



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA RESISTENCIA *IN VITRO* DE
Candida glabrata A FLUCONAZOL EN PACIENTES CON CANDIDIASIS
VULVOVAGINAL RECURRENTE
(Modalidad: Tesis de Grado)

TULIO ERNESTO CORRALES VILLAFañE

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2013

FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA RESISTENCIA *IN VITRO* DE
Candida glabrata A FLUCONAZOL EN PACIENTES CON CANDIDIASIS
VULVOVAGINAL RECURRENTE

APROBADO POR:

Profa. Evis Parra
Asesora

Profa. Sara Centeno
Jurado

Profa. Josefa Díaz
Jurado

DEDICATORIA

A

Dios padre sobre todas las cosas, por guiarme espiritualmente en cada instante de mi vida, y darme la fuerza necesaria para afrontar los retos diarios que el mismo nos coloca.

Mis padres Amelia Villafañe y Tulio Corrales por haberme dado el mejor regalo, la educación, el amor, la comprensión y su gran amistad, y por hacer de mí un buen ser humano.

AGRADECIMIENTOS

A

La profesora Evis Parra, por su excelente desempeño como asesora en este trabajo de investigación, por su comprensión, tolerancia, cariño, interés, entre otras cosas.

El Dr. Venancio Carrera por su ayuda incondicional al momento de la realización de la fase de muestreo.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS	III
ÍNDICE	IV
LISTA DE TABLAS	VI
LISTA DE FIGURAS	VII
RESUMEN	VIII
INTRODUCCIÓN	I
METODOLOGÍA	VII
Muestra poblacional.....	VII
Toma de muestra.....	VII
Criterios de exclusión.....	VII
Normas de bioética	VII
Toma de muestra.....	VIII
Examen directo	VIII
Cultivo	IX
Identificación de levaduras del género Candida	X
Características macroscópicas.....	X
Características microscópicas	X
Pruebas fisiológicas y bioquímicas.....	XI
Determinación de la susceptibilidad a los antifúngicos (azoles)	XII
Técnica	XIII
Cepas de referencia.....	XIII
RESULTADOS.....	XV
DISCUSIÓN	XXII
CONCLUSIONES	XXIX

RECOMENDACIONES	XXX
BIBLIOGRAFÍA	XXXI
ANEXOS	XXXV
APÉNDICES	XXXVII
HOJAS DE METADATOS.....	XLI

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1. Frecuencia de especies del género *Candida* aisladas en pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente y candidiasis vulvovaginal primaria esporádica, provenientes del Hospital de Veteranos “Julio Rodríguez” y el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Octubre - noviembre de 2011..... XVI
- Tabla 2. Perfil fenotípico expresado en las 25 cepas no *albicans* obtenidas de pacientes provenientes de los servicios de ginecología del Hospital de Veteranos “Julio Rodríguez” y el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Octubre - noviembre de 2011..... XVII
- Tabla 3. Resultados de la susceptibilidad a fluconazol de 25 aislamientos de *Candida* no *albicans*, de pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente y candidiasis vulvovaginal primaria esporádica provenientes del Hospital de Veteranos “Julio Rodríguez” y el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Octubre - noviembre de 2011..... XVII
- Tabla 4. Resultados de la susceptibilidad a itraconazol de 25 aislamientos de *Candida* no *albicans*, de pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente y candidiasis vulvovaginal primaria esporádica provenientes del Hospital de Veteranos “Julio Rodríguez” y el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Octubre - noviembre de 2011..... XVIII
- Tabla 5. Resultados de la susceptibilidad a voriconazol de 25 aislamientos de *Candida* no *albicans*, de pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente y candidiasis vulvovaginal primaria esporádica provenientes del Hospital de Veteranos “Julio Rodríguez” y el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Octubre - noviembre de 2011..... XVIII
- Tabla 6. Características clínicas y epidemiológicas, de las pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente y candidiasis vulvovaginal primaria esporádica, provenientes del Hospital de Veteranos “Julio Rodríguez” y el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Octubre - Noviembre de 2011. XIX
- Tabla 7. Características clínicas y epidemiológicas de las pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente por *Candida glabrata*, provenientes del Hospital de Veteranos “Julio Rodríguez” y el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Octubre - noviembre de 2011..... XXI

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Examen directo con solución salina fisiológica estéril (40X): a) leucocitos; b) pseudohifa; c) blastoconidias. IX
- Figura 2. Examen directo con tinción de Gram (100X): a) levaduras, teñidas como estructuras Gram positivas; b) pseudohifas. IX
- Figura 3. Colonias de *Candida glabrata* en agar Sabouraud dextrosa..... X
- Figura 4. Técnica de Dalmau en placa con Corn Meal agar: a) *Candida glabrata*; b) *Candida albicans*; c) *Candida tropicalis*. XI
- Figura 5. Frecuencia de *Candida albicans* y *no albicans* en cultivos positivos de secreción vaginal provenientes del Hospital de Veteranos “Julio Rodríguez” y el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” de Cumaná estado Sucre. Octubre-noviembre de 2011. XV

RESUMEN

Se evaluaron los factores de riesgo asociados a la resistencia *in vitro* de *Candida glabrata* a fluconazol en pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente. Se tomaron 140 muestras de secreción vaginal de pacientes procedentes del área de ginecología del Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá" y el Hospital de Veteranos "Dr. Julio Rodríguez", durante los meses de octubre y noviembre de 2011. Las muestras fueron sembradas en agar Sabouraud dextrosa con antibiótico y las cepas obtenidas fueron identificadas utilizando métodos convencionales como producción de tubo germinal en suero, producción de clamidoconidias en Corn Meal agar (CMA), zimograma, crecimiento a 45°C y antifungigrama. Los resultados de la identificación demostraron que 55,4% de los aislados pertenecieron a *C. albicans*, 30,4% *C. glabrata*, 8,9% *C. tropicalis* y el 5,3% *C. guilliermondii*. En la prueba de susceptibilidad antifúngica, las cepas no *albicans* demostraron resistencia a fluconazol e itraconazol y 100% de sensibilidad a voriconazol. *C. glabrata* fue la especie mayormente aislada en los casos de candidiasis vulvovaginal recurrente. Los síntomas clínicos más resaltantes en este grupo de pacientes fueron: flujo cremoso, prurito y ardor; y entre los factores de riesgo asociados se encontraron la edad, el uso frecuente de antimicrobianos y el uso de dispositivos intrauterinos. Es importante la identificación de la especie, así como, la aplicación de pruebas de susceptibilidad antifúngica, para indicar la terapéutica adecuada y evitar episodios de recurrencia de candidiasis vulvovaginal.

INTRODUCCIÓN

Las especies del género *Candida* son hongos levaduriformes dimórficos, es decir, que pueden encontrarse en dos estados diferentes. Las esporas (blastosporas) constituyen el fenotipo para la extensión, diseminación y transmisión de la especie, representan la forma resistente del hongo y están asociadas con las colonizaciones asintomáticas. Por otro lado, los micelios son las formas germinativas, este fenotipo tiene capacidad invasora tisular y ocasiona la sintomatología propia de la infección (Ferrer, 2000).

Existen más de 100 especies de *Candida* que son patogénicas para los seres humanos, la mayoría de ellas vive como comensal en el tracto gastrointestinal, aparato reproductor y/o en la piel, esperando el momento propicio para que aumente su población y entonces generar molestias. Es decir, son patógenos oportunistas que se hacen evidentes cuando el equilibrio se rompe o altera por algún factor (Gatica *et al.*, 2002).

Las infecciones producidas por especies del género *Candida* ocurren como resultado de alteraciones de la defensa del hospedero, por factores iatrogénicos, luego de la administración de antibióticos de amplio espectro, tratamiento con esteroides, drogas citotóxicas, y enfermedades de base. La candidiasis vulvovaginal (CVV), principalmente ocasionada por la especie *Candida albicans*, ocurre más a menudo en mujeres embarazadas, diabéticas y las que reciben tratamiento antibacteriano y hormonal (Llovera y Perurena, 2004).

Se estima que un 75,0% de las mujeres experimentan al menos un episodio de CVV a lo largo de su vida y de éstas, el 20,0% experimenta un episodio posterior; en otros casos la enfermedad se vuelve crónica, desarrollando candidiasis vulvovaginal recurrente (CVVR), la cual se produce cuando la paciente presenta cuatro o más episodios al año y ocurre en al menos 5,0%

de las mujeres que han experimentado un episodio de candidiasis vulvovaginal primaria esporádica (CVVPE) (Panizo y Reviákina, 2001).

