepas ATCC son microorganismos certificados y reconocidos que resultan fundamentales para el control de calidad de los medios de cultivo preparados y comprobar si estos cumplen con sus especificaciones y si la metodología empleada en su preparación es satisfactoria. Cada cepa posee tres fases de producción que son: reconstrucción, reserva y trabajo, por lo cual resulta indispensable que cada laboratorio elabore un protocolo a seguir para cada fase (Morales-Parra et al., 2017).
- 4. Responsable:**
Investigador del proyecto.
- 5. Descripción del procedimiento:**

Recursos materiales:

 - Medio Agar Sabouraud
 - Medio CHROMagar-Candida.
 - Medio Mueller Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno.
 - Asa de siembra.
 - Tubo de ensayo con solución salina estéril.

Equipos:

 - Incubadora

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA REALIZAR EL CONTROL DE CALIDAD CON CEPAS CONOCIDAS DE CANDIDA	CODIGO: PCCCCC
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 2/4

- Densitómetro
- Mechero o flujo laminar

6. Proceso:


Según el CLSI en el año 2010 menciona que en cada ensayo debe incluirse al menos una cepa control de calidad para poder detectar cualquier anomalía o desactivación del antifúngico. Por lo tanto, para la presente investigación se utilizó la cepa ATCC:

- *C. albicans* ATCC 90028 (colonias de color verde)
-

Reconstrucción de la cepa ATCC

En el presente ensayo se utilizó la cepa control *C. albicans* ATCC 90028 y para su reconstrucción se siguió el instructivo según el CE en el año 2021 menciona los siguientes pasos:


1. Dejar que la bolsa de KWIK-STIK sin abrir se adapte a la temperatura ambiente. Abrir la bolsa rasgando a la altura de la muesca y quitar la unidad de KWIK-STIK.
2. Retirar la porción de la etiqueta de tirar y rasgar y colocarla a la placa de cultivo principal o al registro de control de calidad. Es importante no desarmar el dispositivo durante la hidratación.
3. Después sobre el borde de la mesa de trabajo, agrietar la ampolla en la parte superior de KWIK-STIK (justo debajo del menisco del líquido de la ampolla) para liberar el líquido hidratante.
4. Mantenerlo vertical y golpearlo 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.

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA REALIZAR EL CONTROL DE CALIDAD CON CEPAS CONOCIDAS DE CANDIDA	CODIGO: PCCCCC
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 3/4

5. Apretar la parte inferior de la unidad para que el gránulo se disuelva en el líquido hasta lograr una suspensión homogénea.
6. De inmediato, saturar el hisopo abundantemente con el material hidratado y transferirlo al medio con agar correspondiente que en este caso fue el medio Agar Sabouraud Dextrose.
7. Inocular la placa de cultivo Agar Sabouraud Dextrose girando con suavidad el hisopo sobre un tercio de la placa.
8. Después con ayuda de un asa estéril, hacer estrías para facilitar el aislamiento de la colonia.
9. Descartar el KWIK-STIK de forma apropiada para desechos de riesgo biológico.
10. Finalmente, incubar la placa de cultivo de manera invertida a 35 °C y por un periodo de 24h a 72 h.

Una vez reconstruida la cepa *C. albicans* ATCC 90028 y sembrada en el medio primario medio Agar Sabouraud Dextrose, los pasos a seguir según el CLSI en el año 2010 son:

1. Verificar el crecimiento de colonias de levaduras del medio primario Agar Sabouraud Dextrose.
2. **Siembra en CHROMagar-Candida:** realizar la resiembra al medio CHROMagar-Candida e incubar a 35 °C por un periodo de 24 a 48h. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, verificar el color de las colonias, las cuales deberían ser de color verde verificando de esta manera que si se trata de la especie de *Candida albicans*.
3. **Antifungigrama por el método de difusión en disco:** preparar el inóculo, con ayuda de un asa de cultivo estéril coger 5 colonias ≥ 1 mm de la placa de Agar Sabouraud, resuspender en un tubo de solución salina estéril y con ayuda de un densitómetro ajustar a una densidad óptica 0,5 McFarland. Después sumergir una torunda de algodón en la suspensión del inóculo de 0.5 McFarland, retirar el exceso de líquido rozando la torunda por las

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA REALIZAR EL CONTROL DE CALIDAD CON CEPAS CONOCIDAS DE CANDIDA	CODIGO: PCCCCC
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 4/4

paredes del tubo, sembrar la placa uniformemente, dejarla secar 3-5 minutos y aplicar los discos de fluconazol de 25 µg y voriconazol de 1 µg. Incubar a 35 °C por 24 a 48 h.

