



Universidad  
Nacional  
de Loja

**Universidad Nacional de Loja**

**Facultad de la Salud Humana**

**Carrera de Laboratorio Clínico**

**Tipificación de *Candida* y antifungigrama en muestras de secreción vaginal de pacientes embarazadas que asisten al Centro de Salud Motupe**

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

**AUTORA:**

Lia Michelle Palacio Lapo

**DIRECTORA:**

Lcda. Iliana Alicia Delgado, Mg.Sc.

Loja – Ecuador

**2022**

## Certificación



unl

Universidad  
Nacional  
de Loja

Facultad  
de la Salud  
Humana

FECHA: 21 de septiembre 2022

DE: Lcda. Iliana Alicia Delgado, DIRECTOR/A DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

PARA: Dra. Esp. Sandra Elizabeth Freire Cuesta, DIRECTOR/A 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 de Candida y antifungigrama en muestras de secreción vaginal de pacientes embarazadas que asisten al Centro de Salud Motupe"**, de la autoría de la Srta. **Lia Michelle Palacio Lapo**, 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.

ILIANA  
ALICIA  
DELGADO

Firmado  
digitalmente por  
ILIANA ALICIA  
DELGADO  
Fecha: 2022.10.19  
10:18:40 -0500

.....  
Lcda. Iliana Alicia Delgado Mg. Sc.

**FIRMA**

## Autoría

Yo, Lia Michelle Palacio Lapo, 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 este. 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: 1106041807

Fecha: 06 de diciembre del 2022

Correo electrónico: [lia.palacio@unl.edu.ec](mailto:lia.palacio@unl.edu.ec)

Teléfono o Celular: 0997423281

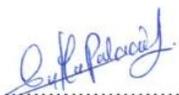
## Carta de autorización por parte del autor para consulta, reproducción parcial o tal y publicación electrónica del texto completo, del Trabajo de Integración Curricular

### Carta de autorización

Yo Lia Michelle Palacio Lapo declaro ser la autora del trabajo de integración curricular titulado **Tipificación de Candida y antifungigrama en muestras de secreción vaginal de pacientes embarazadas que asisten al Centro de Salud Motupe**, como requisito para optar el título de: Licenciada en Laboratorio Clínico, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, 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 seis días del mes de diciembre del dos mil veintidós.

Firma:  .....

**Autora:** Lia Michelle Palacio Lapo

**Cédula:** 0997423281

**Dirección:** Av. Reinaldo Espinosa entre James Watt

**Correo electrónico:** [lia.palacio@unl.edu.ec](mailto:lia.palacio@unl.edu.ec)

**Celular:** 0997423281

Datos complementarios:

**Director del trabajo de integración curricular:** Lcda. Iliana Delgado, Mg. Sc.

**Tribunal de grado:**

**Presidenta de tribunal:** Lcda. Carmen Alejandra Ullauri González, Mg. Sc.

**Miembro de tribunal:** Bq. María del Cisne Luzuriaga Moncada, Mg. Sc.

**Miembro de tribunal:** Dr. Luis Alberto Morocho Yaguana

### **Dedicatoria**

En primera instancia dedico este trabajo a Dios, a mis padres y familia por el apoyo brindado durante todo mi periodo de formación académica, así mismo a mis docentes y amigos que en igual medida han sido un pilar para seguir adelante y no rendirme hasta cumplir las metas propuestas y las que conllevará el futuro.

*Lia Michelle Palacio Lapo*

## **Agradecimiento**

Agradezco a la Universidad Nacional de Loja y a su planta docente por el haberme brindado las bases para mi formación académica y prepararme para mi vida profesional, en igual medida agradezco al Centro de Salud Motupe por el haber acogido mi trabajo y por permitirme utilizar sus instalaciones.

A mi directora de tesis, Lcda. Iliana Delgado, quien, con su esfuerzo, dedicación y apoyo, permitió que pueda concluir y alcanzar las metas propuestas del presente proyecto, a ella le estoy eternamente agradecida.

*Lia Michelle Palacio Lapo*

## Índice de contenido

Portada .....	i
Certificación .....	ii
Autoría.....	iii
Carta de autorización por parte del autor para consulta, reproducción parcial o tal y publicación electrónica del texto completo, del Trabajo de Integración Curricular .....	iv
Dedicatoria .....	v
Agradecimiento .....	vi
Índice de contenido .....	vii
Índice de tablas.....	viii
Índice de anexos .....	ix
1. Título.....	1
3. Introducción .....	4
4. Marco teórico .....	6
5. Metodología.....	11
6. Resultados.....	14
7. Discusión.....	15
8. Conclusiones.....	17
9. Recomendaciones .....	18
10.Bibliografía.....	19
11.Anexos.....	22

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> ....	7
<i>Tabla 2.</i> ....	14
<i>Tabla 3.</i> ....	14

## Índice de anexos

<b>Anexo 1</b> Consentimiento informado .....	22
<b>Anexo 2</b> Formato de registro de datos personales.....	25
<b>Anexo 3</b> Protocolo para toma de muestra de secreción vaginal. ....	27
<b>Anexo 4</b> Protocolo para conservación y transporte de muestras de secreción vaginal. ....	30
<b>Anexo 5</b> Protocolo para preparar medio de cultivo Sabouraud dextrosa. ....	32
<b>Anexo 6</b> Inserto de medio Agar Sabouraud dextrosa proporcionado por el proveedor. ....	35
<b>Anexo 7</b> Protocolo para preparar medio CHROMagar-Candida. ....	37
<b>Anexo 8</b> Inserto de CHROMagar-Candida proporcionado por proveedor. ....	41
<b>Anexo 9</b> Protocolo para preparar medio Müller hinton.....	43
<b>Anexo 10</b> Inserto del medio Agar Müller hinton. ....	46
<b>Anexo 11</b> Formato de registro de temperatura de refrigerador e incubadora.....	48
<b>Anexo 12</b> Formato de registro de temperatura de la incubadora.....	49
<b>Anexo 13</b> Protocolo para realizar control de calidad de cepa conocida de Candida.....	51
<b>Anexo 14</b> Protocolo para aislamiento del agente fúngico de las muestras de secreción vaginal en medio Sabouraud dextrosa. ....	53
<b>Anexo 15</b> Protocolo para realizar cultivo de colonias aisladas de Candida en medio CHROMagar-Candida.....	56
<b>Anexo 16</b> Protocolo para realización de antifungigrama para determinar la susceptibilidad de las especies identificadas. ....	58
<b>Anexo 17</b> Oficio de estructura y coherencia. ....	61
<b>Anexo 18</b> Certificado de inglés. ....	62

## **1. Título**

Tipificación de *Candida* y antifungigrama en muestras de secreción vaginal de pacientes embarazadas que asisten al Centro de Salud Motupe

## 2. Resumen

Las infecciones vaginales por hongos es un desequilibrio ocasionado principalmente por el género *Candida spp.* se caracteriza por cambiar el flujo vaginal, el olor y aspecto, así mismo generando irritación y prurito, existen más de 200 cepas de este microorganismo, pero solo 10 son descritas como patógenos de importancia clínica y para la investigación en el ser humano ya que alteran las condiciones normales de la microbiota del aparato genital femenino, comprometiendo con mayor frecuencia a pacientes embarazadas por sus condiciones fisiológicas y cambios anatómicos, que en consecuencia pueden ocasionar una ruptura de membranas, contaminación del neonato en el momento del parto, infecciones posparto, entre otros. Ante esta situación surge el interés de determinar su presencia e identificar los serotipos y la susceptibilidad de *Candida spp.* en muestras de secreción vaginal de pacientes en periodo de gestación que asisten al Centro de Salud Motupe durante el año 2022. Para ello el presente estudio tubo un diseño cuantitativo de corte transversal descriptivo, con una muestra de secreción vaginal de 100 pacientes en estado de gestación, que se trasladaron desde el centro de salud Motupe hasta el laboratorio de microbiología de la Facultad de la Salud Humana, luego de haber cumplido a cabalidad con la fase preanalítica, las muestras se sembraron en medio de cultivo Sabouraud y de los cultivos con crecimiento significativo se realizó la resiembra en CHROMagar-*Candida* y se ensayó el antifungigrama, teniendo como resultados que la especie aislada con mayor frecuencia es el complejo *Candida albicans*, seguido de *Candida tropicalis* y *Candida parapsilosis*, con un perfil de susceptibilidad del 100% ante fluconazol y voriconazol.

**Palabras clave:** Infecciones vaginales, *Candida albicans*, Susceptibilidad a azoles.

## 2.1. Abstract

Vaginal yeast infections is an imbalance caused mainly by the genus *Candida* spp. There are more than 200 strains of this microorganism, but only 10 are described as pathogens of clinical and research importance in humans since they alter the normal conditions of the microbiota of the female genital tract, most frequently affecting pregnant patients due to their physiological conditions and anatomical changes, which consequently can cause a rupture of membranes, contamination of the newborn at the time of delivery, postpartum infections, among others. In view of this situation, the interest arises to determine the presence and identify the serotypes and susceptibility of *Candida* spp. in vaginal secretion samples of pregnant patients attending the Motupe Health Center during the year 2022. For this purpose, the present study had a descriptive cross-sectional quantitative design, with a sample of vaginal secretion from 100 pregnant patients, who were transferred from the Motupe health center to the microbiology laboratory of the Faculty of Human Health, after having completed the pre-analytical phase, The samples were sown in Sabouraud culture medium and the cultures with significant growth were reseeded in CHROMagar-Candida and tested with the antifungigram. The results showed that the most frequently isolated species was the *Candida albicans* complex, followed by *Candida tropicalis* and *Candida parapsilosis*, with a 100% susceptibility profile to fluconazole and voriconazole. Translated with [www.DeepL.com/Translator](http://www.DeepL.com/Translator) (free version)

**Key words:** Vaginal infections, *Candida albicans*, Susceptibility to azoles.

### 3. Introducción

Las infecciones vaginales son una alteración de las condiciones normales del aparato genital femenino, caracterizándose por cambiar el volumen del flujo vaginal, el olor, al igual de que provoca irritación y prurito, este tipo de infecciones pueden afectar en un 21,5 a un 54,4% a mujeres en estado de gestación.(Zapata et al., 2018)

Las infecciones por hongos son afecciones que comúnmente se producen en la piel como resultado del contacto e infección de las mucosas con hongos, generalmente estas enfermedades son contagiosas, aunque cuentan con un tratamiento adecuado, de modo que, estas afecciones suelen ser tratables e incluso curables. En mujeres embarazadas destaca *Candida spp.* en razón a que, la candidiasis constituye una de las causas de infección vaginal más frecuente entre mujeres en estado de gestación. María Sánchez afirma que: “La candidiasis vulvovaginal (CVV) es una de las enfermedades infecciosas con mayor prevalencia, siendo la segunda causa de vaginitis después de las vaginosis bacteriana, el 40% de la mujeres que acuden con síntomas en atención primaria son causadas por hongos del género *Candida*”. (Sanchez, 2018) No obstante, la *Candida spp.* puede afectar tanto a hombres como mujeres, y dependerá en gran medida del nivel de inmunodepresión que posea el individuo, sin embargo, el aislamiento de este microorganismo resulta más común en mujeres que se encuentran durante su periodo de gestación. (Zurita, 2017)

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el año 2019 cada día más de 1 millón de personas contraen este tipo de infecciones micóticas, siendo considerados los hongos patógenos como oportunistas más importantes, existen más de 200 cepas de *Candida* vaginal pero solo 10 son descritas como patógenos e importantes para la investigación en el ser humano. (OMS, 2019) En países como Europa a la candidiasis es considerada como uno de los motivos más comunes asociados a infecciones en el tracto genital, en países como Estados Unidos y Ecuador es la segunda causa más común de infecciones vaginales representando un 46.1%, siendo así que la candidiasis recurrente afecta aproximadamente a 307.593 mujeres ecuatorianas.(Ávila et al., 2021) Por otra parte en Perú existe una prevalencia de candidiasis del 39,7% en mujeres embarazadas, mientras que, en la ciudad de Loja se ha determinado que existe un promedio de 42,30% de candidiasis en pacientes embarazadas convirtiendo a la candidiasis vaginal en la segunda infección con mayor frecuencia en la localización. (Sánchez y González, 2021)

Por lo antes mencionado, se decidió realizar el presente proyecto cuyo objetivo radicó en clasificar las especies pertenecientes al género *Candida* en las muestras que fueron obtenidas de mujeres embarazadas que acudieron al centro de salud Motupe de la ciudad de Loja, al mismo

tiempo se determinó el grado de susceptibilidad que poseen estas especies a través del uso de antifungigramas. De modo que, la población beneficiada del estudio fue el grupo de mujeres embarazadas que acudieron a sus controles semanales al Centro de Salud Motupe, además que, a través del desarrollo de la investigación se diseñó una base de datos que sirva al personal profesional del centro de salud para emitir diagnósticos oportunos y tratamientos adecuados a este grupo de usuarios, con el fin de mitigar el riesgo que conllevan estas infecciones y el paulatino crecimiento de la resistencia fúngicas.