Los factores usualmente identificados como asociados a la infección de la vagina por hongos son el uso de antibióticos de amplio espectro, embarazo, uso de anticonceptivos orales o incluso en algunos trabajos se menciona al uso de dispositivos intrauterinos, como factor asociado. También la diabetes y las infecciones por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) deben de ser consideradas dentro de este grupo. La razón de esta asociación está bien determinada en el caso de la diabetes, ya que es bien conocido que la glucosa en las secreciones vaginales se encuentra incrementada y esta condición predispone el crecimiento y la adhesión de la *Candida*, sobreviniendo la infección (Padilla y Lobos, 2007).

Se considera que los estrógenos aumentan la adherencia de *Candida* sp. en el epitelio vaginal y así, su virulencia; la infección intraamniótica por *Candida* sp. es causa de aborto, parto prematuro, ruptura prematura de membranas e infección, tanto materna como neonatal, desarrollando aftas bucales, infecciones perinatales y genitales, gastroenteritis con diarrea severa y dermatitis del pañal en el neonato (Joklik *et al.*, 1986; Braun *et al.*, 2003).

Los síntomas típicos de la CVV consisten en prurito vulvar acompañado de secreción vaginal, blanquecina cremosa; sin embargo, la secreción puede variar entre acuosa y densa, puede haber dolor vaginal, dispareunia, ardor vulvar e irritación. Puede ocurrir disuria externa, cuando la micción produce exposición del epitelio vulvar y vestibular inflamado a la orina. El examen revela eritema y edema de los labios y la piel vulvar. Pueden encontrarse lesiones pústulopapulosas periféricas definidas y quizás, la vagina se encuentre eritematosa y con una secreción blanquecina adherente. El pH vaginal suele ser normal; en los casos de CVVR, es importante valorar la presencia de *Candida* durante episodios sintomáticos repetidos, para establecer si la recurrencia de los signos de enfermedad se relaciona con la reaparición del hongo (Paul y Fidel, 2005).

El aislamiento de *Candida* a partir de exudado vaginal en mujeres asintomáticas es un hallazgo frecuente, se estima que entre un 20,0% y 25,0% de mujeres premenopáusicas asintomáticas presentan un cultivo positivo para *Candida* en vagina. A nivel clínico, se ha considerado que no es de utilidad realizar cultivo de secreción vaginal en mujeres asintomáticas, que sólo estaría indicado cuando el cuadro clínico es sugestivo y no se logran observar las formas de la levadura al examen microscópico; sin embargo, algunos autores consideran que una colonización vaginal por *Candida* es de extrema importancia y que la infección clínica es sólo la parte visible del iceberg, teniendo en cuenta el valor de conocer el mecanismo patogénico por lo que, una colonización asintomática puede transformarse en una infección clínica (Díaz y Estrada, 2003).

La identificación de la especie de *Candida* permite indicar un tratamiento específico para la erradicación del hongo, lo cual podría evitar que esta levadura, en un momento determinado, pudiera causar una vaginitis recurrente en la paciente. Un incremento en la identificación de especies diferentes a *C. albicans* se ha reportado, principalmente, en la CVVR, ésto debido a tratamientos antifúngicos inadecuados, generalmente automedicados, lo que puede llevar a variaciones antigénicas y mutaciones de las especies de *Candida*. En nuestro medio, generalmente, la vulvovaginitis es diagnosticada por las manifestaciones clínicas de la paciente, muy pocas veces se realiza el estudio microscópico de secreción vaginal, pero sin solicitar cultivo que permita aislar e identificar el agente etiológico (Barrentxea, 2002).

En un estudio realizado en Buenos Aires, Argentina, en pacientes con edades comprendidas entre 17 y 52 años, sexualmente activas, las especies de *Candida* mayormente aisladas fueron *C. albicans* 76,8%, *C. glabrata* 15,9%, *C. parasilopsis* 2,9% y otras en menor porcentaje (Belmonte *et al.*, 2002); otro estudio realizado en el mismo país, sobre vaginitis en mujeres sexualmente activas, reportó a *C. albicans* en un 52,9% y *C. glabrata* en un 27,2% (Buscemi *et al.*, 2004), a diferencia de un trabajo realizado en Nigeria,

en el cual el porcentaje para *C. glabrata* fue de 33,7%, seguido de *C. albicans* en un 20,1% (Okungbowa *et al.*, 2003).

La Sociedad Americana de Microbiología de los Estados Unidos, determinó que las infecciones por *C. glabrata* afectan tanto a personas inmunocompetentes como inmunocomprometidas y que la frecuencia de las infecciones por esta especie se incrementa, principalmente, en pacientes diabéticos 61,3% y en personas de edad avanzada 51,2%, teniendo una tasa de mortalidad de un 51,0% (Goswami *et al.*, 2006).

C. glabrata crece con facilidad a 37°C en el medio de agar glucosado de Sabouraud, con o sin antibióticos, la especie origina en 24-48 horas unas colonias lisas, no adherentes, de color blanco o cremoso, más o menos brillantes e indiferenciables de la mayoría de otras especies de levaduras del mismo género. En medios cromogénicos, como el CHROMagar®, las colonias aparecen de color lila a púrpura. La ausencia de clamidoconidias, cuando se siembra la cepa en medios pobres en nutrientes como el agar-crema de arroz, agar bilis y el agar harina de maíz, junto con la morfología y el tamaño reducido de las blastoconidios (3-4 µm), orientan hacia esta especie; pero solamente las pruebas bioquímicas del auxonograma y zimograma confirman la identificación (Saballs *et al.*, 2000). Una prueba comercial para la rápida identificación de *C. glabrata* es el test GLABRATA RTT, método que garantiza la obtención de resultados en 20 minutos, este test cromogénico se fundamenta en la capacidad que posee la especie de hidrolizar el carbohidrato trehalosa, pero no la maltosa, característica bioquímica que diferencia *C. glabrata* de otras especies del mismo género (Peman *et al.*, 2004).

Existen técnicas más precisas, como las pruebas moleculares, para la identificación de las diversas especies del género. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR), es una técnica con una alta sensibilidad (Vandesompele *et al.*, 2002), pero presenta algunos inconvenientes, como

son: el alto costo, que no es una técnica cuantitativa y posee una alta probabilidad de producir falsos positivos por contaminación. Para solventar el problema de la cuantificación se han generado unas variaciones sobre el esquema inicial de la PCR, dando lugar a lo que se conoce como PCR cuantitativa o PCR en tiempo real (Poitras y Houde, 2002).

La evolución del tratamiento antimicótico ha pasado desde el empleo de metales pesados, como el yoduro potásico, metaloides y derivados azufrados, hasta los primeros antibióticos antifúngicos, como la griseofulvina, nistatina, anfotericina B. Las alternativas terapéuticas disponibles son dos: polienos y los azoles. Entre los polienos se dispone de la nistatina, alternativa bastante antigua, pero que aún se puede recurrir a ella como alternativa de tratamiento. El inconveniente de la nistatina es que la duración del tratamiento no debiera ser menor a los 14 días. Si el tratamiento es fielmente cumplido, la tasa de cura terapéutica alcanza el 80,0% de éxito. Otro polieno existente es la anfotericina B, pero su uso suele ser restringido a casos muy severos y/o críticos. Los antifúngicos azólicos, no fueron introducidos en la práctica terapéutica sino hasta 1969, siendo los primeros en utilizarse el clotrimazol, miconazol y econazol. (Arechavala et al., 2007).

La alternativa de primera línea para uso de los azoles son los imidazoles: butoconazol, clotrimazol, miconazol, voriconazol, fluconazol e itraconazol. El mecanismo de acción es el de inhibición de la síntesis del ergosterol, al inhibir la conversión de lanosterol a ergosterol, produciendo cambios en la membrana celular del hongo. Este cambio estructural altera la permeabilidad celular y finalmente resulta en disrupción osmótica o inhibición del crecimiento de la célula fúngica. Adicionalmente, puede inhibir la síntesis de triglicéridos y fosfolípidos del hongo, así como la actividad de enzimas oxidativas y peroxidativas, lo que favorece la acumulación intracelular tóxica de peróxido de hidrógeno, que daña las organelas celulares y promueve la lisis fúngica (Arechavala et al., 2007).