Los diámetros de los halos de inhibición para la cepa ATCC utilizada se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 1.

Diámetro de los halos de inhibición para la cepa C. albicans ATCC 90028


Antifúngico	Carga del disco	<i>C. albicans</i> ATCC 90028
Fluconazol	25 µg	28 - 39
Voriconazol	1 µg	31 - 42

Nota: los datos fueron tomados de Pemán et al., 2010

Bibliografía

- CE. (2021). *Instrucciones de uso para KWIK-STIK™*. www.microbiologics.com
- Morales-Parra, G. y Castro-Amaris, G. y Mendoza, Y. y Rubiano-Orozco, L. y Pacheco-Villa, J. (2017). control-de-calidad-lab-microbiologia (1). *Revista Medicina y Laboratorio*, 9(23), 459–474. <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/05/883832/control-de-calidad-lab-microbiologia.pdf>
- Pemán, J. y Martín-Mazuelos, E. y Rubio Calvo, Ma. C. (2010). *Identificación y diagnóstico en micología clínica guía práctica*. Revista Iberoamericana de Micología. <http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo15.pdf>


ELABORADO POR:	Nathaly Silvana Amay Guachizaca	Fecha: 20/12/2021
Aprobado por:	Dra. Elsa Cumanda Ramírez Sanmartín.	Fecha: 19/01/2022

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROCEDIMIENTO PARA EL CULTIVO DE LAS MUESTRAS EN EL MEDIO AGAR SABOURAUD	CODIGO: PCMMAS
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas:1/3

Anexo 13.- Procedimiento para el cultivo de las muestras en el medio Sabouraud

Dextrose Agar®

- 1. Objetivo:** Describir el procedimiento correcto para el cultivo de las muestras de secreción vaginal que dieron KOH positivo en el medio Sabouraud Dextrose Agar®.
- 2. Alcance:** El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para el investigador del proyecto en la realización del cultivo de las muestras de secreción vaginal en el medio Sabouraud Dextrose Agar®.
- 3. Definiciones:** Los medios de cultivo son un conjunto de elementos o sustancias que garantizan a los microorganismos u otras células los nutrientes necesarios para su conservación y desarrollo, estos elementos pueden ser de origen orgánico o inorgánico, natural o artificial. Además de garantizar el crecimiento del organismo, también pueden inhibir el desarrollo de otros. Por lo tanto, las reglas fundamentales para efectuar la siembra son: que se efectúen asépticamente, que los medios de cultivo no estén contaminados, que el instrumental esté esterilizado, que se realicen solo los manipuleos indispensables y que se trabaje utilizando un mechero o bien flujo laminar. En este caso se sembró primero en medio Sabouraud Dextrose Agar® ya que es un medio no selectivo que permite el crecimiento de hongos (levaduras, mohos), que es lo que se va a estudiar o analizar en esta investigación (Rodríguez y Zhurbenko, 2018).
- 4. Responsable:**
Investigador del proyecto.
- 5. Descripción del procedimiento:**
 - Recursos materiales:**
 - Medio de cultivo Sabouraud Dextrose Agar®.
 - Asa de siembra
 - Mechero o flujo laminar
 - Medio de Transporte Stuart Amies que contiene la muestra de secreción vaginal.

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROCEDIMIENTO PARA EL CULTIVO DE LAS MUESTRAS EN EL MEDIO AGAR SABOURAUD	CODIGO: PCMMAS
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas:2/3

Equipos

Cabina de bioseguridad


6. Proceso

Según MAST en el año 2018 menciona el siguiente procedimiento para la siembra en el medio de cultivo Agar Sabouraud:

1. Encender el mechero y esterilizar el área de trabajo.
2. Dejar que se atemperen los medios de cultivo antes de realizar la siembra.
3. Etiquetar los medios con la respectiva información de cada paciente.
4. Abrir el medio de transporte Stuart que contiene el hisopo con la muestra de secreción vaginal cerca del mechero.
5. Realizar una descarga en la parte superior de la superficie del medio de cultivo. Las placas Petri deberán abrirse próximas al mechero, para evitar la contaminación con gérmenes del aire.
6. Con un asa esterilizar realizar estrías de la descarga de la muestra anteriormente realizada, con la finalidad de aislar colonias separadas de levaduras.
7. Incubar las cajas sembradas en una atmósfera húmeda a 25-35°C. Colocar las cajas de forma invertida.
8. El tiempo de incubación varía de 24 a 72 horas. Observar el crecimiento cada 24 horas.