## 4. Marco teórico

### 4.1 Antecedentes:

Las infecciones vaginales son un conjunto de entidades ginecológicas más frecuentes durante el embarazo y a menudo siendo difíciles de erradicar, estas infecciones se caracterizan por alterar la flora vaginal normal con disminución de los lactobacilos provocando el aumento de agentes infecciosos como son virus, bacterias, hongos, y protozoarios, su prevalencia puede variar entre un 5 y 26 % en embarazadas. (Chavez et al., 2020) En la etapa del embarazo se dan diferentes cambios hormonales y anatómicos, lo que puede producir alteraciones en la flora vaginal induciendo así a infecciones vaginales. Las infecciones por hongos frecuentemente son por levaduras del género *Candida*, principalmente del complejo *Candida albicans*, sin embargo, otras especies de *Candida* son causantes de este tipo de infecciones como son *C. glabrata*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*. (Gonzalez et al., 2019)

### 4.2. Infecciones Vaginales en gestantes:

Durante el curso de un embarazo normal, la flora vaginal comensal cumple con el rol de protección contra infecciones por una serie de mecanismos, dicha flora está compuesta por microorganismos que se encuentran de manera habitual en la vagina de mujeres sanas. La presencia de diferentes especies de *Lactobacillus* promueve un ambiente sano al estar en mayor número, los mismos que producen ácido láctico para que se puede mantener un ambiente ácido. (Morelli y Gamboa, 2022)

Las infecciones vaginales son el resultado de un conjunto de factores tanto externos como internos que alteran lo que es la microbiota vaginal, los factores internos abarcan lo que es una alteración del microambiente vaginal y del pH vaginal que es ácido por los lactobacilos, los cuales evitan la proliferación de microorganismos manteniendo estable la microbiota. (Amaguaña, 2018)

Las infecciones por hongos oportunistas se dan en hospederos con diversos grados de inmunodeficiencias, o cuando se presentan cambios que las favorecen, estas infecciones pueden ser producidas por un gran número de agentes fúngicos, entre los que se encuentran los hongos de la microbiota normal de la piel o las mucosas. Un microorganismo que es parte de la microbiota normal en humanos y que puede convertirse en patógeno es el género *Candida* que puede generar tanto candidiasis superficiales como invasivas. La candidiasis es una micosis primaria o secundaria de distribución mundial, ocasionada por levaduras oportunistas endógenas, exógenas, o ambas, esta puede afectar la piel y mucosas, de igual modo puede diseminarse a los órganos internos y llegar a producir septicemias. (Amaguaña, 2018)

La infección vaginal por especies de *Candida*, también denominada candidiasis vulvovaginal (CVV), constituye una enfermedad inflamatoria aguda y una razón frecuente de consulta ginecológica. Afecta al 75% de las mujeres en edad reproductiva al menos una vez en su vida y al 40% de mujeres embarazadas, es considerada como la segunda causa más común de infecciones vaginales, precedida por las vaginosis bacterianas. (Ortega y Portada, 2019)

### 4.3. Agentes fúngicos:

Los hongos tienen una distribución mundial estos pueden crecer y desarrollarse en una gran variedad de hábitats, incluyendo los ambientes extremos. Se han descrito alrededor de 100,000 especies de hongos, pero la biodiversidad del reino fungí aún no es totalmente conocida, este grupo de microorganismos eucariotas incluyen a las levaduras, los mohos, así como las setas (macromicetos). Pueden producir esporas, aclorófilos, tienen una reproducción sexual y/o asexual. Sus estructuras somáticas están rodeadas por una pared celular que contiene celulosa o quitina, o ambas, dichas estructuras somáticas pueden ser filamentosas (que son multicelulares) y levaduriformes (que son unicelulares). Los hongos filamentosos son aerobios y los levaduriformes son anaerobios facultativos, las levaduras oscilan con su tamaño dependiendo de la especie, comúnmente miden entre 3 y 4  $\mu\text{m}$  de diámetro, pero puede haber algunas especies que alcancen los 40  $\mu\text{m}$ , la morfología de las levaduras puede ser en forma de pseudohifas, hifas verdaderas y/o clamidosporas. (Arenas, 2014)

#### 4.3.1. El género *Candida*:

Este género es un grupo heterogéneo de especies de levaduras, que presentan dimorfismo, es decir, pueden formar pseudohifas e hifas verdaderas, estas especies forman células levaduriformes por gemación, llamadas blastoconidias éstas pueden tener un diámetro de 3-6  $\mu\text{m}$ , se presentan en forma aislada, en cadenas o en pequeños grupos. Sus principales factores de virulencia se relacionan con el dimorfismo, la secreción de enzimas, los cambios de fenotipo, la expresión diferencial de genes en respuesta al ambiente, la síntesis de adhesinas y la capacidad de formar biopelículas. (Trujillo, 2015)

**Tabla 1.**

*Clasificación taxonómica de Candida*

<b>Reino</b>	Fungi
<b>Filo</b>	Ascomycota

<b>Subfilo</b>	Saccharomy cotina
<b>Clase</b>	Saccharomy cetes
<b>Orden</b>	Saccharomy cetales
<b>Familia</b>	Saccharomy cetaceae
<b>Género</b>	<i>Candida</i>

**Elaborado por:** Lia Palacio **Fuente:** Trujillo, A (2015)

Esté género está conformado por más de 154 especies de las cuales una decena son causantes de infecciones en el humano, siendo seis especies las más aisladas en las infecciones en los seres humanos, siendo la de mayor prevalencia el complejo *C. albicans*, seguida de *C. tropicalis*, *C. kefyri*, *C. krusei*, *C. guillermondi*, *C. parakrusei*, *C. zeylanoides*, *C. glabrata*, *C. stellatoidea* y *C. brumptii*.(Murray, 2018)

#### **4.4. Candidiasis:**

La candidiasis es una infección primaria o secundaria ocasionada por las especies de levaduras pertenecientes al género *Candida*, estas especies colonizan lo que es la superficie de las mucosas ya sea de la cavidad, oral, vaginal o el tracto digestivo. Las causas comunes de la proliferación descontrolada que con lleva a una candidiasis vaginal son los cambios hormonales (en el embarazo, al usar anticonceptivos hormonales o en estados de menopausia), cambios en el pH vaginal (que se haga menos ácido), cambios en la flora bacteriana (uso reciente de antibióticos) y la alteración del sistema inmune.(Gavilán et al., 2017)

##### **4.4.1. Epidemiología de la candidiasis:**

La candidiasis es un trastorno que puede afectar a la población mundial sin discriminación de raza, sexo, situación económica, etc. En Europa se considera la candidiasis vaginal como la causa más común de las infecciones vaginales, los signos y síntomas vaginales constituyen como la principal causa en que las mujeres buscan el asesoramiento ginecológico, según expone (Aroca et al., 2020) En Ecuador se considera una alta prevalencia de candidiasis vaginal proyectando que el 46,1% de infección que se da en mujeres embarazadas. (Intriago et al., 2017) Por otra parte en Perú existe una prevalencia de candidiasis del 39,7% en mujeres embarazadas, mientras que, en la

ciudad de Loja se ha determinado que existe un promedio de 42,30% de candidiasis en pacientes embarazadas convirtiendo a la candidiasis vaginal en la segunda infección con mayor frecuencia en la localización. (Sánchez y González, 2021)

#### **4.4.2. Presentación clínica:**

La candidiasis se presenta ya sea con síntomas leves o severos, como es dolor, prurito y quemazón en los labios vulvares y en la vagina. Otros síntomas característico es la micción molesta y dolorosa (disuria), dolor en las relaciones sexuales (dispareunia), irritación vaginal, enrojecimiento e inflamación vulvar. La secreción vaginal puede presentarse de forma espesa, blanquecina, de aspecto lechoso o de consistencia acuosa. (Suárez et al., 2018)

#### **4.4.3. Factores de riesgo:**

Los factores de riesgo para el desarrollo de CVV son varios, como es la edad, el uso de estrógenos, embarazo, uso de anticonceptivos hormonales, diabetes mellitus, enfermedad hepática, enfermedad renal, neoplasia, neutropenia, terapia inmunosupresivas, uso antimicrobianos de amplio espectro, personas con VIH positivo dado a que tienen mayor riesgo para tener una sobreinfección oportunista por este agente causal. (Lazo et al., 2018)

El embarazo es el período de tiempo comprendido que va, desde la fecundación del óvulo por el espermatozoide, hasta el momento del parto. En este se incluyen los procesos físicos de crecimiento y desarrollo del feto en el útero de la madre y también los importantes cambios que experimenta esta última. Durante el embarazo la causa principal de que aparezca la candidiasis se debe a los cambios hormonales propios de la gestación como es el aumento de los estrógenos, que, a la vez, aumentan la concentración de glucógeno vaginal, siendo así que la cantidad normal que hay de *Candida* aumente y origine la infección, provocando afecciones tanto a la salud de la madre, del neonato o de ambos. (García et al., 2017)

#### **4.5. Diagnóstico laboratorial:**

El diagnóstico microbiológico para este tipo de micosis invasoras se basa en el uso de varios métodos que se van complementando como es la observación microscópica directa y métodos basados en cultivo, los cultivos resultan ser elementales para establecer lo que es la etiología y para efectuar pruebas complementarias para la identificación de la especie y para la medición de susceptibilidad o resistencia frente antimicóticos. (Montes, 2017)

##### **4.5.1. Aislamiento de la muestra de secreción vaginal:**

El aislamiento consiste en la separación de un determinado microorganismo del resto de microorganismos que lo acompañan, la diferenciación de los microorganismos va a depender del

aspecto de la colonia, su coloración, tamaño, etc. El agar Sabouraud dextrosa es un medio selectivo por su mínima cantidad en nutrientes y pH bajo, que resulta ser adecuado para el crecimiento y asilamiento de levaduras y hongos. (Romero et al., 2018).

#### **4.5.2. Serotipificación:**

Para la tipificación de esta especie se utilizan lo que son medios de cultivo cromogénicos, cuyo fundamento se basa en la detección de determinadas actividades enzimáticas por parte de las levaduras mediante la hidrólisis específica de un sustrato cromogénico en presencia de un indicador de la enzima. El medio CHROMAgar se utiliza para identificar las especies clínicamente importantes del género *Candida*. Este medio permite diferenciar colonias de *C. albicans* (lisas y de color verde esmeralda), *C. dublinensis* (lisa y de color verde oscuro), *C. tropicalis* (lisa y de color azul oscuro con un halo 16 púrpura-marrón en el agar que la rodea), *C. krusei* (colonias rugosas con el centro rosado y el borde blanco) y *C. glabrata* (colonias brillantes y cremosas de color violeta). Sin embargo, la coloración de la especie aislada dependerá del Kit utilizado. (Zaror y Valdevenito, 2018).

#### **4.5.3. Antifungigrama:**

Las infecciones por agentes fúngicos, incluyendo aquellas producidas por hongos que pueden ser resistentes o multirresistentes a los antifúngicos, representan un serio problema de salud pública. Las pruebas de sensibilidad a los antifúngicos no están tan desarrolladas ni implementadas como las de los antibacterianos, que tienen similitudes tanto en su diseño como en su precisión y reproducibilidad. El objetivo de los antifungigramas es conocer la actividad in vitro de los antifúngicos para así pronosticar el resultado terapéutico de determinado tratamiento antifúngico y para la detección de nuevas cepas que sean resistentes dentro de la población sensible. (Castro et al., 2019).

## **5. Metodología**

### **5.1. Tipo de estudio.**

El presente estudio tuvo un diseño cuantitativo de corte transversal descriptivo.