La resistencia a los antifúngicos puede dividirse en dos categorías: *in vitro* (primaria o secundaria) y clínica. La resistencia *in vitro* primaria, también llamada intrínseca o innata, es la que presenta el microorganismo de forma natural, por ejemplo *C. krusei* frente a fluconazol. La resistencia *in vitro* secundaria es la que aparece cuando un microorganismo inicialmente sensible se hace resistente. Esta última forma de resistencia aparece con frecuencia en los pacientes inmunodeprimidos (infectados por el VIH), con candidiasis orofaríngea y en tratamiento prolongado con fluconazol. . La resistencia clínica es aquella que aparece cuando el fracaso del tratamiento antifúngico no se asocia con una disminución de la sensibilidad *in vitro*, la misma puede deberse a varios factores, tanto relacionados con el paciente (estado inmunitario, presencia de catéteres intravasculares o prótesis infectadas) como con el antifúngico (farmacocinética, interacciones farmacológicas, entre otros. Asimismo, deben tomarse en cuenta los factores relacionados con la propia virulencia del microorganismo que ocasiona la infección (Viudes *et al.*, 2001).

El objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar los factores de riesgo clínicos y epidemiológicos asociados a la resistencia *in vitro* de *Candida glabrata* al compuesto fluconazol, en pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente, en muestras procedentes del Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá" y el Hospital de Veteranos "Dr. Julio Rodríguez".

METODOLOGÍA

Muestra poblacional

La población estudiada estuvo representada por pacientes con edades comprendidas entre 16 y 50 años, con diagnóstico de candidiasis vulvovaginal que acudieron a las consultas de ginecología de los Hospitales “Antonio Patricio de Alcalá” y “Julio Rodríguez” de Cumaná, estado Sucre. El muestreo se realizó entre los meses octubre y noviembre de 2011.

Toma de muestra

Se recolectaron 140 muestras de secreciones vaginales, 15 provenientes de pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente (CVVR), diagnosticadas con cultivos vaginales y 41 secreciones vaginales provenientes de pacientes con candidiasis vulvovaginal primaria esporádica (CVVPE), a las cuales se les realizó el exámen directo y de cultivo, 84 pacientes resultaron negativos al cultivo para levaduras.

Criterios de exclusión

A cada paciente se le aplicó una encuesta, para obtener información de los datos clínicos y epidemiológicos (Apéndice 1). Se excluyeron del estudio a las pacientes con tratamiento antimicótico, aplicado en los 7 días anteriores a la toma de muestra, las que hicieron uso de duchas vaginales, previamente a la consulta, y las que tuvieron relaciones sexuales 48 horas antes de la toma.

Normas de bioética

La presente investigación se llevó a cabo tomando en cuenta las normas de bioética establecidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para trabajos de investigación en humanos y la declaración de Helsinki (OPS, 2000). A los individuos seleccionados se les informó sobre los alcances y

objetivos de la investigación, así como de las ventajas de su inclusión en la misma; ésto se hizo con el propósito de obtener su consentimiento, por escrito, para la toma de muestra de secreción vaginal (Apéndice 2).

Toma de muestra

Se cumplieron las normas de asepsia y se siguieron las recomendaciones para el tipo de muestra, las mismas fueron tomadas por un médico especialista (ginecólogo).

Procedimiento: a cada paciente se le colocó un espéculo vaginal, luego se procedió a tomar muestras del fondo de saco con dos (2) hisopos estériles; éstos fueron colocados posteriormente en dos tubos que contenían 2 ml de solución salina fisiológica estéril (SSFE), uno para examen directo y otro para el cultivo. Previamente, en una lámina portaobjeto, se preparó un extendido de la secreción, al cual se le realizó la coloración de Gram (Murray *et al.*, 2003).

Examen directo

Una vez tomada la muestra, con el hisopo se procedió a realizar un examen en fresco entre lámina y laminilla con SSFE y lugol (Figura 1), se empleó lugol para pigmentar la pared de los hongos y mejorar la visualización; igualmente se realizó un extendido, al cual se le aplicó la tinción de Gram (Figura 2), con el fin de visualizar: blastoconidias (cantidad, morfología y tamaño), número de gemaciones, pseudohifas y/o hifas y tipo de células presentes (células epiteliales, leucocitos, macrófagos, entre otras) (Koneman *et al.*, 1999).

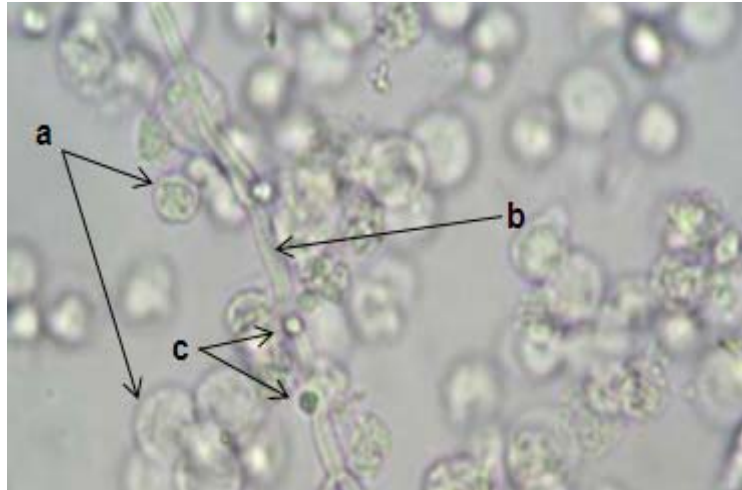


Figura 1. Examen directo con solución salina fisiológica estéril (40X): a) leucocitos; b) pseudohifa; c) blastoconidias.

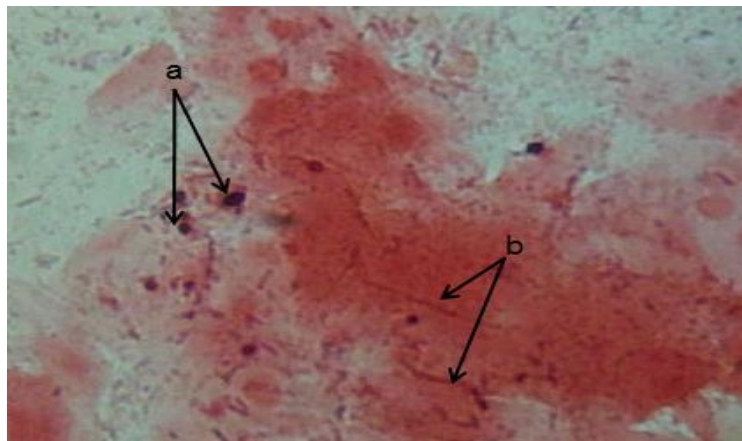


Figura 2. Examen directo con tinción de Gram (100X): a) levaduras, teñidas como estructuras Gram positivas; b) pseudohifas.

Cultivo

Con el segundo hisopo se procedió a cultivar la muestra en placas de agar Sabouraud dextrosa (SDA) adicionado con cloranfenicol al 1,0%. Las placas se incubaron a 35°C durante 48 horas, para el aislamiento de hongos levaduriformes (Koneman *et al.*, 1999).

Identificación de levaduras del género *Candida*

La identificación de levaduras se llevó a cabo tomando en cuenta las características morfológicas de las colonias, que se obtuvieron en los cultivos, realizándole una serie de pruebas fisiológicas y bioquímicas necesarias para identificar el género y la especie de las levaduras aisladas en la muestra.

Características macroscópicas

Se observó el aspecto de las colonias en ASD, (circulares, lisas, blancas, cremosas, de bordes precisos y centro ligeramente prominente) característico de levaduras del género *Candida* (Figura 3).



Figura 3. Colonias de *Candida glabrata* en agar Sabouraud dextrosa.

Características microscópicas

Se tomó en cuenta la disposición de las blastoconidias y formación de pseudomicelio, característicos para cada especie de *Candida* en medio sólido, utilizando el método de Dalmau, que consistió en sembrar por estrías, una porción de la colonia aislada, en placas con el medio Corn Meal agar

(CMA) y se le colocó encima una laminilla; posteriormente, se incubaron a 28°C por 72 horas (Figura 4) y luego, se observó en el microscopio (40X) la morfología característica de las levaduras del género *Candida* (Kurtzman y Fell, 1998).



Figura 4. Técnica de Dalmau en placa con Corn Meal agar: a) *Candida glabrata*; b) *Candida albicans*; c) *Candida tropicalis*.