Nota

Observar en suero fisiológico una colonia para verificar el crecimiento de levaduras (MAST, 2018).

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROCEDIMIENTO PARA EL CULTIVO DE LAS MUESTRAS EN EL MEDIO AGAR SABOURAUD	CODIGO: PCMMAS
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 3/3


Bibliografía:

MAST. (2018). *Sabouraud Dextrose Agar*.

<https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/13754/1/TESIS.%20CAROL%20CHILL%20OGALLO.%20LAB%20CLINICO.pdf>

Rodríguez, C. y Zhurbenko, R. (2018). *Manual de medios de cultivo 2018*. www.biocen.cu

ELABORADO POR:	Nathaly Silvana Amay Guachizaca	Fecha: 20/12/2021
Aprobado por:	Dra. Elsa Cumanda Ramírez Sanmartín.	Fecha: 19/01/2022


 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico</p>	<p>PROTOCOLO PARA EL CULTIVO DE COLONIAS AISLADAS DE CANDIDA EN EL MEDIO CHROMAGAR-CANDIDA</p>	<p>CODIGO: CCACMCC</p>
		<p>Versión: 1</p>
<p>ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO</p>		<p>Nº páginas:1/3</p>

Anexo 14.- Procedimiento para el cultivo de colonias aisladas de Candida en el medio CHROMagar Candida®

- 1. Objetivo:** Describir el procedimiento correcto para la siembra de las colonias de *Candida* crecidas en el medio Agar Sabouraud Dextrose al medio CHROMagar-Candida, con el fin de identificar la especie de *Candida* presente en la muestra.
- 2. Alcance:** El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para instruir al investigador del proyecto en la correcta realización de la siembra de las colonias de *Candida* crecidas en el medio Agar Sabouraud Dextrose al medio CHROMagar-Candida con el fin de identificar la especie de *Candida* presente en la muestra.
- 3. Definiciones:** Se utiliza este medio ya que contiene sustratos cromogénicos que permiten el aislamiento y la identificación directa de *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei* por medio del color de sus colonias y a partir de todos los tipos de muestras clínicas, pero en este caso se está trabajando con muestras de secreción vaginal. Sin embargo, al momento de efectuar la siembra hay que tomar en cuenta que se efectúe asépticamente, que los medios de cultivo no estén contaminados, que el instrumental esté esterilizado, que se realicen solo los manipuleos indispensables y que se trabaje utilizando un mechero o bien flujo laminar (Dickinson, 2014).
- 4. Responsable:**
Investigador del proyecto.
- 5. Proceso:**

Recursos materiales:

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

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico</p>	<p>PROTOCOLO PARA EL CULTIVO DE COLONIAS AISLADAS DE <i>CANDIDA</i> EN EL MEDIO DE CHROMAGAR-CANDIDA</p>	<p>CODIGO: CCACMCC</p>
		<p>Versión: 1</p>
<p>ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO</p>		<p>Nº páginas:2/3</p>

Equipos

- Cabina de bioseguridad
- Incubadora.

7. Proceso


Según Dickinson en el año 2014 menciona el siguiente procedimiento para la siembra de las colonias de *Candida* crecidas en el medio Agar Sabouraud Dextrose al medio CHROMagar-Candida:

1. Encender el mechero y esterilizar en el área de trabajo.
2. Dejar que se atemperen los medios de cultivo antes de realizar la siembra.
3. Etiquetar los medios con la respectiva información de cada paciente.
4. Las placas Petri deberán abrirse próximas al mechero Bunsen, para evitar la contaminación con gérmenes del aire.
5. Con un asa estéril coger unas 2 o 3 colonias puras del medio Agar Sabouraud Dextrose y extenderlas por estría en la superficie del medio CHROMagar-Candida.
6. Incubar las placas en atmósfera aerobia a 35 ± 2 °C durante 24 – 48 h en posición invertida.
7. Se requiere una incubación de 48 para que se desarrolle por completo el color de las colonias *Candida*. Reducir al mínimo la exposición a la luz antes de la incubación y durante ella.