### **5.2. Área de estudio.**

El estudio se llevó a cabo en la ciudad de Loja, ubicada al sur del Ecuador, en el Centro de Salud Motupe, el cual se encuentra ubicado en el barrio Motupe Bajo, el mismo que está al Norte de la ciudad de Loja a unos 7 kilómetros aproximadamente de la ciudad, este Centro de Salud pertenece a la Parroquia San Juan del Valle; unidad de salud correspondiente al primer nivel de atención de salud que pertenece al Ministerio de Salud Pública y forma parte del distrito 11D01, cuenta con servicios de atención a la salud de la comunidad correspondiente al sector norte de Motupe de: Medicina General, Medicina Familiar, Gineco-Obstetra, Odontología, Odontopediatría, Enfermería y Trabajo Social, de igual forma, cuenta con la disponibilidad de servicios auxiliares de diagnóstico en Laboratorio Clínico y Farmacia Institucional. Sin embargo, las muestras fueron transportadas de acuerdo con los protocolos de bioseguridad para su análisis en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la facultad de Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja.

### **5.3. Población**

Para el estudio, se investigó pacientes embarazadas que acuden al Centro de Salud Motupe.

### **5.4. Muestra**

La muestra con la que se trabajó estuvo conformada por muestras de secreción vaginal de pacientes embarazadas que asisten al Centro de Salud Motupe en el periodo Mayo - agosto 2022

### **5.5. Criterios de inclusión.**

- Muestras de secreción vaginal de pacientes embarazadas que acuden al Centro de Salud Motupe.
- Pacientes embarazadas que firmaron el consentimiento informado.

### **5.6. Criterios de exclusión.**

- Pacientes con etiología de infección vaginal por agentes bacterianos y/o parasitarios.
- Pacientes que hayan recibido terapia antimicótica reciente.

### **5.7. Equipos y materiales.**

#### **5.7.1. Fase preanalítica**

- Formato del consentimiento informado (Anexo 1).
- Registrado de datos personales de pacientes embarazadas (Anexo 2).
- Protocolo para toma de muestras de secreción vaginal (Anexo 3).

- Protocolo para conservación y transporte de las muestras de secreción vaginal (Anexo 4).
- Método para la preparación del Agar Sabouraud dextrosa (Anexo 5).
- Inserto del medio Agar Saouraud dextrosa emitido por el fabricante (Anexo 6).
- Método para la preparación del CHROMagar-*Candida* (Anexo 7).
- Inserto del medio de CHROMagar-*Candida* emitido por el fabricante (Anexo 8).
- Método para la preparación del Agar Mueller Hinton suplementado (Anexo 9).
- Inserto del medio Agar Müller hinton emitido por el fabricante (Anexo 10).
- Formatos para registro de temperatura de congelador para la conservación de medios de cultivo (Anexo 11).
- Formato de registro de temperatura de incubadora (Anexo 12).

### **5.7.2. Fase analítica**

- Protocolo para realizar control de calidad con cepa conocida de *Candida* (Anexo 13).
- Cultivo de muestras en el medio de Agar Sabouraud (Anexo 14).
- Protocolo para realizar cultivo de colonias aisladas de *Candida* en el medio de CHROMagar-*Candida* (Anexo 15).
- Protocolo para realizar antifungigrama para determinar la susceptibilidad de las especies identificadas en medio Müller hinton (Anexo 16).

### **5.7.3. Fase post analítica**

- Los resultados obtenidos durante el proyecto de investigación fueron procesados en el programa Paquete Estadístico para las Ciencias Sociales (SPSS Statistics versión 25) y se analizaron mediante estadística descriptiva.

### **5.8. Presentación de resultados.**

Los resultados obtenidos fueron presentados mediante el uso de tablas que representaron especies de *Candida* y su susceptibilidad frente a los antimicóticos voriconazole y fluconzole.

### **5.9. Fuentes de información.**

Las fuentes de información que se emplearon corresponden a las matrices proporcionadas por el personal del Centro de Salud Motupe y la solicitud de análisis clínico otorgada por parte de los médicos a las pacientes embarazadas que acudieron al Centro de Salud Motupe durante el periodo de estudio.

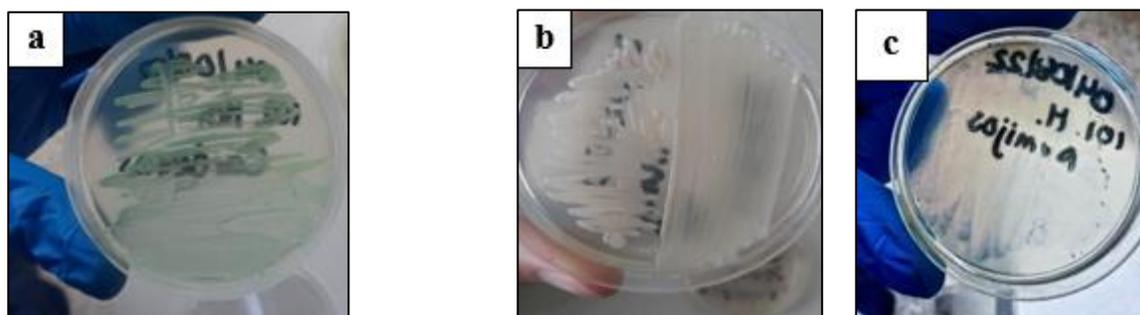
### **5.10. Consideraciones éticas.**

Se consideraron aspectos éticos y legales para la ejecución del proyecto de investigación en muestras humanas, como la confidencialidad de los participantes, al mismo tiempo que se evitó perjudicar de manera accidental o intencionada a los mismos a través de la firma del consentimiento informado (Anexo 1) el mismo que evidencia la participación voluntaria de las pacientes embarazadas que asistieron al Centro de Salud Motupe

## 6. Resultados

Para el cumplimiento de los objetivos propuestos se realizó el cultivo de 100 muestras de secreción vaginal en medio de cultivo Sabouraud con el propósito de aislar colonias puras de levaduras, observando que el 26 % (n=26) tuvieron crecimiento fúngico (Tabla 1).

A partir de las colonias de levaduras aisladas del medio de cultivo Sabouraud, se tipificaron en CHROMagar-*Candida*, observando en la figura 1a. Complejo *Candida albicans* (colonias de color verde), figura 1b. *Candida parapsilosis* (colonias blanco-purpura) y figura 1c. *Candida tropicalis* (colonias de color azul). A su vez en la Tabla 2 se estimó la frecuencia de las diferentes especies tipificadas.



**Figura 1.**

Coloración de: a. cultivo de complejo *C. albicans*, b. cultivo de *C. parapsilosis* y c. cultivo de *C. tropicalis* después de 24 horas de incubación.

**Tabla 2**

Tipificación de *Candida* de muestras aisladas de medio de cultivo Sabouraud, a partir de muestras de secreción vaginal de mujeres gestantes que acuden al Centro de Salud Motupe mayo - agosto 2022

Especie de <i>Candida</i>	Frecuencia	Porcentaje
<i>Candida albicans</i>	24	92,3
<i>Candida parapsilosis</i>	1	3,8
<i>Candida tropicalis</i>	1	3,8
<b>Total</b>	26	100

De las mismas colonias aisladas del medio de cultivo Sabouraud se realizó pruebas de susceptibilidad tanto a fluconazole como a voriconazole (Tabla 3).

**Tabla 3**

Perfil de susceptibilidad de especies de *Candida* identificadas de muestras aisladas de pacientes embarazadas que asisten al Centro de Salud Motupe mayo - agosto 2022

Especies de <i>Candida</i> / antifúngicos	Fluconazole Sensible	Voriconazole Sensible
<i>C. albicans</i>	24 (92,3 %)	24 (92,3 %)
<i>C. parapsilosis</i>	1 (3,8 %)	1 (3,8 %)
<i>C. tropicalis</i>	1 (3,8 %)	1 (3,8 %)
<b>Total:</b>	26 (100 %)	26 (100 %)

## 7. Discusión

Las infecciones vaginales son los trastornos más comunes en mujeres, el embarazo es uno de los estados donde se presenta una mayor vulnerabilidad, es decir, la mujer en estado de gestación tiende a contraer infecciones vaginales por los diferentes cambios fisiológicos, hormonales y anatómicos, los mismos que provocan modificaciones en la microbiota vaginal.

Por medio de este estudio se ha podido corroborar que el complejo *C. albicans* es el hongo con mayor frecuencia dentro de las infecciones vaginales en pacientes en estado de gestación, corroborando con el estudio de Aguilar, et al. desarrollado en Asunción-Paraguay en el año 2017 aisló el complejo *C. albicans* en un 86,4% de un total de 536 muestras de mujeres en periodo de gestación. En igual medida este estudio se asemeja al desarrollado por Chila, et al. en el año 2022 donde se aisló la misma especie en un 80,76% de un total de 52 muestras de secreción vaginal. Por ende, queda evidenciado que el complejo *C. albicans* es el agente micótico mayormente aislado en mujeres embarazadas esto debido a que su conversión y adhesión es mayor a otras especies, dicha adhesión se debe a que manifiesta la unión del receptor de la membrana, iCb3 y fibronectina por parte de una proteína transmembrana de la membrana micótica, dicha proteína micótica es capaz de anclarse en el receptor epitelial, por lo que las pacientes al estar en estado de gestación son más susceptibles a este tipo de infecciones ya que poseen un medio con niveles elevados de estrógeno aumentando la exposición de los complejos epiteliales glicoproteicos que participan como receptores facilitando así la adherencia de los hongos a la superficie epitelial.

Por otro lado, se identificó *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* en un 3,8% de los casos positivos, resultados que se asemejan con el estudio de Aguilar, et al. desarrollado en el año 2017 donde identificaron que *C. parapsilosis* tenía una prevalencia del 1,7% y *C. tropicalis* del 1,5%. Mientras que, en el estudio realizado por Herreras y Cárdenas (2022) identificó que *C. parapsilosis* tenía una prevalencia del 2,7% y el *C. tropicalis* del 0,9%. De modo que se puede inferir que su frecuencia es baja con relación a otras especies pertenecientes al género de *Candida* en pacientes embarazadas debido a que depende del tipo de paciente, es decir, si posee una enfermedad crónica o si son pacientes inmunodeprimidos, de igual manera puede influir si existió una previa exposición no controlada a antifúngicos.

Por medio del antifungigrama se evidenció que existió una sensibilidad del 100% de las especies tipificadas a los antimicóticos fluconazole y voriconazol, resultados que se asemejan a los obtenidos en el estudio realizado por Ghaddar, et al. en el año 2020, donde determinó que *C.*

*albicans* poseía una sensibilidad 90% a fluconazole y 97,5% a voriconazol. En el estudio realizado por Orella y Pacheco en el año 2021 exponen que el complejo *C. albicans* es sensible a fluconazole con un 81,7% y a voriconazol con un 94,4%, en el caso de *C. parapsilosis* el 100% es sensible a voriconazol y fluconazole. En igual medida, en el estudio realizado por Herreras y Cárdenas en el año 2022 determinaron que tanto *C. tropicalis* como *C. parapsilosis* son sensibles en un 100% a los antimicóticos fluconazole y voriconazol. Por ende, queda demostrado que el uso de estos azoles son de primera elección debido a que éstas tres especies del género *Candida* son susceptibles ya que alteran la producción de ergosterol bloqueando la 14-alfa-desmetilasa la cual es una enzima que se encarga de transformar lanosterol en ergosterol, dicha inhibición va a modificar la fluidez de la membrana incrementando su permeabilidad y afectando el crecimiento celular y su replicación.

## 8. Conclusiones

- Se identificó que la especie con mayor frecuencia fue *Candida albicans*, seguida de *C. tropicalis* y *C. parapsilosis*.
- Se determinó que el 100% de las especies identificadas son sensibles a voriconazol y fluconazole.

## 9. Recomendaciones

Al finalizar el presente trabajo de investigación es importante realizar las siguientes recomendaciones:

- Se recomienda que se siga empleando métodos para la tipificación de *Candida* con el objetivo de contribuir al médico para que pueda implementar un tratamiento adecuado en las gestantes y se puedan identificar especies que pueden relacionarse con una mayor patogenicidad.
- Se recomienda que se continúen realizando perfiles de susceptibilidad de las especies identificadas con el objetivo de que se proporcione un tratamiento adecuado que ayude a mantener en cero el porcentajes de resistencia antifúngica, así mismo que se sigan utilizando los métodos estandarizados del CLSI, junto a otras metodologías como las expuestas por el EUCAST u otros métodos alternativos que podrían contribuir a encontrar el más adecuado para cada institución según el análisis costo-beneficio de cada una de ellas.