Pruebas fisiológicas y bioquímicas

Producción de tubo germinal o filamentización en suero: se colocó una pequeña porción de una colonia obtenida de un cultivo de 24 horas en 0,5 ml de suero y se incubó a 37°C por 2 horas. Transcurrido este tiempo, se colocó una gota de la suspensión entre lámina y laminilla y se observó al microscopio de luz con 40X. Esta prueba es positiva para *C. albicans*, quien produce un tubo fino y continuo, sin constricción en el lugar de origen, resultando negativa para la especie *Candida glabrata* (Cuétara *et al.*, 2006).

Producción de clamidoconidias: utilizando placas de CMA, se inocularon las cepas en estudio, sembrando una pequeña porción de la levadura sobre la superficie del agar, se incubaron a 28°C por 48 horas, transcurrido este

tiempo, se observó al microscopio (40X), para buscar la estructura de resistencia característica de *C. albicans* y *C. dubliniensis* (Pardi *et al.*, 2003).

Prueba de termotolerancia: las colonias de levaduras se sembraron en ASD y se incubaron a 45°C durante 72 horas. *C. glabrata* crece a temperaturas mayores de 37°C (Pinjon *et al.*, 1998)

Fermentación de azúcares (zimograma): se fundamenta en la propiedad que tienen las levaduras de utilizar los azúcares en anaerobiosis, lo cual se evidencia por la producción de gas. Para esta prueba se utilizaron los siguientes azúcares: glucosa, maltosa, sacarosa, galactosa, trehalosa y lactosa, en concentración al 2,0% y rafinosa al 4,0%, los cuales se prepararon en medio basal extracto de levadura al 1,0%. La formación de dióxido de carbono (CO₂) se detectó incorporando al medio líquido un tubo de Durham invertido. Para inocular las cepas se preparó una suspensión de la levadura aislada (con una turbidez igual al patrón N° 4 de la escala McFarland), luego, se añadieron 3 gotas de esta suspensión a los tubos que contenían los azúcares antes mencionados, se agitaron suavemente e incubaron a 28°C por 21 días (Lasker *et al.*, 2001). Se consideró positiva la prueba de fermentación, al observarse formación de gas (CO₂) dentro del tubo de Durham invertido. Los resultados se interpretaron según la tabla de identificación de levaduras (Anexo 1).

Determinación de la susceptibilidad a los antifúngicos (azoles)

Método de difusión en agar con discos de antifúngicos (antifungigrama): este método se realizó siguiendo los lineamientos establecidos por el Comité Internacional de Estándares de Laboratorio Clínico (CLSI), en el documento M44-A (2008), para la determinación de susceptibilidad de hongos levaduriformes a los antifúngicos.

Técnica

A partir de un cultivo de 24 h a 37°C en ASD, se preparó un inóculo de turbidez 0,5 McFarland (siguiendo las indicaciones establecidas en documento M 44-A del CLSI, para un estricto control de calidad) en solución de cloruro de sodio (NaCl) 0,9%. Para el método de difusión se utilizaron placas de Petri de 10 cm de diámetro, con 25 ml de agar Mueller-Hinton modificado (MHm), al cual se le adicionó 2,0% de glucosa y azul de metileno hasta una concentración final de 0,5 mg/ml.

Con un hisopo cargado con el inóculo correspondiente, se sembró la superficie de una placa de Petri con MHm en tres direcciones y se dejó secar durante 15 minutos en incubadora, a 37°C. Se colocó un disco de fluconazol (25,0 µg), un disco de voriconazol (1,0 µg) y un disco de itraconazol por placa y luego, se incubaron por 24 horas a 37°C, la prueba se realizó por duplicado. Pasado el tiempo de incubación, se midió, con una regla milimetrada, el diámetro de la zona de inhibición del crecimiento y se catalogó como sensible o resistente, empleando los puntos de corte para levaduras, recomendados por el CLSI (2008).

Cepas de referencia

Para el control de calidad de las pruebas de sensibilidad, se utilizaron las cepas de referencia de la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC, por sus siglas en inglés), recomendadas por el CLSI: *C. parapsilosis* ATCC 22019 y *C. krusei* ATCC 6258 donadas por el Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", Caracas, Venezuela (Anexo 2).

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron representados en tablas y figuras. Para establecer la asociación entre la CVVR por *C. glabrata* y la resistencia *in vitro* a fluconazol, así como la determinación de los factores de riesgo asociados, se aplicaron las pruebas estadísticas de Chi-cuadrado con

corrección de Yates, y de desigualdad relativa (del inglés: Odds ratio (OR)), respectivamente, con un 95% de confiabilidad (Jiménez, 2000). El análisis de los datos se llevó a cabo utilizando el paquete estadístico SPSS, versión 15,0 para Windows (SPSS Inc., Chicago IL, USA).

RESULTADOS

De las 140 muestras de secreción vaginal provenientes de pacientes con diagnóstico clínico sugestivo de candidiasis, procesadas en este estudio, se obtuvieron 56 (40,0%) cultivos positivos para levaduras del género *Candida*, y 84 (60,0%) cultivos negativos. De los aislamientos de *Candida* se encontró que el 55,4% estaba representado por *C. albicans* y el 44,6% por *Candida no albicans* (Figura 5).

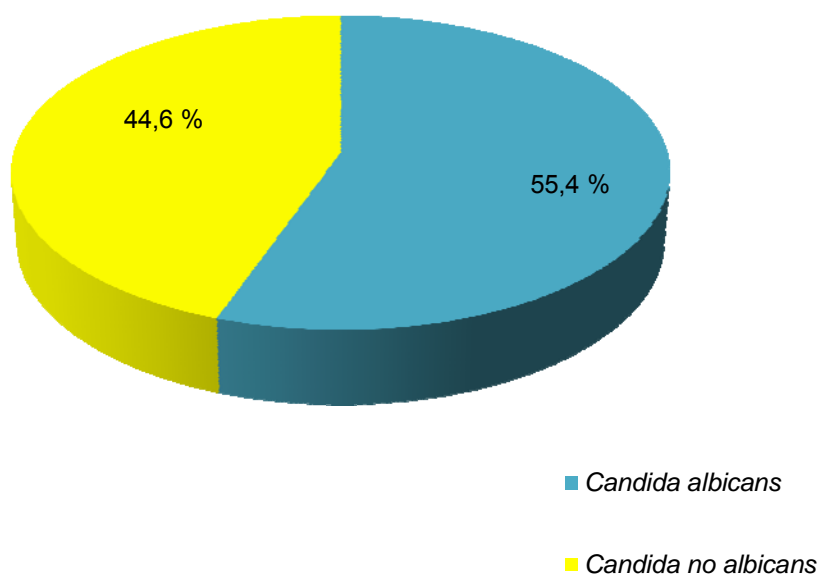


Figura 5. Frecuencia de *Candida albicans* y *no albicans* en cultivos positivos de secreción vaginal provenientes del Hospital de Veteranos “Julio Rodríguez” y el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” de Cumaná estado Sucre. Octubre-noviembre de 2011.

Del total de cultivos positivos, 41 provenían de mujeres con CVVPE y 15 de pacientes con CVVR (Tabla 1).

En las pacientes con CVVPE, se encontró que el mayor porcentaje de aislamientos, de especies de *Candida*, estuvo representado por *C. albicans* 70,7%, seguido de *C. glabrata* 14,7%; sin embargo, en las pacientes con CVVR se aisló, con mayor frecuencia, *C. glabrata* en un 73,4%, seguido de *C. albicans* y *C. guilliermondii* en un 13,3%, respectivamente (Tabla 1).

Tabla 1. Frecuencia de especies del género *Candida* aisladas en pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente y candidiasis vulvovaginal primaria esporádica, provenientes del Hospital de Veteranos “Julio Rodríguez” y el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Octubre - noviembre de 2011.

Especie	CVVR		CVVPE		Total	
	n	%	n	%	n	%
<i>Candida albicans</i>	2	13,3	29	70,7	31	55,4
<i>Candida glabrata</i>	11	73,4	6	14,7	17	30,4
<i>Candida tropicalis</i>	0	0,0	5	12,2	5	8,9
<i>Candida guilliermondii</i>	2	13,3	1	2,4	3	5,3
Total	15	100,0	41	100,0	56	100,0

n: número de cepas; CVVR: candidiasis vulvovaginal recurrente; CVVPE: candidiasis vulvovaginal primaria esporádica; %: porcentaje.