Interpretación de resultados

Se recomienda efectuar la lectura de las placas sobre un fondo negro. Si están presentes las especies de *Candida*, las colonias presentarán:

- *Candida albicans*: colonias lisas de color verde claro a mediano
- *Candida Krusei*: colonias rugosas de color rosado claro, con un borde blancuzco
- *Candida tropicalis*: colonias elevadas de color azul grisáceo a azul verdoso o azul metálico
- *Candida glabrata*: colonias de color morado.


 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA EL CULTIVO DE COLONIAS AISLADAS DE CANDIDA EN EL MEDIO DE CHROMAGAR-CANDIDA	CODIGO: CCACMCC
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 3/3

Bibliografía

Dickinson, B. (2014). *BBL TM CHROMagar TM Candida Medium USO PREVISTO*. Obtenido de:

<https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8810#:~:text=BBL%20CHROMagar%20Candida%20Medium%20es,levaduras%20y%20para%20hongos%20filamentosos.>


ELABORADO POR:	Nathaly Silvana Amay Guachizaca	Fecha: 20/12/2021
Aprobado por:	Dra. Elsa Cumanda Ramírez Sanmartín.	Fecha: 19/01/2022

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA ANTIFUNGIGRAMA EN DISCO	CODIGO: PAD
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas:1/3

Anexo 15.- Protocolo para el método de difusión en disco

Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documento M 44-A)

- 1. Objetivo:** Describir el procedimiento correcto del método de difusión en disco para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos fluconazol y voriconazol de las especies de *Candida* aisladas.
- 2. Alcance:** El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para instruir al investigador del proyecto sobre el procedimiento correcto que hay que seguir en el método de difusión en disco para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos fluconazol y voriconazol de las especies de *Candida* aisladas.
- 3. Definiciones:** Es un método muy sencillo recomendado por el CLSI para el estudio de la sensibilidad de las levaduras, en función del halo de inhibición producido por la difusión de los antifúngicos fluconazol y voriconazol, los cuales se encuentran impregnados en unos pequeños discos o tabletas con concentraciones específicas del antifúngico, siendo así fluconazol de 25 µg y voriconazol de 1µg. La medición del halo debe ser donde se produce una reducción del crecimiento y la presencia de pequeñas o grandes colonias en su borde o su interior se deben ignorar (Pemán et al., 2010).
- 4. Responsables:**
Investigador del proyecto.
- 5. Descripción del procedimiento:**
Recursos materiales:
 - Medio Mueller Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno.
 - Asa.
 - Densitómetro.
 - Hisopo.
 - Tubo de ensayo con solución salina estéril.

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA ANTIFUNGIGRAMA EN DISCO	CODIGO: PAD
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas:2/3

6. Proceso

Según el CLSI en el año 2010 menciona el siguiente procedimiento para el de método de difusión en disco para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos fluconazol y voriconazol de las especies de *Candida* aisladas.

Preparación del inóculo

1. Con el asa de cultivo estéril coger 5 colonias ≥ 1 mm de la placa de Agar Sabouraud.
2. Resuspender en un tubo de solución salina estéril (CINa 0,85%), agitando bien.
3. Con ayuda de un densitómetro, se ajusta a una densidad óptica 0,5 McFarland, añadiendo la cantidad necesaria de solución salina. Esta solución tiene una concentración aproximada de 1×10^6 - 5×10^6 UFC/ml.

Inoculación de las placas

1. Sumergir una torunda de algodón en la suspensión del inóculo de 0.5 McFarland.
2. Retirar el exceso de líquido rozando la torunda con las paredes del tubo.
3. Sembrar la placa uniformemente.
4. Dejar secar 3-5 min y dejar la placa entreabierta.
5. Aplicar los discos de fluconazol y voriconazol.
6. Finalmente, incubar a 35 °C durante 20-24 h para *Candida* spp.

Lectura

- Si no hay suficiente crecimiento a las 24 h reincubar y leer a las 48 h.
- Medir el halo de inhibición donde se produce una reducción importante del crecimiento.
- La presencia de micro colonias en el borde del halo de inhibición o de colonias grandes en el interior del halo deben ser ignoradas.
- *C. glabrata* y *C. krusei*, pueden necesitar 48 h de incubación.


 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA ANTIFUNGIGRAMA EN DISCO	CODIGO: PAD
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas:3/3

Tabla 1.