## 10. Bibliografía

- Aguilar, G., Araujo, P., Godoy, E., Falcon, M., Centurion, M., Ortiz, R., Brites, M., & Martinez, 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.
- Amaguaña, C. M. (2018). “Influencia de las infecciones vaginales en la amenaza de parto pretérmino en pacientes atendidas en el subcentro de salud de la parroquia Cunchibamba.”
- Aroca, J. J., Martínez, P. R., Esteban, L. M. M., González, A. M. F., García-Arata, I., & Menchero, S. P. (2020). Epidemiología y etiología de la candidiasis vulvovaginal en mujeres españolas e inmigrantes en fuenlabrada (madrid). *Revista Espanola de Quimioterapia*, 33(3), 187–192. <https://doi.org/10.37201/req/099.2019>
- Ávila, M., Villacís, A., & Silverio, C. (2021). Evaluación de susceptibilidad en candidas spp por colorimetría obtenida en gestantes de un hospital obstétrico. *Revista Vive*, 3(9), 227–246. <https://doi.org/10.33996/revistavive.v3i9.62>
- Castro Méndez, C., García Sánchez, E., & Martín-Mazuelos, E. (2019). Actualización de las pruebas de susceptibilidad antifúngica in vitro. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 37, 32–39. [https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(19\)30180-6](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(19)30180-6)
- Centeno, J. (2021). *PREVALENCIA DE INFECCIONES VAGINALES EN GESTANTES ATENDIDAS EN EL CENTRO DE SALUD DE PERÚ 2020*.
- Chavez, M., Garcia, L., Chaves, J., Duran, K., & Ramirez, J. (2020). Prevalencia de infecciones vaginales en mujeres embarazadas y no embarazadas en un hospital de Cali, Colombia. *Revista Ciencias Biomédicas*, 9(2), 92–102. <https://doi.org/https://doi.org/10.32997/rcb-2020-3157>
- Chila, L., Anzulez, J., Milian, E., & Izaguirre, M. (2022). Perfil clínico-microbiológico de la Candidiasis Vulvovaginal en mujeres embarazadas. *Rev. Científica Biomédica Del ITSUP*, 6(1).
- Chile Ministerio De Salud Pública Servicio De Salud Maule Hospital San Juan De Dios Curicó, R. de. (2021). *PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS RELACIONADOS CON EL PROCESO DE TOMA DE MUESTRA Y SU TRASLADO*.
- García, D., Estrada, J., & Proenza, L. (2017). Infección vaginal en gestantes y su influencia en la morbilidad y mortalidad perinatal. *MULTIMED*, 21 (2).
- Ghaddar, N., Anastasiadis, E., Halimeh, R., Ghaddar, A., Dhar, R., Alfouzan, W., Yusef, H., & el Chaar, M. (2020). Prevalence and antifungal susceptibility of *Candida albicans* causing vaginal

- discharge among pregnant women in Lebanon. *BMC Infectious Diseases*, 20(1).  
<https://doi.org/10.1186/s12879-019-4736-2>
- Gonzalez, N., Santisteban, A., Ortiz, Y., & Gonzalez, M. (2019). Factores de riesgo asociados a infección vaginal en mujeres embarazadas. *Multimed*, 23(3), 430–446.
- Herrerias, L., & Cardenas, V. (2022). Perfil de resistencia antifúngica en el tratamiento de candidiasis vaginal: Un diagnóstico de agentes etiológicos. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 21(2).
- Intriago-Rosado, A. M., Sarango-Intriago, N. E., Poveda-León, D. L., & Boderó-Franco, C. F. (2017). La candidiasis vaginal y su incidencia en embarazadas de 20 a 24 años. *Polo Del Conocimiento*, 2(7), 273. <https://doi.org/10.23857/pc.v2i7.240>
- Lazo, V., Hernandez, G., & Mendez, R. (2018). Candidiasis sistémica en pacientes críticos, factores predictores de riesgo. *Horiz. Med.* , vol.18(no.1).  
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.24265/horizmed.2018.v18n1.11>
- MediMark. (2021). *INSTRUCCIONES DE USO USO PREVISTO*. [www.microbiologics.com](http://www.microbiologics.com)
- Montes, P. V. (2017). *Perfil epidemiológico de pacientes con diagnóstico de candidiasis ingresados en el Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom en el periodo de enero de 2011 a diciembre de 2015*. UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR .
- Morelli, I., & Gamboa, S. (2022). Vaginosis bacteriana en el embarazo: últimos avances hasta la fecha. *Revista Médica Sinergia*, 7(7). <https://doi.org/https://doi.org/10.31434/rms.v7i7.838>
- OMS Organización Mundial de la Salud. (2019). *Sistema Mundial de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos Protocolo de implementación temprana para la inclusión de Candida spp*.  
<http://apps.who.int/bookorders>.
- Orellana Quito, J. M., & 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>
- Ortega, O., & Portada, E. (2019). *Vulvovaginitis en gestantes atendidas en el puesto de salud San Raon de Pangoa, Satipo 2019*.
- Pemán, J., Martín-Mazuelos, E., & Rubio Calvo, Ma. C. (2010). *Identificación y diagnóstico en micología clínica guía práctica*. Revista Iberoamericana de Micología.
- Romero, M., Sánchez, O., Luis, J., Flores, C., Estrada, U., González, H., Isabel, S., Romero, A., de Jesús, J., & de Ávila, C. (2018). *Aislamiento de microorganismos de casos clínicos de infección vaginal y su susceptibilidad antibacteriana Isolation of microorganisms from clinical cases of vaginal infection and its antimicrobial susceptibility Resumen* (Vol. 38, Issue 1).

- Sanchez, I., Garcia, J., Gonzalez, J., & Orta, N. (2019). Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 37(2), 127–134. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.eimc.2017.12.002>.
- Sanchez, M. (2018). Importancia clínica de la candidiasis con especial relevancia en la candidiasis vulvovaginal recurrente. *Gaceta Médica de Bilbao*, 116, 74–82.
- Sánchez, M., & González, V. (2021). Infecciones vaginales y complicaciones durante el embarazo en usuarias del Centro de Salud Universitario de Motupe – Loja. *CEDAMAZ*, 11(2), 119–123. <https://doi.org/10.54753/cedamaz.v11i2.1180>
- Suárez, P., Bello, A. M., Puello, M., Young, G., Durán, M., & Arechavala, A. I. (2018). Vulvovaginitis y colonización vaginal por especies de Candida en gestantes del norte de Colombia. *Archivos de Medicina*, Vol. 18(Nº. 1).
- Zapata, J., Muñoz, A., Tirado, A., González, J., & Velásquez, S. (2018). Risk factors associated to vaginal infections and squamous intraepithelial lesions in university students in Medellín, Colombia. *Enfermería Global*, 17(2), 86–96. <https://doi.org/10.6018/EGLOBAL.17.2.275881>
- Zaror, L., & Valdevenito, M. (2018). Tipificación de cepas de Candida. *Boletín Micológico*, Vol. 7. <https://doi.org/https://doi.org/10.22370/bolmicol.1992.7.0.128>

## 11. Anexos

### *Anexo 1 Consentimiento informado*

#### **CONSENTIMIENTO INFORMADO**

CÓDIGO

#### **Análisis bacteriológico en muestras de orina y fluido vaginal, para el diagnóstico temprano de enfermedades infecciosas en pacientes embarazadas que acuden al Centro de Salud Universitario de Motupe.**

Fecha: .....

Datos del Paciente: .....

Número de cédula: .....

Semanas de gestación: .....

En el marco del proyecto de vinculación: “**Análisis bacteriológico en muestras de orina y fluido vaginal, para el diagnóstico temprano de enfermedades infecciosas en pacientes embarazadas que acuden al Centro de Salud Universitario de Motupe**” bajo la responsabilidad de: Ivanova Zúñiga, María del Cisne Luzuriaga, Iliana Delgado, Daniel Riascos, miembros de la comisión de vinculación de la carrera de Laboratorio Clínico de la Facultad de la Salud Humana.

Para ejecución del mismo, se necesita la recolección de muestras de orina y fluido vaginal de las pacientes embarazadas que acuden a sus atenciones prenatales al Centro de Salud Universitario de Motupe.

Los participantes del proyecto son quienes tomaran la muestra con las respectivas indicaciones para una correcta toma de muestra y de esa manera poder realizar correctamente el análisis, mismo que se llevara a cabo en los laboratorios de docencia de la Facultad de Salud Humana.

Considerando que la muestra de orina será recolectada por el paciente, debe tener en cuenta ciertas indicaciones: aseo previo antes de la toma de muestra, deberá recoger la primera micción de la mañana, segundo chorro con toda la asepsia posible.

Toda la información recolectada será recopilada y procesará con estricta confidencialidad para asegurar la privacidad de las pacientes embarazadas.

#### **DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA OBTENCIÓN DE MUESTRAS**

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 de la investigadora, de todos los aspectos relacionados con el proyecto y estoy de acuerdo con el procedimiento que se ha propuesto; que está claro, que mi participación en dicho proyecto consiste en entregar una muestra de orina y fluido vaginal para que sea procesada y no será empleada para otros fines sin mi consentimiento.

Declaro que he sido informada 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. Además, al ser un proyecto coordinado por: Ivanova Zúñiga, María del Cisne Luzuriaga, Iliana Delgado, Daniel Riascos, miembros de la comisión de vinculación de la carrera de Laboratorio Clínico de la Facultad de la Salud Humana, por lo que me han 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 se me ha ofrecido ni prendo recibir ningún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que puedan producirse en el referido proyecto.

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

---

Nombre, firma y número de cédula  
del paciente.

---

Nombre, firma y número de  
cédula del testigo

### **NEGATIVA DEL CONSENTIMIENTO INFORME**

Fecha: .....

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

### **REVOCATORIA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

De forma libre y voluntaria, revoco el consentimiento realizado en fecha y manifiesto expresamente mi deseo de no continuar con el procedimiento médico que doy por finalizado en

esta fecha: Libero de responsabilidades futuras de cualquier índole al establecimiento de salud y al profesional sanitario que me atiende.

---

Nombre, firma y número de cédula  
del paciente.

---

Nombre, firma y número de  
cédula del testigo.

Anexo 2 Formato de registro de datos personales

 <p style="text-align: center;"><b>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA</b> FACULTAD DE SALUD HUMANA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA Calle Manuel Monteros y Carlos Román Loja</p>	<p><b>HOJA DE TRABAJO</b></p> <p><b>REGISTRO DE MUESTRAS DE SECRECIÓN VAGINAL</b></p>	<p><b>CÓDIGO:</b></p>
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------

DATOS GENERALES					ANÁLISIS MICROSCOPICO	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO		
N°	Fecha	Nombres	# C.I	Edad	KOH	Crecimiento Sabouraud	Tipificación en CHROMO	ANTIFUNGIGRAMA
						24 h:	Color:	VOR:
						48 h:	Especie:	FCA:
						72 h:		
						24 h:	Color:	VOR:
						48 h:	Especie:	FCA:
						72 h:		
						24 h:	Color:	VOR:
						48 h:	Especie:	FCA:
						72 h:		
						24 h:	Color:	VOR:

						48 h:	Especie:	FCA:
						72 h:		
						24 h:	Color:	VOR:
						48 h:	Especie:	FCA:
						72 h:		

 <p><b>Universidad Nacional de Loja</b> <b>Facultad de Salud Humana</b> <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b> <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b> <b>Est. 302</b></p>	<p><b>RECOLECCIÓN DE MUESTRAS:</b> Secreción Vaginal</p>	<p><b>Código:</b> <b>Revisión: 1</b> <b>Edición: 1</b> <b>Fecha:</b> <b>Página: 1/3</b></p>
<p><b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b></p>		

### TOMA DE MUESTRAS DE SECRECIÓN VAGINAL

**Objetivo:** Describir el método de recolección de la muestra de secreción vaginal para que posterior tenga su análisis correspondiente.

**Alcance:** Está técnica permite el análisis de este espécimen biológico que será analizado con fines diagnósticos.

**Definiciones:** Mezcla de fluido y células de la vagina que varía en su aspecto.

#### **Descripción del procedimiento:**

#### **Recursos-materiales:**

- Equipo de protección personal para el personal que va a recolectar la muestra.
- Camilla Ginecológica
- Espéculo estéril
- Hisopos estériles (medio de transporte Stuart).
- Gradilla

 <p><b>Universidad Nacional de Loja</b> <b>Facultad de Salud Humana</b> <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b> <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b></p>	<p><b>RECOLECCIÓN DE MUESTRAS:</b> Secreción Vaginal</p>	<p><b>Código:</b> <b>Revisión: 1</b> <b>Edición: 1</b> <b>Fecha:</b></p>
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------

<b>Est. 302</b>		<b>Página: 2/3</b>
<b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b>		

**Procedimiento:**

1. Se explicará a la paciente referente al procedimiento con el fin de resolver cualquier inquietud o duda.
2. Se pedirá que se descubra los genitales en la sala de exploración cubriéndose con un paño o bata.
3. Se le indicara a la paciente que se coloque en la camilla en posición ginecológica, es decir, colocando los pies en los estribos estando recostada en la camilla.
4. Se prepara el material y el personal se realizará la asepsia correspondiente, así mismo se colocará lo que es su equipo de protección personal.
5. Se indicará que se va a proseguir con la recolección de la muestra.
6. Con la mano no dominante se separa los labios vulvares y con la mano dominante se introducirá el escobillón frotando suavemente las paredes de la vagina para recolectar la muestra.
7. Obtener la muestra de secreción vaginal de la membrana mucosa de la pared vaginal con un hisopo estéril.
8. Se indicará a la paciente que puede incorporarse y vestirse.
9. Se rotulará el tubo con la información correspondiente de la paciente.