Las colonias de *C. glabrata* se presentan como colonias de crecimiento rápido, cremosas, de color blanco o ligeramente crema, lisas, convexas, de aspecto mate u opaco. Microscópicamente, la morfología propia de esta especie se caracteriza por la presencia de blastoconidias pequeños, ovalados con gemación unipolar o bipolar, de paredes lisas y finas y por no producir pseudohifas o pseudomicelio.

Igualmente, *C. glabrata* fermenta la glucosa, pero no así otros carbohidratos como maltosa, galactosa, entre otros, es capaz de desarrollarse a elevadas temperaturas, lo que la convierte en una cepa termotolerante. Esta especie carece de la formación de estructuras de resistencia como las clamidoconidias y estructuras de extensión como el tubo germinativo, éste fue el comportamiento que demostraron las 17 cepas de *C. glabrata* en la presente investigación, a diferencia de las otras especies, las cuales variaron en cuanto al crecimiento a 45°C, formación de clamidoconidias, y utilización de carbohidratos en la prueba de zimograma (Tabla 2).

Tabla 2. Perfil fenotípico expresado en las 25 cepas no *albicans* obtenidas de pacientes provenientes de los servicios de ginecología del Hospital de Veteranos “Julio Rodríguez” y el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Octubre - noviembre de 2011.

Especie	n	TG	FC	Crec. 45°C	Zimograma					
					G	L	M	R	Ga	S
<i>Candida glabrata</i>	17	-	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	5	-	-	+	+	-	+	-	+	+
<i>Candida guilliermondii</i>	3	-	-	-	+	-	-	-	+	+

n: número de cepas; TG: tubo germinativo; FC: formación de clamidoconidias; G: glucosa; L: lactosa; M: maltosa; R: rafinosa; Ga: galactosa; S: sacarosa

La resistencia de las levaduras a los agentes antifúngicos fue por muchos años un problema de poca importancia, pero recientemente se ha reportado un incremento en la resistencia a estas drogas, especialmente entre las especies de *Candida* no *albicans*, las cuales, a su vez, aparecen con mayor frecuencia en pacientes con CVVR. En la presente investigación, se encontró un aumento de la resistencia en las especies no *albicans* a los azoles, principalmente en las 17 cepas de *C. glabrata*, las cuales fueron 100% resistentes a fluconazol (Tabla 3).

Tabla 3. Resultados de la susceptibilidad a fluconazol de 25 aislamientos de *Candida* no *albicans*, de pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente y candidiasis vulvovaginal primaria esporádica provenientes del Hospital de Veteranos “Julio Rodríguez” y el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Octubre - noviembre de 2011.

Especie	CVVR			CVVEP			n	p
	S	SDD	R	S	SDD	R		
<i>Candida glabrata</i>	0	0	11	0	0	6	17	0,101NS
<i>Candida tropicalis</i>	0	0	0	1	3	1	5	0,092NS
<i>Candida guilliermondii</i>	0	0	2	0	0	1	3	0,071NS

n: número de cepas; CVVR: Candidiasis vulvovaginal recurrente; CVVEP: Candidiasis vulvovaginal primaria esporádica; R: Resistente; SDD: Sensible dosis dependiente; S: Sensible; p: probabilidad; NS: no significativo con corrección de Yates; χ^2 ($p > 0,05$).

La tabla 4 muestra los porcentajes de susceptibilidad de las cepas de *Candida* no *albicans*, de pacientes con CVVR y CVVEP, a Itraconazol,

encontrándose, igualmente, que el 100% de las cepas de *C. glabrata* presentaron resistencia a este antifúngico.

Tabla 4. Resultados de la susceptibilidad a itraconazol de 25 aislamientos de *Candida no albicans*, de pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente y candidiasis vulvovaginal primaria esporádica provenientes del Hospital de Veteranos “Julio Rodríguez” y el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Octubre - noviembre de 2011.

Especie	CVVR			CVVEP			n	p
	S	SDD	R	S	SDD	R		
<i>Candida glabrata</i>	0	0	11	0	0	6	17	0,087 NS
<i>Candida tropicalis</i>	0	0	0	0	5	0	5	0,067 NS
<i>Candida guilliermondii</i>	0	0	2	0	0	1	3	0,079 NS

n: número de cepas; CVVR: candidiasis vulvovaginal recurrente; CVVEP: candidiasis vulvovaginal primaria esporádica; R: resistente; SDD: sensibilidad dosis dependiente; S: sensible; p: probabilidad; NS: no significativo con corrección de Yates; χ^2 ($p > 0,05$).

En la tabla 5 se muestran los porcentajes de susceptibilidad de los 25 aislamientos de *Candida no albicans* a voriconazol, observándose que el 100% de las cepas, incluyendo *C. glabrata*, demostraron ser sensibles a este antifúngico.

Tabla 5. Resultados de la susceptibilidad a voriconazol de 25 aislamientos de *Candida no albicans*, de pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente y candidiasis vulvovaginal primaria esporádica provenientes del Hospital de Veteranos “Julio Rodríguez” y el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Octubre - noviembre de 2011.

Especie	CVVR			CVVEP			n	p
	S	SDD	R	S	SDD	R		
<i>Candida glabrata</i>	11	0	0	6	0	0	17	0,986 NS
<i>Candida tropicalis</i>	0	0	0	5	0	0	5	0,097 NS
<i>Candida guilliermondii</i>	2	0	0	1	0	0	3	0,871 NS

n: número de cepas; CVVR: candidiasis vulvovaginal recurrente; CVVEP: candidiasis vulvovaginal primaria esporádica; R: resistente; SDD: sensibilidad dosis dependiente; S: Sensible; p: probabilidad; NS: no significativo con corrección de Yates; χ^2 ($p > 0,05$).

De las características clínicas y epidemiológicas de las pacientes objeto de estudio, se obtuvieron datos sobre posibles factores predisponentes de candidiasis. Entre ellos, se encontró que el 66,7% de los casos de CVVR ocurrían en mujeres menores de 18 años y 84,8% de los casos de CVVEP se observaron en pacientes con edades comprendidas entre 19 y 29 años.

Los síntomas más frecuentes en las pacientes con CVVPE fueron el flujo cremoso 34 (73,9%) y el prurito 29 (76,3%); de manera similar, de las pacientes con CVVR, 12 (26,1%) presentaron flujo vaginal color crema y 9 (23,7%) indicaron presentar prurito (Tabla 6).

Tabla 6. Características clínicas y epidemiológicas, de las pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente y candidiasis vulvovaginal primaria esporádica, provenientes del Hospital de Veteranos “Julio Rodríguez” y el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Octubre - Noviembre de 2011.

Características	CVVR(n=15)		CVVPE(n=41)		Total	p
	n	%	n	%		
Edad (años)						
≤18	8	66,7	4	33,3	12	0,0034
19-29	5	15,2	28	84,8	33	0,0010
30-40	0	0,0	2	100,0	2	NS
≥40	2	22,2	7	77,8	9	NS
Flujo cremoso	12	26,1	34	73,9	46	0,0012
Prurito	9	23,7	29	76,3	38	0,0082
Ardor	3	14,3	18	85,7	21	NS
Ardor y prurito	2	15,4	11	84,6	13	NS
Flujo cremoso y prurito	7	21,2	26	78,8	33	0,0025
Terapia con ATB	3	75,0	1	25,0	4	NS
Terapia con ATF	4	66,7	2	33,3	6	NS
Uso del DIU	6	31,6	13	68,4	19	NS
Sexualmente activas	13	25,5	38	74,5	51	0,0038
Enfermedades subyacentes						
Diabetes	2	66,7	1	33,3	3	NS
Miomias	1	8,3	11	91,7	12	NS
HTA	0	0,0	2	100,0	2	NS

n: número de cepas; CVVR: candidiasis vulvovaginal recurrente; CVVPE: candidiasis vulvovaginal primaria esporádica; ATB: antibiótico; ATF: antifúngico; DIU: dispositivo intrauterino; HTA: hipertensión arterial; p: probabilidad; NS: no significativo con corrección de Yates; χ^2 ($p > 0,05$).