Puntos de corte y equivalencia diámetro-CMI para Candida spp

Antifúngico	Carga de disco	<u>Diámetro (mm)</u>		
		R	S-DD	S
Fluconazol	25 ug	≤ 14	15-18	≥19
Voriconazol	1 ug	≤ 13	14-16	≥17

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


Nota: los datos fueron tomados de Pemán et al., 2010

Bibliografía

Pemán, J. y Martín-Mazuelos, E. y Rubio Calvo, Ma. C. (2010). *Identificación y diagnóstico en micología clínica guía práctica*. Revista Iberoamericana de Micología.


<http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo15.pdf>

ELABORADO POR:	Nathaly Silvana Amay Guachizaca	Fecha: 20/12/2021
Aprobado por:	Dra. Elsa Cumanda Ramírez Sanmartín.	Fecha: 19/01/2022

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA ELIMINACIÓN DE RESIDUOS MICROBIOLÓGICOS	CODIGO: PERM
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas:1/2

Anexo 16.- Protocolo para eliminación de residuos microbiológicos

- 1. Objetivo:** Describir las actividades que se deben realizar para el manejo adecuado de residuos microbiológicos, desde la selección de los insumos necesarios para el envasado de los residuos hasta la preparación para su disposición final.
- 2. Alcance:** El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para instruir al investigador del proyecto acerca las actividades que se deben realizar para el manejo adecuado de residuos microbiológicos.
- 3. Definiciones:** Dentro del Laboratorio Clínico se realizan diversas operaciones con distintos productos que conllevan a la generación residuos infecciosos como por ejemplo placas de Petri, pipetas, cultivos, material de vidrio, etc. Los cuales deben ser inactivados antes de su eliminación, mediante autoclave con vapor directo o con una autoclave con extracción de aire. Por lo tanto, para evitar errores en este proceso es necesario tomar en cuenta varios factores como: la carga la cual puede afectar la temperatura efectiva a la cual el material está sometido y el tiempo de contacto, el embalaje ya que de esto depende la libre circulación del vapor y por último la sobrecarga o el apilamiento en la autoclave ya que pueden llevar al fracaso del proceso de descontaminación (Chiong et al., 2018).
- 4. Responsables:**
Investigador del proyecto.
- 5. Descripción del procedimiento:**
 - Recursos materiales:**
 - Papel reciclado
 - Cinta maski
 - Marcador
 - Funda roja
 - Funda para autoclavar

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	PROTOCOLO PARA ELIMINACIÓN DE RESIDUOS MICROBIOLÓGICOS	CODIGO: PERM
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 2/2

Equipo

- Esterilizador y cronómetro

6. Proceso

Según los autores Chiong et al. el año 2018 mencionan el siguiente procedimiento para la eliminación de desechos infecciosos en el área de microbiología:

- Primeramente, envolver el material en papel reciclado, de tal manera que quede envuelto por completo. O también se pueden utilizar fundas para autoclavar.
- Sellar bien la cinta en caso de haber utilizado el papel reciclado. Si se utilizó la funda solo amarrarla con un nudo fuerte.
- Después esterilizar en el autoclave a 121 °C por 30 minutos a 15 lbs de presión.
- Pasado ese tiempo dejar enfriar.
- Colocar el material en una funda roja y amarrar con un nudo fuerte.
- Finalmente, etiquetar la funda con el eslogan “desechos biopeligrosos”, el lugar de donde procede y el peso.


Nota: asegurarse que el ciclo de la autoclave permita la esterilización en toda la masa de los residuos.

Bibliografía

Chiong, M. y Leisewitz, A. y Vironneau, L. y Álvarez, M. y Tischler, N. y Piñones, O. y Moreno, R. (2018). *Manual de Normas de Bioseguridad y Riesgos Asociados*.

<https://www.conicyt.cl/fondecyt/files/2018/06/Manual- Bioseguridad- junio 2018.pdf>

ELABORADO POR:	Nathaly Silvana Amay Guachizaca	Fecha: 20/12/2021
Aprobado por:	Dra. Elsa Cumanda Ramírez Sanmartín.	Fecha: 19/01/2022

 Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico	HOJA DE REGISTRO DE RESULTADOS	CODIGO: HRR
		Versión: 1
ÁREA: LABORATORIO CLÍNICO		Nº páginas: 1/1