	<p align="center"> <b>Universidad Nacional de Loja</b>  <b>Facultad de Salud Humana</b>  <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b>  <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b>  <b>Est. 302</b> </p>	<p align="center"> <b>RECOLECCI ÓN DE MUESTRAS:</b>          Secreción Vaginal       </p>	<p> <b>Código:</b>  <b>Revisión: 1</b>  <b>Edición: 1</b>  <b>Fecha:</b>  <b>Página: 3/3</b> </p>
<p align="center"><b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b></p>			

**Observaciones:**

La muestra no será recolectada en caso la paciente este usando antimicóticos, cremas u óvulos vaginales, que se haya realizados duchas vaginales, que haya tenido relaciones sexuales menos de 72 horas antes de la toma de muestra o si presenta algún tipo de sangrado anormal.

**Bibliografía:**

- Chile Ministerio De Salud Pública Servicio De Salud Maule Hospital San Juan De Dios Curicó, R. de. (2021). Protocolo de procedimientos relacionados con el proceso de toma de muestra y traslado.

<p><b>Elaborado por:</b></p>	<p>Lia Michelle Palacio L.</p> 
<p><b>Aprobador por:</b></p>	<p>Lcda. Iliana Delgado, Mg. Sc.</p> 

*Anexo 4 Protocolo para conservación y transporte de muestras de secreción vaginal.*

 <p>1859</p>	<p><b>Universidad Nacional de Loja</b> <b>Facultad de Salud Humana</b> <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b> <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b> <b>Est. 302</b></p>	<p><b>TRANSPORT</b> <b>E DE MUESTRAS:</b> <b>Secreción vaginal</b></p>	<p><b>Código:</b> <b>Revisión: 1</b> <b>Edición: 1</b> <b>Fecha:</b> <b>Página: 1/2</b></p>
<p><b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b></p>			

### **TRANSPORTE DE MUESTRAS DE SECRECIÓN VAGINAL**

**Objetivo:** Describir las condiciones y el procedimiento adecuado para el transporte de las muestras de secreción vaginal.

**Alcance:** El presente protocolo proporciona información práctica aplicable para el correcto transporte de muestras de secreción vaginal.

**Definiciones:** El transporte adecuado de muestras biológicas asegura el mantenimiento de estas garantizando así un resultado fiable al ser analizadas.

**Recursos:**

- Muestras recolectadas de secreción vaginal en medios de transporte Stuart.
- Gradilla.
- Empaque para el transporte de las muestras: primario, secundario y terciario.

**Descripción de técnica de transporte de la muestra:**

- Los medios de transporte Stuart con la muestra se colocarán en la gradilla, tomando en cuenta que estén cerrados herméticamente con el fin de evitar una contaminación de estos.
- La gradilla con los medios de transporte Stuart serán colocados en el empaque terciario (cooler), el cual tendrá una temperatura ambiente.
- Se transportará inmediatamente para su posterior análisis.

	<p align="center"> <b>Universidad Nacional de Loja</b>  <b>Facultad de Salud Humana</b>  <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b>  <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b>  <b>Est. 302</b> </p>	<p align="center"> <b>TRANSPORT</b>  <b>E DE MUESTRAS:</b>  <b>Secreción vaginal</b> </p>	<p> <b>Código:</b>  <b>Revisión: 1</b>  <b>Edición: 1</b>  <b>Fecha:</b>  <b>Página: 2/2</b> </p>
<p align="center"><b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b></p>			

**Bibliografía:**

- Sanchez, I., Garcia, J., Gonzalez, J., y Orta, N. (2019). Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 37 (2), 127–134.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.eimc.2017.12.002>.

<p align="center"><b>Elaborado por:</b></p>	<p align="center">Lia Michelle Palacio</p> <p align="center">L.</p> 
<p align="center"><b>Aprobador por:</b></p>	<p align="center">Lcda. Iliana Delgado,</p> <p align="center">Mg. Sc.</p> 

 <p>1859</p>	<p><b>Universidad Nacional de Loja</b> <b>Facultad de Salud Humana</b> <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b> <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b> <b>Est. 302</b></p>	<p><b>PREPARACION DE MEDIO:</b> Sabouraud dextrosa.</p>	<p><b>Código:</b> <b>Revisión: 1</b> <b>Edición: 1</b> <b>Fecha:</b> <b>Página: 1/3</b></p>
<p><b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b></p>			

**PROCEDIMIENTO PARA PREPARACIÓN DEL MEDIO SABOURAUD  
DEXTOSA.**

**Objetivo:** Describir el procedimiento para preparar Agar Sabouraud dextrosa.

**Alcance:** El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para uso del personal de microbiología con la finalidad de instruir sobre el correcto procedimiento y uso del agar para aislar hongos de muestras biológicas.

**Definiciones:** Este medio es una modificación de Carliers de la formulación descrita por Sabouraud para el cultivo de hongos, particularmente útil para los hongos asociados con infecciones de la piel.

**Composición del Agar:**

- Dextrosa 40.000 gr/L
- Micológica, peptona 10.000 gr/L
- Agar 15.000 gr/L
- pH final (a 25°C)  $5.6 \pm 0.2$

**Procedimiento para la preparación del medio:**

1. Se debe suspender 65 gramos del agar en 1000 ml de agua destilada.
2. Se calentará a ebullición para disolver completamente el medio.

	<p style="text-align: center;"> <b>Universidad Nacional de Loja</b>  <b>Facultad de Salud Humana</b>  <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b>  <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b>  <b>Est. 302</b> </p>	<p style="text-align: center;"> <b>PREPARACION DE MEDIO:</b>          Sabouraud dextrosa.       </p>	<p style="text-align: center;"> <b>Código:</b>  <b>Revisión: 1</b>  <b>Edición: 1</b>  <b>Fecha:</b>  <b>Página: 2/3</b> </p>
<b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b>			

3. Posterior se esterilizará en la autoclave a 15 libras de presión (121°C) durante 15 minutos.
4. Se colocará en las cajas monopetri y se dejará enfriar hasta su posterior almacenamiento,

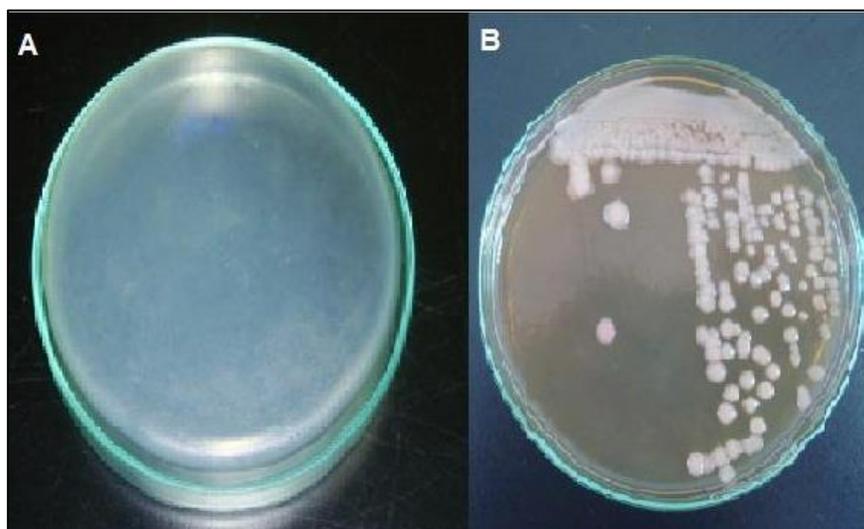
**Precauciones:** No se deben utilizar placas que evidencien contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro. Se deberá cumplir la asepsia y con el adecuado desecho de productos usados.

**Control de calidad:**

- **Aparición:** Es un polvo homogéneo de flujo libre color crema a amarillo.
- **Gelificante:** Es firme, comparable al gel de agar.
- **Color y claridad del medio preparado:** Color ámbar claro y ligeramente opalescente en las placas de Petri.
- **Reacción:** La reacción de solución acuosa al 6,5 % p/v a 25 °C.
- **pH:** 5.40-5.80.

**Resultados:** Si se siembra una muestra sospechosa a las 24 horas de incubación un resultado positivo proyectaría un buen crecimiento y colonias blanquecinas, en caso de ser negativo no hay crecimiento y el medio sería de color ámbar claro.

	<p align="center"> <b>Universidad Nacional de Loja</b>  <b>Facultad de Salud Humana</b>  <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b>  <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b>  <b>Est. 302</b> </p>	<p align="center"> <b>PREPARACION DE MEDIO:</b>          Sabouraud dextrosa.       </p>	<p> <b>Código:</b>  <b>Revisión: 1</b>  <b>Edición: 1</b>  <b>Fecha:</b>  <b>Página: 3/3</b> </p>
<p align="center"><b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b></p>			



**Almacenamiento:** Se almacenarán a una temperatura de 30°C en un recipiente herméticamente cerrado y el medio preparado de 2-8 °C.

**Bibliografía:**

- HiMedia, L. (2011). Sabouraud Dextrose Agar M063 (1-2).

<p><b>Elaborado por:</b></p>	<p>Lia Michelle Palacio L.</p> 
<p><b>Aprobador por:</b></p>	<p>Lcda. Iliana Delgado, Mg. Sc.</p>

	<b>ILIANA ALICIA DELGADO</b> Firmado digitalmente por ILIANA ALICIA DELGADO Fecha: 2022.10.19 15:18:42 -05'00'
--	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Anexo 6 Inserto de medio Agar Sabouraud dextrosa proporcionado por el proveedor.



## Technical Data

### Sabouraud Dextrose Agar

M063

Sabouraud Dextrose Agar is used for the cultivation of yeasts, moulds and aciduric bacteria.

#### Composition\*\*

Ingredients	Gms / Litre
Dextrose	40.000
Mycological peptone	10.000
Agar	15.000
Final pH ( at 25°C)	5.6±0.2

\*\*Formula adjusted, standardized to stat performance parameters

#### Directions

Suspend 65 grams in 1000 ml distilled water. Heat to boiling to dissolve the medium completely. Sterilize by autoclaving at 15 lbs pressure (121°C) for 15 minutes.

#### Principle And Interpretation

Sabouraud Dextrose Agar is Carlem modification (1) of the formulation described by Sabouraud (2) for the cultivation of fungi (yeasts, moulds), particularly useful for the fungi associated with skin infections. This medium is also employed to determine microbial contamination in food, cosmetics, and clinical specimens (3).

Mycological peptone provides nitrogenous compounds. Dextrose provides an energy source. High dextrose concentration and low pH favours fungal growth and inhibits contaminating bacteria from test samples (4).

Some pathogenic fungi may produce infective spores which are easily dispersed in air, so examination should be carried out in safety cabinet. For heavily contaminated samples, the plate must be supplemented with inhibitory agents for inhibiting bacterial growth with lower pH.

#### Quality Control

##### Appearance

Creans to yellow homogeneous free flowing powder

##### Gelling

Firm, comparable with 1.5% Agar gel

##### Colour and Clarity of prepared medium

Light amber coloured clear to slightly opalescent gel forms in Petri plates

##### Reaction

Reaction of 6.5% w/v aqueous solution at 25°C .

##### pH

5.40-5.80

##### Cultural Response

Growth Promotion was carried out in accordance with the (USP:EP:BP:JP), after an incubation at 20-25 °C for 24-48 hours.Recovery rate is considered as 100% for bacteria growth on Soybean Casein Digest Agar and fungus growth on Sabouraud Dextrose Agar

##### Growth Promotion Test

Growth Promotion was carried out in accordance with the harmonized method of ICH (USP:EP:BP:JP), after an incubation at 30-35 °C for 24-48 hours.Recovery rate is considered as 100% for bacteria growth on Soybean Casein Digest Agar and fungus growth on Sabouraud Dextrose Agar

Please refer disclaimer Overleaf.