El interés por *C. glabrata* reside en que es considerada un patógeno emergente, con la particularidad de que un número considerable de cepas pueden ser resistentes *in vitro* a los antifúngicos triazólicos; la estructura antigénica de esta levadura ha sido determinada por varios autores, demostrándose que existe cierto grado de reactividad cruzada con otras

especies consideradas más patógenas como *C. albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii*, *Candida kefyr* y *Candida parapsilosis*. Debido a su carácter haploide, se considera que *C. glabrata* tiene mayores posibilidades de presentar mutaciones que otras especies diploides, como *C. albicans*. La ausencia de algunos factores de virulencia, como la producción de pseudohifas, consideradas como estructuras que incrementan la adherencia y penetración del hongo en los tejidos, conduce a considerar que *C. glabrata* es menos virulenta que otras especies (Lass *et al.*, 2010).

Al aplicar la prueba de chi cuadrado, se detectó asociación estadísticamente significativa entre el aislamiento de *C. glabrata* y la presencia de estos factores clínicos predisponentes, excepto para la presencia de ardor, ardor y prurito, terapia anterior con antibióticos o antifúngicos, el uso de DIU y la presencia de enfermedades subyacentes como Diabetes o miomas.

Las características clínicas y epidemiológicas, de las pacientes con CVVR por *C. glabrata*, se presentan en la (Tabla 7). Entre estas, podemos encontrar que la edad continúa siendo un factor incidente en este tipo de patología, el 87,5% de las pacientes con recurrencia fueron menores de 18 años, el 100% eran sexualmente activas asumiendo sentir ardor y prurito, 75,0% presentaban terapia anterior con antifúngicos, 66,7% con antibióticos y el 83,3% utilizaban DIU. Sin embargo, a pesar de esta alta frecuencia, al aplicar la prueba de chi cuadrado, no se detectó asociación estadísticamente significativa entre el aislamiento de *C. glabrata* y la presencia de factores clínicos predisponentes y subyacentes en las pacientes con CVVR atendidas en los servicios de ginecología del Hospital de Veteranos “Julio Rodríguez” y el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, durante los meses octubre y noviembre de 2011.

Tabla 7. Características clínicas y epidemiológicas de las pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente por *Candida glabrata*, provenientes del Hospital de Veteranos “Julio Rodríguez” y el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Octubre - noviembre de 2011.

Características	Positivos		Negativos		total	p
	n	%	n	%		
Edad (años)						
≤18	7	87,5	1	12,5	8	NS
19-29	3	60,0	2	40,0	5	NS
≥30	1	50,0	1	50,0	2	NS
Flujo cremoso	8	66,7	4	33,3	12	NS
Prurito	6	66,7	3	33,3	9	NS
Ardor	2	66,7	1	33,3	3	NS
Ardor y prurito	2	100,0	0	00,0	2	NS
Flujo cremoso y prurito	5	71,4	2	28,6	7	NS
Terapia con ATB	2	66,7	1	33,3	3	NS
Terapia con ATF	3	75,0	1	25,0	4	NS
Uso del DIU	5	83,3	1	16,7	6	NS
Sexualmente activas	11	84,6	2	15,4	13	NS
Enfermedades subyacentes						
Diabetes	2	100,0	0	00,0	2	NS
Miomias	1	100,0	0	00,0	1	NS

n: número de cepas; ATB: antibiótico; ATF: antifúngico; DIU: dispositivo intrauterino; p: probabilidad; NS: no significativo con corrección de Yates; χ^2 (p>0,05).

DISCUSIÓN

El criterio para el diagnóstico de la candidiasis vulvovaginal durante muchos años se ha basado en la combinación de signos, síntomas y la confirmación por estudio micológico de la presencia de levaduras, siendo *Candida albicans* la especie más recuperada en estos hallazgos. La CVV se ha reportado entre las primeras causas de infección vaginal en nuestro país; sin embargo, no hay datos fidedignos acerca de su prevalencia debido a que no se realiza el diagnóstico micológico de rutina en todos los centros públicos y privados del país (Guillén *et al.*, 2003).

En el presente estudio de un total de 140 muestras de secreción vaginal, se obtuvieron 56 cultivos positivos para levaduras del género *Candida*, de las cuales 31 (55,4%) fueron identificadas como *C. albicans* (Tabla 1). Aunque la especie con mayor frecuencia fue *C. albicans*, la suma de las otras especies del género fue de 25 (44,6%), lo que demuestra el aumento de estos patógenos emergentes, tal como se ha descrito en estudios realizados por Buscemi *et al.* (2004) en la ciudad de Buenos Aires, Argentina, sobre mujeres con vaginitis sexualmente activas, con edades comprendidas entre 17 y 52 años, donde se aisló con mayor frecuencia *C. albicans* con un 52,9%, demostrándose un aumento de especies no *albicans* en un 47,1%, siendo *C. glabrata* la especie más frecuentemente aislada (27,2%).

Al analizar la frecuencia de las especies de *Candida* (Tabla 1) en pacientes con candidiasis vulvovaginal primaria esporádica CVVPE y candidiasis vulvovaginal recurrente CVVR, se pudo observar que *C. albicans* continúa siendo la especie más comúnmente aislada, teniendo mayor proporción en pacientes con CVVPE (70,7%). No obstante, *C. glabrata* ocupó el segundo lugar representando el 30,4% de todos los aislamientos, de los cuales el 73,4% fueron recuperados de pacientes con CVVR. *C. tropicalis* y *C. guilliermondii* correspondieron, conjuntamente, al 14,2% del resto de los aislados.

En general, la incidencia de *C. glabrata* se ha venido incrementando en los últimos 40 años, debido a diversos factores como el uso de nuevos tratamientos y procedimientos para otras patologías, procedimientos invasivos para diagnóstico, uso extendido de antibióticos de amplio espectro, aparición del virus de inmunodeficiencia humana y síndrome de inmunodeficiencia humana. En el presente estudio, la frecuencia de *C. glabrata* (30,4%) duplica la informada en estudios similares anteriores y coincide en el incremento en la frecuencia y resistencia al manejo de antifúngicos.

Con respecto a la prueba de sensibilidad a los compuestos azólicos, aplicada a las 25 cepas no *albicans*. La totalidad de las cepas de *C. glabrata* mostraron resistencia a los antifúngicos fluconazol e itraconazol, presentando diámetros, de los halos de inhibición, menores de 14 mm y 10 mm de longitud, respectivamente. Las 17 cepas de *C. glabrata* aisladas sólo presentaron sensibilidad antifúngica al compuesto voriconazol, produciendo halos de inhibición superiores a 17 mm de longitud, convirtiendo este compuesto azólico en el tratamiento más efectivo para combatir las infecciones producidas por esta especie.

En cuanto a las especies de *C. tropicalis* hubo variabilidad en los resultados obtenidos, la mayoría de las cepas presentaron sensibilidad dosis dependiente (SDD) al compuesto fluconazol, demostrando halos de inhibición entre 15 mm y 18 mm de longitud. Con respecto al compuesto itraconazol, las cepas presentaron una sensibilidad dosis dependiente, siendo el antifúngico voriconazol el más efectivo, puesto que la totalidad de las cepas mostraron halos de sensibilidad superiores a los 17 mm de longitud. Las especies de *C. guilliermondii* mantuvieron un comportamiento similar a las cepas de *C. glabrata*, produciendo resistencia a los antifúngicos fluconazol e itraconazol y presentando un 100% sensibilidad al compuesto voriconazol, resultados similares a los obtenidos por Rodero *et al.* (2006).

La CVVR se define como cuatro o más episodios infecciosos en el transcurso de un año, y la candidiasis vulvovaginal primaria esporádica CVVPE, como un caso espontáneo sin presentar recurrencia. En este trabajo de investigación, de 56 pacientes con cultivos positivos para *Candida*, 41 (73,2%), demostraron estar cursando episodio de CVVPE y 15 (26,8%), reportaron casos de recurrencia, en un período menor a 12 meses. De los casos de CVVR, 11 (73,4%) fueron ocasionados por *C. glabrata*, 2 (13,3%) por *C. albicans* y 2 (13,3%) por *C. guilliermondii*; siendo *C. glabrata* la responsable del mayor porcentaje de recurrencia en las infecciones vulvovaginales, superando a la especie *C. albicans* en un 60,0%; por otra parte, de los casos de CVVPE, 29 (70,7%) fueron ocasionados por *C. albicans*, 6 (14,7%) por *C. glabrata*, 5 (12,2%) por *C. tropicalis* y 1 (2,4%) por *C. guilliermondii*, siendo *C. albicans* la responsable de la mayoría de los casos de CVVPE superando a la especie *C. glabrata* en un 56,1%. Estos resultados obtenidos, en cuanto a la recurrencia en las infecciones vulvovaginales, pueden atribuirse al grado de resistencia que demostraron las cepas de *C. glabrata*, frente a los compuestos azólicos fluconazol e itraconazol y a que estos, a su vez, representan el tratamiento de elección primaria utilizado por los médicos, en los centros asistenciales para tratar las micosis vaginales. De aquí, la importancia de conocer la susceptibilidad antifúngica *in vitro* de los aislamientos, pues la resistencia a estos antifúngicos se observa predominantemente en cepas no *albicans*, principalmente *C. glabrata*.