Anexo 17.- Hoja de registro de resultados

HOJA DE REGISTRO															
Código	Examen directo con KOH al 10%		Agar Sabouraud			CHROMagar Candida	Agar Mueller Hinton								
	Blastoconidios	Pseudohifas	Crecimiento				Fluconazol			Voriconazol					
			24 h	48 h	72 h		R	S	SDD	R	S	SDD			
001	-	-													
002	+	-	NO	NO	NO										
003	-	-													
004	+	-	NO	NO	NO										
005	-	-													
006	-	-													
007	-	-													
008	-	-													
009	-	-													

010	-	-											
011	-	-											
012	+	-	NO	SI		Complejo <i>C. albicans</i>	X			X			
013	-	-	NO	NO	SI								
014	+	-				Complejo <i>C. albicans</i>	X			X			
015	-	-											
016	-	-											
017	-	-											
018	++	++	SI			Complejo <i>C. albicans</i>	X			X			
019	-	-											
020	+	+	NO	SI		Complejo <i>C. albicans</i>	X			X			
021	-	-											
022	-	-											
023	-	-											
024	-	-											
025	+	+	SI			Complejo <i>C. albicans</i>	X			X			
026	-	-											
027	-	-											

028	+	-	NO	SI		Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
029	-	-										
030	-	-										
031	-	-										
031	-	-										
032	-	-										
033	-	-										
034	-	-										
035	-	-										
036	-	-										
037	-	-										
038	-	-										
039	-	-										
040	++	+	SI			Complejo <i>C. albicans</i>	X			X		
041	-	-										
042	-	-										
043	++	-	SI			Complejo <i>C. albicans</i>	X			X		
044	-	-										
045	-	-										

046	-	-										
047	-	-										
048	-	-										
049	+	-	NO	NO	NO							
050	-	-										
051	-	-										
052	-	-										
053	++	+	SI			Complejo <i>C. albicans</i>	X			X		
054	-	-										
055	-	-										
056	-	-										
057	-	-										
058	-	-										
059	-	-										
060	-	-										
061	-	-										
062	++	++	SI			Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
063	+	-	NO	NO	SI	Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
064	-	-										

065	-	-											
066	-	-											
067	-	-											
068	-	-											
069	-	-											
070	Escasos	-	NO	NO	NO								
071	Escasos	-	NO	NO	NO								
072	-	-											
073	+	-	NO	SI		Complejo <i>C. albicans</i>		X				X	
074	+	-	NO	NO	SI	<i>C. krusei</i>	X					X	
075	-	-											
076	+	-	NO	SI		Complejo <i>C. albicans</i>		X				X	
077	-	-											
078	-	-											
079	-	-											
080	-	-											
081	-	-											
082	-	-											

083	-	-										
084	-	-										
085	+	-	NO	NO	SI	Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
086	+	-	NO	SI		Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
087	-	-										
088	-	-										
089	-	-										
090	-	-										
091	++	+	SI			Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
092	+	-	NO	NO	NO							
093	-	-										
094	+	-	NO	SI		Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
095	-	-										
096	-	-										
097	-	-										
098	-	-										
099	-	-										
100	-	-										
101	+	+	NO	SI		Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	

102	-	-											
103	-	-											
104	-	-											
105	-	-											
106	++	++	SI			Complejo <i>C. albicans</i>		X				X	
107	-	-											
108	-	-											
109	+	+	SI			Complejo <i>C. albicans</i>		X				X	
110	-	-											
111	-	-											
112	-	-											
113	+	-	NO	NO	NO								
114	+	-	NO	SI		Complejo <i>C. albicans</i>		X				X	
115	-	-											
116	-	-											
117	-	-											
118	++	-	NO	NO	SI	Complejo <i>C. albicans</i>		X				X	
119	-	-											
120	-	-											

121	+	-	NO	NO	SI	Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
122	-	-										
123	-	-										
124	-	-										
125	++	-	NO	NO	NO							
126	-	-										
127	-	-										
128	+	+	SI			Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
129	++	+	SI			Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
130	+	-	NO	NO	SI	Complejo <i>albicans</i>		X			X	
131	-	-										
132	-	-										
133	+	+	SI			Complejo <i>C. albicans</i>						
134	-	-										
135	-	-										
136	+	+	NO	SI		Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
137	-	-										
138	-	-										

139	-	-										
140	-	-										
141	+	-	SI			Complejo <i>C. albicans</i>		X				X
142	-	-										
143	-	-										
144	-	-										
145	-	-										
146	+	-	NO	NO	SI	Complejo <i>C. albicans</i>		X				X
147	-	-										
148	-	-										
149	-	-										
150	-	-										
151	-	-										
152	-	-										
153	-	-										
154	-	-										
155	-	-										
156	-	-										
157	-	-										