**Cultural Response**

Organism	Inoculum (CFU)	Growth	Observed Lot value (CFU)	Recovery
<b>Cultural Response</b>				
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	50-100	luxuriant	35-100	≥70%
* <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	50-100	luxuriant	50-100	≥70%
<i>Candida albicans</i> ATCC 2091	50-100	luxuriant	35-100	≥70%
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9783	50-100	luxuriant	35-100	≥70%
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	50-100	luxuriant	35-100	≥70%
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	50-100	luxuriant	35-100	≥70%
<i>Escherichia coli</i> NCTC 9002	50-100	luxuriant	35-100	≥70%
<i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 28191		luxuriant		
<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 334	50-100	luxuriant	35-100	≥70%

\*Key: Formerly known as *Aspergillus niger*

**Storage and Shelf Life**

Store below 30°C in a tightly closed container and the prepared medium at 2 - 8°C. Use before expiry date on the label.

**Reference**

1. Corlier G. I. M., 1948, Brit. J. Derm. Syph., 60:61.
2. Sabouraud K., 1902, Ann. Dermatol. Syphilis, 3:1061.
3. Bacteriological Analytical Manual, 8th Edition, Revision A, 1998. AOAC, Washington D.C.
4. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, White

Revision : 1 / 2011



**Disclaimer :**

User must ensure suitability of the product(s) in their application prior to use. Products conform solely to the information contained in this and other related Himedia™ publications. The information contained in this publication is based on our research and development work and is to the best of our knowledge true and accurate. Himedia™ Laboratories Pvt Ltd reserves the right to make changes to specifications and information related to the products at any time. Products are not intended for human or animal or therapeutic use but for laboratory, diagnostic, research or further manufacturing use only, unless otherwise specified. Statements contained herein should not be considered as a warranty of any kind, expressed or implied, and no liability is accepted for infringement of any patents.

Himedia Laboratories Pvt. Ltd. A-516, Swastik Datta Business Park, Via Vadhani Ind. Est., LRS Marg, Mumbai-400086, India. Customer care No.: 022-61671919 Email: techhelp@himedia.co.in

 <p>1859</p>	<p><b>Universidad Nacional de Loja</b> <b>Facultad de Salud Humana</b> <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b> <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b> <b>Est. 302</b></p>	<p><b>PREPARACIÓN DE MEDIO:</b> <b>CHROMAgar</b></p>	<p><b>Código:</b> <b>Revisión: 1</b> <b>Edición: 1</b> <b>Fecha:</b> <b>Página: 1/3</b></p>
<p><b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b></p>			

## PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACIÓN DEL MEDIO CHROMAgar

**Objetivo:** Describir el procedimiento para preparar Agar CHROMAgar.

**Alcance:** El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para uso del personal de microbiología con la finalidad de instruir sobre el correcto procedimiento y uso del agar para la identificación de especies de *Candida* en muestras biológicas.

**Definiciones:** Este Agar es una formulación cromógena alternativa a los medios tradicionales para la detección y aislamiento de *Candida spp.*

### Composición del Agar:

- Glucosa 20.00 gr/L
- Mezcla Cromógena 0.40 gr/L
- Peptone 10.00 gr/L
- Agar bacteriológico 15.00 gr/L
- Clorafenicol 0.50 gr/L
- pH final 6.1 0.2 a 25°C

### Procedimiento:

1. Suspender 45,9 gramos del medio en un litro de agua destilada.
2. Se mezclará bien y se disolverá por calentamiento con agitación frecuente.

	<p align="center"> <b>Universidad Nacional de Loja</b>  <b>Facultad de Salud Humana</b>  <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b>  <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b>  <b>Est. 302</b> </p>	<p align="center"> <b>PREPARACION DE MEDIO:</b>  <b>CHROMAgar</b> </p>	<p> <b>Código:</b>  <b>Revisión: 1</b>  <b>Edición: 1</b>  <b>Fecha:</b>  <b>Página: 2/3</b> </p>
<p align="center"><b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b></p>			

3. Se dejará hervir durante un minuto hasta la disolución completa, se evitará el sobrecalentamiento, NO AUTOCLAVE.
4. Dispensar en platos Petri.

**Precauciones:** No se deben utilizar placas que evidencien contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro. Se deberá cumplir la asepsia y con el adecuado desecho de productos usados.

**Control de calidad:** Realizar el control de calidad de acuerdo con la utilización del medio se puede aislar cepas ATCC y se verificará el color que proyecten.

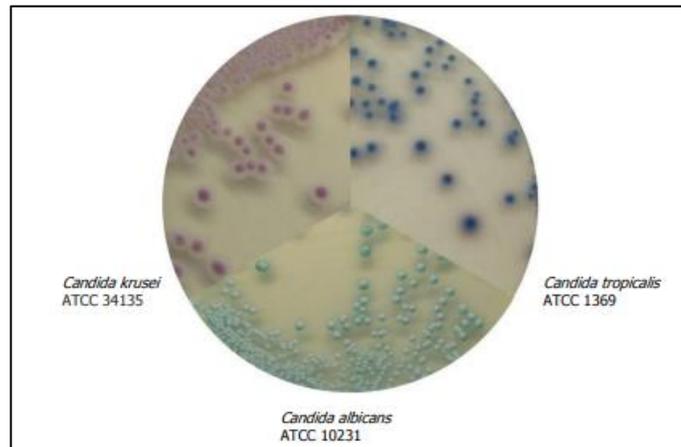
**Resultados:** Los resultados serán reportados después de 48 horas de incubación siguiendo la siguiente tabla:

<b>Microorganismo</b>	<b>Crecimiento</b>	<b>Color de la colonia</b>
<i>Candida tropicalis</i>	Bueno	Azul
<i>Candida albicans</i>	Bueno	Verde
<i>Candida krusei</i>	Bueno	Purpura-Rosa
<i>Candida</i>	Bueno	Blanco claro-

<i>parasitosis</i>		Purpura
<i>Candida</i>	Bueno	Blanco claro-
<i>glabrata</i>		Purpura

**Realizado por:** Lia Michelle Palacio L. **Fuente:** Conda, L (2014)

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico Calles Manuel Monteros 072-571579 Est. 302</p>	<p><b>PREPARACION DE MEDIO:</b> CHROMAgar</p>	<p><b>Código:</b> <b>Revisión: 1</b> <b>Edición: 1</b> <b>Fecha:</b> <b>Página: 3/3</b></p>



**Almacenamiento:** Se mantendrá sellado correctamente el medio en polvo con el fin de evitar la hidratación de este, ya preparados los medios se almacenarán a una temperatura de 8-15°C.

**Bibliografía:**

- Conda, L. (2014). Candida. Micro & Molecular Biología, 1–2.

<b>Elaborado por:</b>	Lia Michelle Palacio
-----------------------	----------------------

	L. 
<b>Aprobador por:</b>	Lcda. Iliana Delgado, Mg. Sc. 

Anexo 8 Inserto de CHROMagar-Candida proporcionado por proveedor.



**CANDIDA CHROMOGENIC AGAR**

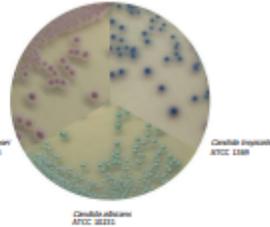
**CAT Nº: 1382**

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

**FORMULA IN g/l**

Glucose	20.00	Chromogenic Mixture	0.40
Peptone	10.00	Bacteriological Agar	15.00
Chloramphenicol	0.50		

**Final pH 6.1 ± 0.2 at 25°C**



**PREPARATION**

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

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

**USES**

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

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

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

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

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

1

LABORATORIOS CONDA, S.A.

[www.condalab.com](http://www.condalab.com)

#### MICROBIOLOGICAL TEST

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

Microorganism	Growth	Colony Color
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 13619	Good	Blue
<i>Candida albicans</i> ATCC 900261	Good	Green
<i>Candida krusei</i> ATCC 34135	Good	Purple-Pink
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	Good	Light White - Purple
<i>Candida glabrata</i> ATCC 30311	Good	Light White - Purple

#### BIBLIOGRAPHY

- Sheehan, D.J. et. al.(1999) Current and Emerging Azole Antifungal Agents Clinical Microbiology Reviews, 12 (1): 40-79  
 Odds, F.C. (1988) *Candida and candidosis*, 2nd ed, Baillière Tindall, London, England.  
 Ibrahim E.H. et al. (2005) The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting. *Chest*, 118 (1): 146-55



#### STORAGE

Once opened keep powdered medium closed to avoid hydration.



*Anexo 9 Protocolo para preparar medio Müller hinton.*

 <p><b>Universidad Nacional de Loja</b> <b>Facultad de Salud Humana</b> <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b> <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b> <b>Est. 302</b></p>	<p><b>PREPARACION DE MEDIO:</b> Müller hinton</p>	<p><b>Código:</b> <b>Revisión: 1</b> <b>Edición: 1</b> <b>Fecha:</b> <b>Página: 1/3</b></p>
		<p><b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b></p>

**PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACIÓN DEL MEDIO MUELLER HINTON  
SUPLEMENTADO CON GLUCOSA Y AZUL DE METILENO.**

**Objetivo:** Preparación del medio Mueller Hinton con el fin de ser utilizado para la medir la susceptibilidad de los agentes fúngicos utilizando discos antifúngicos.

**Alcance:** El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para uso del personal de microbiología con la finalidad de instruir sobre el correcto procedimiento y uso del agar para medir la susceptibilidad de los agentes fúngicos frente a discos antifúngicos.

**Definiciones:** Este medio es un tipo de prueba de susceptibilidad para predecir a través de una evaluación in vitro la probabilidad de tratar con éxito la infección de un paciente con un agente antimicrobiano particular.

**Composición del Agar:**

- Hidrolizado de ácido de caseína 17.500 gr/L
- Infusión de corazón de ternera 2.000 gr/L
- Almidón soluble 1.500 gr/L
- Agar 17.000 gr/L
- pH final (a 25 °C)  $7.3 \pm 0.2$
- Solución madre de glucosa al 40%.
- Solución azul de metileno (5 mg/ml).

	<p align="center"> <b>Universidad Nacional de Loja</b>  <b>Facultad de Salud Humana</b>  <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b>  <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b>  <b>Est. 302</b> </p>	<p align="center"> <b>PREPARACION DE MEDIO:</b>  Müller hinton </p>	<p> <b>Código:</b>  <b>Revisión: 1</b>  <b>Edición: 1</b>  <b>Fecha:</b>  <b>Página: 2/3</b> </p>
<p align="center"><b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b></p>			

**Procedimiento:**

1. Se debe suspender 38 gramos del agar en 1000 ml de agua destilada.
2. Se debe suspender 20 gramos de solución madre de glucosa en 1000 ml de agua destilada.
3. Se deberá suspender 100 microlitros de solución de azul de metileno en 1000 ml de agua de destilada.
4. Se calentará hasta ebullición para disolver completamente el medio.
5. Se esterilizar en autoclave a 15 libras de presión (121°C) durante 15 minutos.
6. Se mezclarán y se dejará dosificar según se desee en las cajas Petri.

**Precauciones:** No se deben utilizar placas que evidencien contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro. Se deberá cumplir la asepsia y con el adecuado desecho de productos usados.

**Control de calidad:**

- **Aparición:** Es un polvo homogéneo de flujo libre color crema a amarillo.
- **Gelificante:** Es firme, comparable al gel de agar.
- **Reacción:** La reacción de solución acuosa al 3,8 % p/v a 25 °C.
- **pH:** 7.10-7.50

**Almacenamiento:** Se conservará a una temperatura por debajo de 30 °C en un recipiente bien cerrado y el medio preparado a 2-8 °C.

	<p align="center"> <b>Universidad Nacional de Loja</b>  <b>Facultad de Salud Humana</b>  <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b>  <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b>  <b>Est. 302</b> </p>	<p align="center"> <b>PREPARACION DE MEDIO:</b>  Müller hinton </p>	<p> <b>Código:</b>  <b>Revisión: 1</b>  <b>Edición: 1</b>  <b>Fecha:</b>  <b>Página: 3/3</b> </p>
<p align="center"><b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b></p>			

**Bibliografía:**

- HiMedia, L. (2011). Mueller Hinton Agar No. 2.
- Pemán, J., Martín-Mazuelos, E., y Rubio Calvo, Ma. C. (2010). Identificación y diagnóstico en micología clínica guía práctica. Revista Iberoamericana de Micología.