Lo discutido anteriormente, ha complicado la elección del tratamiento antifúngico de las infecciones por *Candida* sp. A pesar de que *C. albicans*, sigue siendo el patógeno más común y no presenta grandes problemas de sensibilidad antifúngica (1,8% de resistencia), el aumento de la resistencia a azoles y la frecuencia de aislamiento de especies no *albicans*, como es el caso de *C. glabrata*, supone un problema al momento de decidir el esquema terapéutico más adecuado; por tal motivo se ha sumado al desarrollo de nuevos antifúngicos como las equinocandinas y azoles de amplio espectro,

con la finalidad de asegurar la erradicación de la levadura que este ocasionando el cuadro clínico.

Las especies mayormente descritas como resistentes a los azoles son *C. krusei* (resistencia intrínseca), *C. glabrata* (aumento de resistencia de 7,0% a 12,0%) y *C. tropicalis* (Lass *et al.*, 2010). La Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas sugiere que si bien, las infecciones por *C. glabrata* pueden tratarse con fluconazol utilizando una dosis mayor o igual a 12 mg por Kg de peso al día, esta terapia debe guiarse por los resultados del estudio de susceptibilidad antifúngica, dada su frecuencia variable de resistencia.

Fluconazol es un fármaco de amplio uso clínico, a pesar de su actividad general fungistática, destacándose la susceptibilidad de *C. albicans* al fluconazol en un 91,8%, con sólo 6,4% de sensibilidad dosis dependiente (SDD) y 1,8% de resistencia. Estos resultados son similares a los obtenidos por (Panizo y Pérez, 2000), donde el fluconazol resultó ser una droga excelente contra las cepas de *C. albicans*, pero no resultó así para las cepas de *C. no albicans*, especialmente para el grupo de pacientes con CVVR, que mostró un 100% de resistencia.

En relación al grupo de *Candida no albicans*, *C. glabrata* fue la especie con mayor proporción de aislados resistentes, esta condición puede estar asociada al carácter haploide de la levadura, lo que explicaría en parte, por qué las mutaciones que llevan a la resistencia del fluconazol surgen con mayor frecuencia en este microorganismo. La resistencia cruzada con otros azoles es común en esta especie, lo que también fue observado en el presente estudio donde el 100% también fue resistente a itraconazol. La aparición de resistencia a fluconazol en *C. tropicalis* y *C. guilliermondii* encontradas en el presente trabajo también había sido descrita con anterioridad. Sin embargo, dado el escaso número de aislados obtenidos, no sería recomendable emitir conclusiones con respecto al comportamiento de los azoles, en este caso (Lass *et al.*, 2010).

Otro de los objetivos de este trabajo de investigación fue relacionar las características clínicas y epidemiológicas con la CVVR y CVVPE. Obteniéndose resultados importantes, dentro de cuales podemos destacar que la edad promedio de las pacientes fue de 20 años, en el caso de CVVR y 26 años para CVVPE, lo que sugiere que las infecciones recurrentes son más frecuentes en mujeres jóvenes; por el contrario, en las pacientes de mayor edad, fue más frecuente encontrar una CVVPE. En cuanto a los síntomas manifestados por las pacientes que presentaron la infección por *Candida*, los más frecuentes fueron el flujo vaginal cremoso y el prurito, este último síntoma se le atribuye a la reacción inflamatoria ocasionada por la respuesta inmunológica presente en el organismo de las pacientes (Gamazo *et al.*, 2005).

El flujo cremoso con apariencia de queso requesón, es una característica propia de la infección por *C. albicans*, la infección por *C. glabrata* es una condición anormal que se evidencia con síntomas menos notorios, debido a que esta especie carece de filamentos, cualidad que la hace menos invasiva y molesta para el huésped, siendo su mayor manifestación clínica el ardor. En los resultados obtenidos, podemos diferir de estas afirmaciones, ya que el prurito y el flujo cremoso fueron los síntomas predominantes en las pacientes con CVVR y CVVPE, inclusive encontrándose combinado en algunos casos entre sí o con el ardor (Koehler *et al.*, 1999).

El uso de antimicrobianos, fueron factores predisponentes en la CVVR superando los casos obtenidos con CVVPE. Tres pacientes que recibieron tratamiento con antibióticos demostraron CVVR. Ciertos antibióticos, principalmente los de amplio espectro, logran alterar la flora vaginal, de manera que propician un ambiente ideal para el crecimiento y recurrencia de la infección por *Candida*. De manera similar, ocurre con los tratamientos antimicóticos de elección primaria, por lo general, estos no son aplicados por

el tiempo correspondiente y en ocasiones, son automedicados; como se evidencia en el presente estudio, la especie *C. glabrata* demuestra resistencia a este tipo de compuestos, de acuerdo a lo antes visto.

El uso de dispositivos intrauterinos y actividad sexual son factores predisponentes de la candidiasis vulvovaginal. En el presente estudio se observan claramente cifras significativas; del total de pacientes, 6 (31,6%) con CVVR y 13 (68,4%) con CVVPE, señalaron estar en tratamiento anticonceptivo con este método de barrera. En cuanto a la actividad sexual, la mayoría de las pacientes que resultaron positivas para infección de eran sexualmente activas, 13 (25,5%) con CVVR y 38 (74,5%) con CVVPE.

Por último se tomaron en cuenta ciertas enfermedades subyacentes, entre ellas la diabetes. El 66,7% de las pacientes diabéticas cursaban CVVR, y 33,3% CVVPE, sin embargo, a pesar de esta frecuencia no se obtuvo asociación estadísticamente significativa entre esta enfermedad y la CVV. Podemos asumir que dicha recurrencia se debe a los altos niveles de glicemia, esta condición patológica propicia un ambiente vaginal nutritivo, ideal para el desarrollo de la levadura, tema que se ha descrito en otros trabajos de investigación (Panizo y Pérez, 2000).

La presencia de miomas, los cuales se definen como tumoraciones benignas (en la mayoría de los casos), alojadas en el tejido muscular del endometrio, se atribuyen a los altos niveles de estrógeno presentes en la mujer; como ya se ha descrito, las elevadas concentraciones de esta hormona favorecen el desarrollo de las infecciones por levaduras vaginales, por tal razón, no es sorprendente encontrar una infección por *Candida* en pacientes que presentes las condiciones hormonales ya mencionadas. De las pacientes que se encontraban diagnosticadas con miomas, 91,7% de ellas estaban cursando con CVVPE y 8,7% con CVVR (Mendoza, 2005).

Los resultados obtenidos reflejan que transcurrida una década del siglo XXI, la CVV continúa siendo un problema tanto para las mujeres, quienes sufren

las molestias causadas, como para médicos, micólogos e investigadores de diversos ámbitos, en virtud que, si bien se ha avanzado en el diagnóstico y tratamiento de la misma, no se ha resuelto aún, constituyendo un problema con muchas aristas para abordar en los años venideros.

CONCLUSIONES

Candida albicans se aisló con mayor frecuencia en pacientes con candidiasis vulvovaginal primaria esporádica (CVVPE) y *Candida glabrata* fue la especie predominante en las pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente (CVVR).

Las especies no *albicans* mostraron una alta resistencia a fluconazol e itraconazol, principalmente a especie *Candida glabrata*, demostrando un mayor porcentaje de sensibilidad al voriconazol.

Se obtuvo un 100% de resistencia a fluconazol en las cepas aisladas de pacientes con diagnóstico de candidiasis vulvovaginal recurrente.

El uso continuo e indiscriminado de antifúngicos y antibióticos favorecen la recurrencia por *Candida glabrata*.

Factores como la edad, actividad sexual, uso de dispositivos intrauterinos y la diabetes, demostraron tener relación con la frecuencia de candidiasis vulvovaginal recurrente.

RECOMENDACIONES

A pesar que los aislados de *Candida albicans* continúan siendo más frecuentes que los de *Candida glabrata*, se recomienda indagar más en el estudio de esta especie, con la finalidad de tener más experiencia en los casos de resistencia antifúngica.