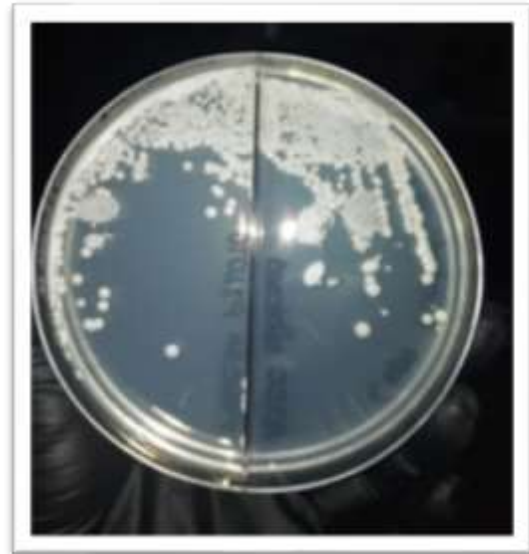
158	++	+	SI			Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
159	-	-										
160	+	-	NO	SI		Complejo <i>albicans</i>		X			X	
161	-	-										
162	++	-	NO	SI		Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
163	-	-										
164	+	+	SI			Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
165	-	-										
166	+	-	NO	NO	SI	Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
167	+	+	SI			Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
168	+	-	SI			Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
169	-	-										
170	+	-	NO	SI		Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
171	++	++	SI			Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
172	Escasos	-	NO	NO	NO							
173	-	-										
174	-	-										
175	-	-										

176	-	-										
177	-	-										
178	-	-										
179	-	-				Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
180	-	-										
181	+	-	NO	NO	NO							
182	+	-	NO	SI		Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
183	+	-	NO	NO	NO							
184	+	+	SI			Complejo <i>albicans</i>		X			X	
185	-	-										
186	++	+	SI			Complejo <i>C. albicans</i>		X			X	
187	+	+	NO	SI		Complejo <i>C. albicans</i>	X			X		

ELABORADO POR:	Nathaly Silvana Amay Guachizaca	Fecha: 20/12/2021
Aprobado por:	Dra. Elsa Cumanda Ramírez Sanmartín	Fecha: 19/01/2022

Evidencias fotográficas

Prueba piloto con la cepa ATCC *C. albicans* 90028



Cepa ATCC *C. albicans* 90028 sembrada en medio Agar Sabouraud a 35° C en donde al cabo de 24 horas de incubación se evidenció el claro crecimiento de colonias de *Candida*.

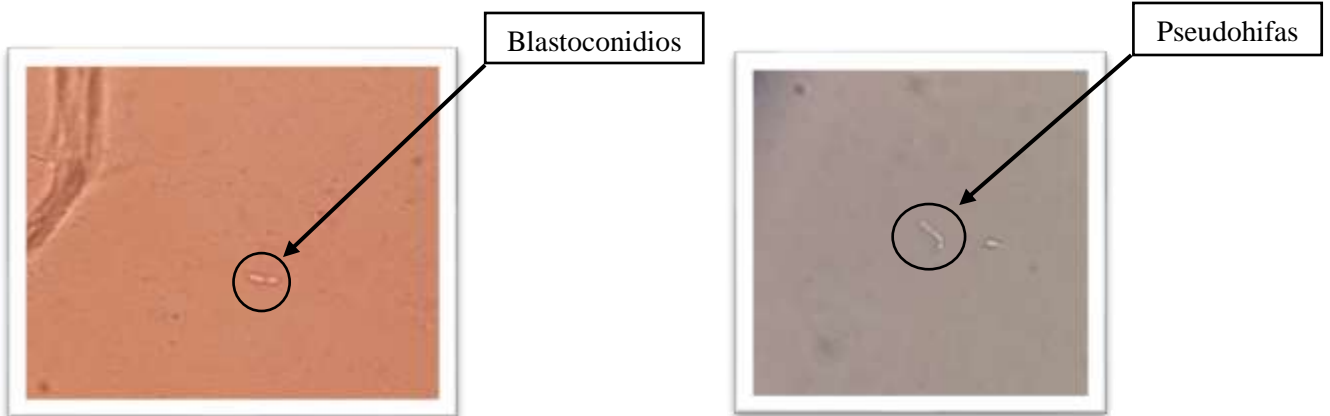


Colonias de levaduras de la cepa ATCC *C. albicans* 90028 sembradas en el medio selectivo CHROMagar-*Candida* incubadas a 35° C, en donde al cabo de 24 horas de incubación se evidenció el color verde característico de *C. albicans*.