<p align="center"><b>Elaborado por:</b></p>	<p align="center">Lia Michelle Palacio L.</p> 
<p align="center"><b>Aprobador por:</b></p>	<p align="center">Lcda. Iliana Delgado, Mg. Sc.</p> 

## Anexo 10 Inserto del medio Agar Müller hinton.



## Technical Data

### Mueller Hinton Agar No. 2

M1084

Mueller Hinton Agar No. 2 is used for testing susceptibility of common and rapidly growing bacteria using antimicrobial discs by the Bauer - Kirby method. Manufactured to contain low levels of thymine, thymidine, calcium and magnesium.

#### Composition\*\*

Ingredients	Gms / Litre
Casein acid hydrolysate	17.500
Beef heart infusion	2.000
Starch, soluble	1.500
Agar	17.000
Final pH ( at 25°C)	7.3±0.2

\*\*Formula adjusted, standardized to suit performance parameters

#### Directions

Suspend 38 grams in 1000 ml distilled water. Heat to boiling to dissolve the medium completely. Sterilize by autoclaving at 15 lbs pressure (121°C) for 15 minutes. Mix well and dispense as desired.

#### Principle And Interpretation

The goal of susceptibility test is to predict through an in vitro assessment the likelihood of successfully treating a patient's infection with a particular antimicrobial agent (1). The Mueller Hinton formulation was originally developed as a simple, transparent agar medium for the cultivation of pathogenic *Neisseria* species (2). Other media were subsequently developed that replaced the use of Mueller Hinton Agar for the cultivation of pathogenic *Neisseria* species, but it became widely used in the determination of sulfonamide resistance of gonococci and other organisms. Mueller Hinton Agar is now used as a test medium for antimicrobial susceptibility testing (3). Mueller Hinton Agar is recommended for the diffusion of antimicrobial agents impregnated on paper disc through an agar gel as described in NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), now CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) Approved Standard (4). Mueller Hinton Agar has been selected by the CLSI for several reasons: i. It demonstrates good batch-to-batch reproducibility for susceptible testing. ii. It is low in sulfonamide, trimethoprim and tetracycline inhibitors. iii. It supports the growth of most non-fastidious bacterial pathogens and iv. Many data and much experience regarding its performance have been recorded (1). Mueller Hinton Agar No. 2 is used in the susceptibility testing of rapidly growing aerobic and facultatively anaerobic bacteria from clinical specimens. Kirby-Bauer et al recommended this medium for performing antibiotic susceptibility tests using a single disc of high concentration (5). WHO Committee on Standardization of Susceptibility Testing has accepted Mueller Hinton Agar for determining the susceptibility of microorganisms because of its reproducibility (6). The medium is designed to give a low thymine and thymidine content and also the calcium and magnesium ion concentration is adjusted as recommended by CLSI (3). The medium is not recommended for fastidious organisms. Thymine and thymidine inhibit sulfonamide and trimethoprim (9,10) activity and calcium and magnesium (11,12) interferes with the activity of aminoglycoside antibiotics. Beef heart infusion and casein acid hydrolysate provide nitrogenous compounds, carbon, sulphur and other essential nutrients. Starch acts as a protective colloid against toxic substances present in the medium. Starch hydrolysis yields dextrose, which serves as a source of energy. These ingredients are selected for low thymine and thymidine content as determined by MIC values for *Enterococcus faecalis* with sulfamethoxazole trimethoprim (SXT). Calcium and magnesium ion concentrations are adjusted to provide the amounts recommended by CLSI to give the correct MIC values with aminoglycosides and *Pseudomonas aeruginosa* (3) The Kirby-Bauer procedure is based on agar diffusion of antimicrobial substances impregnated on paper discs. This method employs disc with a single concentration of antimicrobial agent and the zone diameters observed are correlated with minimum inhibitory concentration (MIC) values (2, 3, 7). A standardized suspension of the organism is swabbed over the entire surface of the medium. Paper discs impregnated with specific amounts of antimicrobial agents are then placed on the surface of the medium, incubated and zones of inhibition around each disc are measured. The susceptibility is determined

Please refer disclaimer Overleaf.

by comparing with CLSI standards (8). The various factors, which influence disc diffusion susceptibility tests, are agar depth, disc potency, inoculum concentration, pH of the medium and beta-lactamase production by test organisms (1,8).

**Quality Control**

**Appearance**

Cream to yellow homogeneous free flowing powder

**Gelling**

Firm, comparable with 1.7% agar gel.

**Colour and Clarity of prepared medium**

Light amber coloured clear to slightly opalescent gel forms in Petri plates

**Reaction**

Reaction of 3.8% w/v aqueous solution at 25°C. pH : 7.3±0.2

**pH**

7.10-7.50

**Cultural Response**

Cultural characteristics observed after an incubation at 35 - 37°C for 18 - 24 hours.

Organism	Inoculum (CFU)	Growth	Recovery
<b>Cultural Response</b>			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	50-100	luxuriant	>=70%
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 49247	50-100	good-luxuriant (on Mueller Hinton Chocolate Agar)	>=70%
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 49226	50-100	luxuriant	>=70%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	50-100	luxuriant	>=70%
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	50-100	luxuriant	>=70%
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	50-100	luxuriant	>=70%
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	50-100	luxuriant (on Mueller Hinton Blood Agar)	>=70%

**Storage and Shelf Life**

Store below 30°C in tightly closed container and the prepared medium at 2-8°C. Use before expiry date on the label.

**Reference**

- Murray P. R., Baron J. H., Pfaller M. A., Tenover J. C. and Tenover F. C., (Eds), 2003, Manual of Clinical Microbiology, 8th Ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Mueller J. H. and Hinton J., 1941, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 48:330.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2000, Approved Standard: M7-A5. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that grow aerobically, 5th Ed., NCCLS, Wayne, Pa.
- NCCLS Approved Standard: ASM-2, 1979, Performance Standards for Antimicrobial disc Susceptibility Tests, 2nd Ed., National Committee for Clin. Lab. Standards.
- Bauer A. W., Kirby W. M., Sherris J. L. and Tenover F. C., 1966, Am. J. Clin. Pathol., 45:493.
- Present Status and Future Work, WHO Sponsored collaborative study, Chicago, Oct. 1967.
- Erickson H. M. and Sherris J. L., 1971, Acta Pathol. Microbiol., Scand. Sect B Suppl., 217:1.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986, Proposed Standards, M6-P, NCCLS, Villanova, Pa.
- Koch A. E. and Burchall J. J., 1971, Appl. Microbiol., 22: 812.
- Ferone R., Bushby R. M., Burchall J. J., Moore W. D., Smith D., 1975, Antimicrob. Agents chemotherap., 7 : 91.
- Pollock H. M., Minshew B. H., Kenney M. A., Schoenkecht F. D., 1978, Antimicrob. Agents Chemotherap.; 14:360.
- D'Amato R. F., and Thornberry C., 1979, Curr. Microbiol., 2 : 135.

Please refer disclaimer Overleaf.

*Anexo II Formato de registro de temperatura de refrigerador e incubadora.*

 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA LABORATORIOS DE DOCENCIA DE FSH CARRERA DE LABORATORIO CLINICO LOJA-ECUADOR Calle Manuel Monteros Telf: 072 57 13 79 1859</p>	REGISTRO DE TEMPERATURA DEL CONGELADOR		CODIGO: LCL-PNT-01
			Version: 1

### REGISTRO DE TEMPERATURA DEL CONGELADOR

MES	RANGO (4-8°)																																
	DIA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
MAÑANA 	HORA																																
																																	
TARDE 	HORA																																
																																	
RESPONSABLE:	LCDA. ILIANA DELGADO <i>Mg.Sc.</i>		FIRMA:																														
ELABORADO POR:	LIA MICHELLE PALACIO LAPO																																

**INSTRUCCIONES**

- Se registra hora y temperatura del día correspondiente
- Si se encuentra temperatura mayor a 8 °C registrar con color **ROJO** e informar inmediatamente a mantenimiento
- Si se presenta temperatura 7- 8 °C se debe colocar paqueterías frías al interior del refrigerador y no abrir hasta que la temperatura descienda
- Cuando no exista energía eléctrica no abrir el refrigerador.

Anexo 12 Formato de registro de temperatura de la incubadora.

 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA LABORATORIOS DE DOCENCIA DE FSH CARRERA DE LABORATORIO CLINICO LOJA-ECUADOR Calle Manuel Moreno Telf: 072 571 1379</p>	<p>REGISTRO DE TEMPERATURA LA INCUBADORA</p>		<p>CODIGO: I.CL.PVT-02</p>
			<p>Version: 2</p>

**REGISTRO DE TEMPERATURA DE LA INCUBADORA**

MAYANA	TARDE	MES																																
		RANGO (35 + -1)																																
MANANA	TARDE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31		
 HORA 	 HORA 																																	
		FIRMA:																																
RESPONSABLE:		LCDA. ILIANA DELGADO																																
		Me.Sc																																
ELABORADO POR:		LIA MICHELLE PALACIO																																
		LAPO																																

**Anexo 13** Protocolo para realizar control de calidad de cepa conocida de *Candida*.

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico Calles Manuel Monteros 072-571579 Est. 302</p>	<p><b>PROTOCOLO</b> <b>PARA:</b> reconstitución de cepa conocida de <i>Candida</i></p>	<p><b>Código:</b> <b>Revisión: 1</b> <b>Edición: 1</b> <b>Fecha:</b> <b>Página: 1/2</b></p>
		<p><b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b></p>

**PROCEDIMIENTO PARA REALIZAR CONTROL DE CALIDAD CON CEPA  
CONOCIDA DE *CANDIDA*.**

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

**Alcance:**

**Principio:** Los medios de cultivo son una herramienta fundamental en lo que es el análisis microbiológico, por lo cual al realizar lo que son controles de calidad de los medios preparados es vital, esto con el fin de verificar si estos cumplen con sus especificaciones y si las técnicas aplicadas en su preparación son las correctas.

**Materiales:**

- Cepa control: *Candida albicans* (ATTC 90028).
- Medio Agar Sabouraud.
- Medio CHROMagar-*Candida*.

Medio Müller hinton suplementado.

- Discos antimicóticos.
- Asa de siembra.
- Lámpara de alcohol.
- Densitómetro.

	<p align="center"> <b>Universidad Nacional de Loja</b>  <b>Facultad de Salud Humana</b>  <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b>  <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b>  <b>Est. 302</b> </p>	<p align="center"> <b>PROTOCOLO</b>  <b>PARA:</b> reconstitución  de cepa conocida de  <i>Candida</i> </p>	<p> <b>Código:</b>  <b>Revisión: 1</b>  <b>Edición: 1</b>  <b>Fecha:</b>  <b>Página: 2/2</b> </p>
<p align="center"><b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b></p>			

- Incubadora.

**Procedimiento:**

1. Realizar la resiembra de la cepa control en Agar Sabouraud.
2. Incubar a 35 °C por 24 a 72 horas.
3. Verificar el crecimiento de las colonias de las levaduras.
4. Sembrar en CHROMagar-*Candida* y verificar el color producido por la especie.
5. Realizar inculo a escala 0.5 McFarland y realizar siembra en la placa de Muller hinton uniformemente.
6. Aplicar discos antimicóticos.

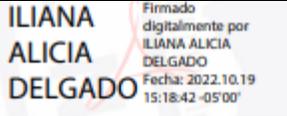
**Resultados:**

- **CHROMagar-*Candida*:** Color verde, *Candida albicans*:
- **Antibiograma:** Debe presentar sensibilidad a los discos testeados, diámetro de fluconazole (28-39 mm) y el diámetro de voriconazole (31-42 mm)

**Referencia bibliográfica:**

- MediMark. (2021). Instrucciones de uso previsto.
- Pemán, J., Martín-Mazuelos, E., y Rubio Calvo, Ma. C. (2010). Identificación y diagnóstico en micología clínica guía práctica. Revista Iberoamericana de Micología.

<p align="center"><b>Elaborado por:</b></p>	<p align="center">Lia Michelle Palacio</p> <p>L. </p>
<p align="center"><b>Aprobador por:</b></p>	<p align="center">Lcda. Iliana Delgado, Mg. Sc.</p>

	 <p>Firmado digitalmente por ILIANA ALICIA DELGADO Fecha: 2022.10.19 15:18:42 -05'00'</p>
--	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

*Anexo 14 Protocolo para aislamiento del agente fúngico de las muestras de secreción vaginal en medio Sabouraud dextrosa.*

	<b>Universidad Nacional de Loja</b> <b>Facultad de Salud Humana</b> <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b> <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b> <b>Est. 302</b>	<b>AISLAMIENT O DEL AGENTE FÚNGICO</b>	<b>Código:</b> <b>Revisión: 1</b> <b>Edición: 1</b> <b>Fecha:</b> <b>Página: 1/2</b>
<b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b>			

## AISLAMIENTO DEL AGENTE FÚNGICO DE LA MUESTRA DE SECRECIÓN VAGINAL

**Objetivo:** Inocular la muestra biológica de secreción vaginal en el agar sabouraud dextrosa para la identificación posterior.