Antifungigrama de la cepa ATCC en medio Mueller Hinton en donde al cabo de 24 horas se evidenció la clara sensibilidad frente a los antifúngicos fluconazol y voriconazol.

Identificación de estructuras micóticas mediante el examen directo con KOH al 10%



Crecimiento de muestras con KOH positivo en Agar Sabouraud



Imágenes del crecimiento de colonias lisas, cremosas y de color blanco- amarillento propias de *Candida* de las muestras de secreción vaginal de las mujeres en edad fértil que participaron en el estudio.

Crecimiento en CHROMagar-Candida



En estas imágenes se observa la presencia de las especies que crecieron en el estudio, de color rosa claro *C. krusei* y de color verde Complejo *C. albicans*.

Sensibilidad a fluconazol y voriconazol de las especies de *Candida* aisladas



Imágenes de algunas muestras donde se observa el crecimiento de las colonias con dos halos los cuales al medirlos indicaron ser sensibles a fluconazol y voriconazol.



Imágenes de algunas muestras cuya presencia de *Candida* resultaron ser resistentes a fluconazol y voriconazol, determinada por la ausencia de un halo de sensibilidad.

Imágenes adicionales del trabajo realizado dentro del Laboratorio Clínico y durante la toma de muestra



Imágenes de las pacientes firmando el respectivo consentimiento informado antes de la toma de muestra.



Imágenes tomadas durante la toma de muestra en el Centro de Saúd N° 1 de Loja y del transporte de las mismas.



Imágenes de la realización del examen directo con KOH al 10% .



Imágenes de la realización del siembra de las muestras de secreción vaginal con KOH positivo en el medio Agar Sabouraud.



Imágenes de la realización del pase de colonias de levaduras crecidas en Agar Sabouraud a CHROMagar-Candida y de la realización del antifungigrama para las cepas aisladas.

Anexo 18. Certificado de pertinencia y aprobación del tema de trabajo de integración curricular

 1988		Universidad Nacional de Loja	CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO	Facultad de la Salud Humana
---	---	------------------------------------	--------------------------------	-----------------------------------

Loja, 14 de Febrero del 2022

Sra. Dra. Esp.
Sandra Freire C.
DIRECTORA ACADÉMICA DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE FACULTAD DE
LA SALUD HUMANA DE LA UNL.
Ciudad.-

De mi consideración

Por medio del presente me permito hacerle llegar un cordial y atento saludo, a la vez que doy respuesta al oficio N° 2022-00133-CCLC. ASH-UNL, emitido por secretaria, en el que se solicita dar estructura, coherencia y pertinencia del proyecto de investigación (proyecto de trabajo de integración curricular), cuyo tema es **"TIPIFICACIÓN Y SUSCEPTIBILIDAD DE CANDIDA EN SECRECIONES VAGINALES DE MUJERES EN EDAD FÉRTIL DEL CENTRO DE SALUD N° 1 LOJA"**, perteneciente al estudiante **NATHALY SILVANA AMAY GUACHIZACA**, pongo a su conocimiento que después de haber revisado, analizado y hacer las correcciones necesarias según los artículos 224, 225,.... del Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja, expongo que guarda pertinencia, estructura y coherencia para que se autorice su desarrollo

Particular que le informo para los fines consiguientes,

Atentamente;

 ELSA CUBAMEA
RAMIREZ
RAMIREZ

Dra. Elsa Ramirez S,
DOCENTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLINICO
Ci: 1102001193
Email: elsa.ramirez@unl.edu.ec

072 - 07 1379 Ext. 102
Calle Manuel Montrosi,
frente al Hospital Pedro Ayón - Loja - Ecuador

Anexo 19. Certificado de traducción de inglés.

Lic. Mirian Carmen Sanchez Azuero
ENGLISH TEACHER

CERTIFICA:

Que el documento aquí compuesto es fiel traducción del idioma español al idioma inglés del resumen de tesis "Tipificación y susceptibilidad de *Candida* en secreciones vaginales de mujeres en edad fértil del Centro de Salud N° 1 Loja", autoría de Nathaly Silvana Amay Guachizaca con número de cédula 1104114911, 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, 18 de octubre de 2022



Lic. Mirian Carmen Sanchez Azuero
1105404386
ENGLISH TEACHER