**Alcance:** El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para uso del personal de microbiología con la finalidad de instruir sobre el correcto sembrado.

**Principio:** El aislamiento consiste en la separación de un determinado microorganismo del resto de microorganismos que lo acompañan, la diferenciación de los microorganismos va a depender del aspecto de la colonia, su coloración, tamaño, etc.

**Materiales:**

- Hisopos estériles
- Medios de cultivo
- Cámara de bioseguridad
- Incubadora

**Procedimiento:**

 <p>1859</p>	<p><b>Universidad Nacional de Loja</b> <b>Facultad de Salud Humana</b> <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b> <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b> <b>Est. 302</b></p>	<p><b> AISLAMIENT O DEL AGENTE FÚNGICO</b></p>	<p><b>Código:</b> <b>Revisión: 1</b> <b>Edición: 1</b> <b>Fecha:</b> <b>Página: 2/2</b></p>
<p><b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b></p>			

1. Ya con las muestras de secreción vaginal se realizará lo que es un extendido de las mismas en cada medio con ayuda del hisopo estéril, realizando un extendido desde el borde del medio para luego ser extendido.
2. Se desechará el material utilizado y se proseguirá a incubar las placas en atmósfera aerobia a  $35 \pm 2$  °C durante 20 – 48 h en posición invertida.
3. Al finalizar este tiempo de incubación se reportan resultados.

**Interpretación de resultados:** Finalizado el tiempo de incubación se observará si existió el crecimiento y se realizara la identificación del hongo (u hongos) aislados de colonias claramente definidas. Positivo cuando crecen las colonias y negativo cuando no hay crecimiento, sin embargo, su confirmación será al realizar un análisis en fresco de las colonias que han crecido si existe presencia de hongos se prosigue a tipificar y a determinar su susceptibilidad.

**Referencia bibliográfica:**

- Romero, M., Sánchez, O., Luis, J., Flores, C., Estrada, U., González, H., Isabel, S., Romero, A., de Jesús, J., y Ávila, C. (2018). Aislamiento de microorganismos de casos clínicos de infección vaginal y su susceptibilidad antibacteriana 38 (1).

<b>Elaborado por:</b>	Lia Michelle Palacio L. 
<b>Aprobador por:</b>	Lcda. Iliana Delgado, Mg. Sc. 

*Anexo 15* Protocolo para realizar cultivo de colonias aisladas de *Candida* en medio CHROMagar-*Candida*.

 <p>1859</p>	<p><b>Universidad Nacional de Loja</b> <b>Facultad de Salud Humana</b> <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b> <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b> <b>Est. 302</b></p>	<p><b>TIPIFICACIÓN DEL GÉNERO CANDIDA</b></p>	<p><b>Código:</b> <b>Revisión: 1</b> <b>Edición: 1</b> <b>Fecha:</b> <b>Página: 1/2</b></p>
<p><b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b></p>			

**TIPIFICACIÓN DEL GÉNERO CANDIDA DE MUESTRAS DE SECRECIÓN**

**VAGINAL**

**Objetivo:** Reconocer y reportar las especies de *Candida*.

**Alcance:** El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para uso del personal de microbiología con la finalidad de instruir sobre el correcto sembrado.

**Principio:** La tipificación se basa en la detección de determinadas actividades enzimáticas por parte de las levaduras mediante la hidrólisis específica de un sustrato cromogénico en presencia de un indicador de la enzima.

**Materiales y Equipos:**

- Hisopos estériles
- Medios de cultivo
- Cámara de bioseguridad
- Incubadora

**Procedimiento:**

1. Se seleccionará una colonia pura de del medio Agar Sabouraud.

2. Con un hisopo estéril se tomará dicha colonia identificada y se realizará un extendido en la superficie del medio CHROMagar-*Candida*.
3. Se desechará el material utilizado y se proseguirá a incubar las placas en atmósfera aerobia a  $35 \pm 2$  °C durante 20 – 48 h en posición invertida.

	<p align="center"> <b>Universidad Nacional de Loja</b>  <b>Facultad de Salud Humana</b>  <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b>  <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b>  <b>Est. 302</b> </p>	<p align="center"> <b>TIPIFICACIÓN DEL GÉNERO CANDIDA</b> </p>	<p> <b>Código:</b>  <b>Revisión: 1</b>  <b>Edición: 1</b>  <b>Fecha:</b>  <b>Página: 2/2</b> </p>
<p align="center"><b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b></p>			

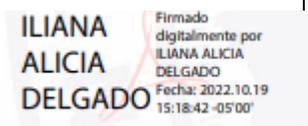
4. Al finalizar este tiempo de incubación se reportan resultados.

**Interpretación de resultados:** Las colonias presentarán un color verde de claro a mediano (*C. albicans*), rosado claro a rosa con un borde blancuzco (*C. krusei*) o bien azul verdoso a azul metálico con o sin halos violetas (*C. tropicalis*). Otras especies de *Candida* y otras levaduras presentan un color malva de claro a oscuro (rosado a violeta).

**Referencia bibliográfica:**

- Zaror, L., & Valdevenito, M. (2018). Tipificación de cepas de *Candida*. Boletín Micológico, Vol. 7. <https://doi.org/10.22370/bolmicol.1992.7.0.128>

<p align="center"><b>Elaborado por:</b></p>	<p align="center">Lia Michelle Palacio</p> <p align="center">L.</p> 
<p align="center"><b>Aprobador por:</b></p>	<p align="center">Lcda. Iliana Delgado,</p>

	Mg. Sc.  
--	---------------------------------------------------------------------------------------------------

*Anexo 16* Protocolo para realización de antifungigrama para determinar la susceptibilidad de las especies identificadas.

	<b>Universidad Nacional de Loja</b> <b>Facultad de Salud Humana</b> <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b> <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b> <b>Est. 302</b>	<b>ANTIFUNGIGRAMA</b>  <b>RAMA</b>	<b>Código:</b> <b>Revisión: 1</b> <b>Edición: 1</b> <b>Fecha:</b> <b>Página: 1/3</b>
<b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b>			

**ANTIFUNGIGRAMA PARA MEDIR LA SUSCEPTIBILIDAD DE LAS ESPECIES IDENTIFICADAS**

**Objetivo:** Interpretar la sensibilidad, intermedio y resistencia de *Candida spp.* identificadas frente a los antifúngicos testados.

**Alcance:** El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para uso del personal de microbiología con la finalidad de instruir sobre el correcto sembrado.

**Principio:** Los antifungigramas permiten conocer la actividad in vitro de los antifúngicos para así pronosticar el resultado terapéutico de determinado tratamiento antifúngico.

**Materiales y Equipos:**

- Hisopos estériles
- Medios de cultivo
- Discos para antifungigrama
- Cámara de bioseguridad
- Incubadora
- Agua destilada estéril

- Densitómetro
- Pinzas
- Lámpara de alcohol

	<p align="center"> <b>Universidad Nacional de Loja</b>  <b>Facultad de Salud Humana</b>  <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b>  <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b>  <b>Est. 302</b> </p>	<p align="center"> <b>ANTIFUNGIG</b>  <b>RAMA</b> </p>	<p> <b>Código:</b>  <b>Revisión: 1</b>  <b>Edición: 1</b>  <b>Fecha:</b>  <b>Página: 2/3</b> </p>
<p align="center"><b>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</b></p>			

**Procedimiento:**

1. Se seleccionará una colonia pura de del medio Agar Sabouraud, con un hisopo estéril se tomará dicha colonia identificada y se realizará el inóculo a escala de 0.5 McFarland.
2. Con un hisopo estéril se sumergirá en la suspensión del inóculo y se realizará la siembra en toda la placa.
3. Se dejará secar la placa de 3-5 min y se aplicarán los discos los cuales tendrán que ser colocados dejando el espacio correspondiente de un cm.
4. Se desechará el material utilizado y se proseguirá a incubar las placas en atmósfera aerobia a  $35 \pm 2$  °C durante 20 – 48 h en posición invertida.
5. Al finalizar este tiempo de incubación se reportan resultados.

**Interpretación de resultados:** Para la interpretación de resultados, se tendrá que medir el diámetro de los halos formados tomando en cuenta a que antifúngicos se presentaran sensibles, intermedios o resistentes, según el manual del CLSI.

**Resultados:** Debemos dirigirnos con el manual de CLSI para la interpretación de los punto de corte de sensibilidad, intermedio y resistente, de acuerdo con el antifúngico testado.

Antifúngico	Carga del disco	Diámetro (mm)			CMI ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		R	S-DD	S	R	S-DD	S
Fluconazol	25 $\mu\text{g}$	$\leq 14$	15 - 18	$\geq 19$	$\geq 64$	16 - 32	$\leq 8$
Voriconazol	1 $\mu\text{g}$	$\leq 13$	14 - 16	$\geq 17$	$\geq 4$	2	$\leq 1$
Caspofungina	5 $\mu\text{g}$	$\leq 10^*$	–	$\geq 11$	$> 2^*$	–	$\leq 2$

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

 <p><b>Universidad Nacional de Loja</b>  <b>Facultad de Salud Humana</b>  <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b>  <b>Calles Manuel Monteros 072-571579</b>  <b>Est. 302</b></p>	<p><b>ANTIFUNGIG</b>  <b>RAMA</b></p>	<p><b>Código:</b>  <b>Revisión: 1</b>  <b>Edición: 1</b>  <b>Fecha:</b>  <b>Página: 3/3</b></p>

**Referencia bibliográfica:**

- Castro Méndez, C., García Sánchez, E., & Martín-Mazuelos, E. (2019). Actualización de las pruebas de susceptibilidad antifúngica in vitro. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 37, 32–39. [https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(19\)30180-6](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(19)30180-6)
- Pemán, J., Martín-Mazuelos, E., y Rubio Calvo, Ma. C. (2010). Identificación y diagnóstico en micología clínica guía práctica. *Revista Iberoamericana de Micología*.

<p><b>Elaborado por:</b></p>	<p>Lia Michelle Palacio</p> <p>L.</p> 
<p><b>Aprobador por:</b></p>	<p>Lcda. Iliana Delgado,</p> <p>Mg. Sc.</p>

	<p><b>ILIANA ALICIA DELGADO</b></p> <p>Firmado digitalmente por ILIANA ALICIA DELGADO Fecha: 2022.10.19 15:18:42 -05'00'</p>
--	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

*Anexo 17 Oficio de estructura y coherencia.*

Of. Nro. 2022-00157-CLC-FSH-UNL  
Loja, 08 de febrero de 2022

Señorita  
Lía Michelle Palacio Lapo  
**ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA FACULTAD DE LA SALUD HUMANA-UNL.**  
Ciudad. –

**De mi consideración:**

Por medio del presente, me permito correr traslado el Oficio emitido por la Lic. Iliana Alicia Delgado, docente de la Carrera de Laboratorio Clínico, con respecto a la estructura, coherencia y pertinencia del tema de investigación: **"TIPIFICACIÓN DE CÁNDIDA Y ANTIFUNGIGRAMA EN MUESTRAS DE SECRECIÓN VAGINAL DE PACIENTES EMBARAZADAS QUE ASISTEN AL CENTRO DE SALUD MOTUPE"**, de su autoría, con la finalidad de que se siga el proceso, quedando aprobado el mismo por parte de esta dependencia; y, se continúe con el proceso correspondiente de conformidad a los Art. 225, 226, 227, 228, 229 y 230 del Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja.

Particular que me permito comunicar para fines legales pertinentes.

Atentamente,



Firmado digitalmente por  
**SANDRA  
ELIZABETH  
FREIRE CUESTA**

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

*Anexo 18 Certificado de inglés.*

Lic. Mirian Carmen Sanchez Azuero  
ENGLISH TEACHER

CERTIFICA:

Que el documento aquí compuesto es fiel traducción del idioma español al idioma ingles del resumen de tesis "Tipificación de Candida y antifungigrama en muestras de secreción vaginal de pacientes embarazadas que asisten al Centro de Salud Motupe", autoría de Lia Michelle Palacio Lapo con número de cédula 1106041807, 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, 22 de octubre de 2022



Lic. Mirian Carmen Sanchez Azuero  
1105404386  
ENGLISH TEACHER