Promover el uso de fluconazol en pacientes con candidiasis vulvovaginal primaria esporádica (CVVPE), pero no en aquellos con candidiasis vulvovaginal recurrente (CVVR).

Tipificar las cepas de *Candida*, y conocer la especie responsable del cuadro infeccioso, bien sea primario o recurrente.

Realizar cultivos con sensibilidad antifúngica, para asegurar el tratamiento terapéutico adecuado.

Es necesario realizar estudios similares con un mayor número de cepas para cada grupo de estudio, con el fin de aumentar las posibilidades de obtener diferencias estadísticamente significativas.

BIBLIOGRAFÍA

- Arechavala, A.; Bianchi, M.; Robles, A.; Santiso, G. y Negroni, R. 2007. Identificación y sensibilidad frente a fluconazol y albaconazol de 100 cepas de levaduras aisladas de flujo vaginal. *Rev. Iberoam. Micol.*, 24: 305-308.
- Barrentxea, Z. 2002. Vulvovaginitis candidiasica. *Rev. Iberoam. Micol.*, 19: 22-24.
- Belmonte, A.; Noguera, M. y Ombrella, A. 2002. Estudio microbiológico de vaginitis y vaginosis en mujeres sexualmente activas. *Med.*, 62: 103-106.
- Braun, H.; Vera, C.; Belmar, C. y Carvajal, J. 2003. Consecuencias perinatales de la infección intrauterina por *Candida*. *Rev. Chil. Obst. Ginecol.*, 68: 343-348.
- Buscemi, L.; Arechavala, A. y Negrori, R. 2004. Estudio de vulvovaginitis agudas en pacientes adultas sexualmente activas con especial referencia a la candidiasis en pacientes del hospital Francisco J Muñiz. *Rev. Iberoam. Micol.*, 21:177-181.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). 2008. Method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast. Tercera edición. M44-A. National committee for clinical laboratory standards, wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA.
- Cuétara, M.; Alambra, A. y Del Palacio, A. 2006. Diagnóstico microbiológico tradicional de la candidiasis invasora en el enfermo crítico no neutropénico. *Rev. Iberoam. Micol.*, 23: 4-7.
- Diaz, F. y Estrada, S. 2003. Vaginitis y vaginosis bacteriana. Fundamentos de Medicina. Enfermedades infecciosas. Sexta edición. Bogotá – Colombia.
- Ferrer, J. 2000. Vaginal candidosis: epidemiological and etiological factors. *Int. J. Gynecol. Obstet.*, 71: 21-27.
- Gatica, J.; Goic, I. y Martínez, M. 2002. Utilidad del agar cromocándida para el diagnóstico diferencial de *Candida* spp aisladas de muestras vaginales. *Rev Chil. Obstet. Ginecol.*, 67: 300-305.
- Gamazo, C.; López, I. y Díaz, R. 2005. *Manual práctico de Microbiología*. Tercera edición. Editorial Masson, S.A. Barcelona, España.
- Goswami, D.; Goswami, U.; Banerjee, V.; Dadhwal, S.; Miglani, A.; Lattif, A.

y Kochupillai, N. 2006. Pattern of *Candida* species isolated from patients with diabetes mellitus and vulvovaginal candidiasis and their response to single dose oral fluconazole. *J. Infect.*, 52: 111–117.

Guillén, M.; Moreno, F.; López, M.; Omaña, T.; Altuve, F. y Toro, M. 2003. Hallazgos microbiológicos cervicovaginales en pacientes de pesquisa de cáncer. *Rev. Fac., Farm.*, 45: 8-12.

Jiménez, R. 2000. *Bioestadística. Métodos Estadísticos Descriptivos*. Universidad de los Andes. Mérida. Venezuela.

Joklik, W.; Willett, H. y Amos, B. 1986. *Micosis oportunistas: Zinsser Microbiología*. Décimooctava edición. Buenos Aires, Argentina, Editorial Panamericana.

Koehler, A.; Chu, K.; Honang, E. y Cheng, A. 1999. Simple, reliable, and cost-effective yeast identification scheme for the clinical laboratory. *J. Clin. Microbiol.*, 37: 422-436.

Koneman, E.; Allen, S.; Dowell, V.; Jonda, W.; Sommers, H. y Winn, W. 1999. *Diagnóstico microbiológico*. Tercera edición. Editorial Médica Panamericana. México.

Kurtzman, C. y Fell, V. 1998. *The yeasts, a taxonomic study*. Cuarta edición. Elsevier Science . B.V. Amsterdam.

Lasker, B.; Elie, C. y Lott, T. 2001. Molecular epidemiology of *Candida albicans* strains isolated from the oropharynx of HIV- positive patients at successive clinic visits. *Med. Micol.*, 39: 341-352.

Lass, C.; Perkhofer, S. y Mayr, A. 2010. *In vitro* susceptibility testing in fungi: a global perspective on a variety of methods. *Mycosrs*, 53: 1-11.

Llovera, V. y Perurena, M. 2004. Identificación de levaduras de exudados vaginales, características clínicas asociadas a la candidiasis. *Rev. Cub. Med. Trop.*, 56: 21-25.

Mendoza, M. 2005. Importancia de la identificación de levaduras. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 25: 13-21.

Murray, D.; Baren, E.; Jorgensen, J.; Pfaller, M. y Tenover, R. 2003. *Manual of clinical microbiology*. Eighth edition. American society for microbiology,

Washington, D.C.

Okungbowa, F.; Isikhuemhen, O. y Dede, A. 2003. The distribution frequency of *Candida* species in the genitourinary tract among symptomatic individuals in Nigerian cities. *Rev. Iberoam. Micol.*, 20: 60-63.

Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2000. *Bioética*. Principios éticos para los Investigadores en seres humanos. Publicación científica. OMS-OPS.

Padilla, C. y Lobos, O. 2007. Aislamiento de cepas de *E. coli* desde casos clínicos de infección vaginal: asociación con otros microorganismos y susceptibilidad antibacteriana. *Rev. Chil. Obstet. Ginecol.*, 72: 222-224.

Panizo, M. y Reviákina, V. 2001. *Candida albicans* y su efecto patógeno sobre las mucosas. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 21(2): 39-45.

Panizo, M. y Pérez C. 2000. Susceptibilidad in vitro a los antifúngicos de *Candida* sp. y serotipos de *Candida albicans* aisladas de pacientes con vaginitis primaria y recurrente. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 16: 22-27.

Pardi, G.; Cardozo, E.; Perrone, M. y Salazar, E. 2003. Detección de especies de *Candida* en casos de recidiva en pacientes con Estomatitis sub-protésica, medicados con Miconazol Jalea Oral. *Act. Odont. Ven.*, 41(2): 108-119.

Paul, L. y Fidel, J. 2005. Inmunity in vaginal candidiasis. *Current opinion in infectious diseases*, 18: 107-111.

Pinjon, E.; Sullivan, D.; Salkin, I.; Shanley, D. y Coleman, D. 1998. Simple, inexpensive reliable method for differentiation of *Candida* sp. *J. Clin. Microbiol.*, 36: 2093-2095.

Peman, J.; Aparisi N.; Gobernado, E. y García, C. 2004. Utilidad de una nueva técnica comercial, GLABRATA RTT, para la identificación rápida de *C. glabrata* *Rev. Iberoam. Micol.*, 21: 82-84.

Poitras, E. y Houde, A. 2002. La PCR en temps réel: principes et applications. *Rev. in Biol. and Biotech.*, 2: 2-11.

Rodero, L.; Córdoba, S.; Vivot, W.; Campo, M.; Corfield, P. y Olguín, C. 2006. Método de difusión con discos para la determinación de sensibilidad a fluconazol en aislamientos de *Candida* sp. *Rev. Argentina Microbiol.*, 38:

155-163.

Saballs, P.; Torres, J. y Salvadó, M. 2000. La candidemia en el síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Estudio retrospectivo de nueve casos. *Rev. Iberoam. Micol.*, 17: 2-5.

Vandesompele, J.; De Preter, K.; Pattyn, F.; Poppe, B.; Van Roy, N.; De Paepe, A. y Speleman, F. 2002. Accurate normalisation of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Gen. Biol.*, 3: 1–12.

Viudes, A.; Perea, J. y López, R. 2001. Identification of Continuous B-Cell Epitopes on the Protein Moiety of the 58-kiloDalton Cell Wall Mannoprotein of *Candida albicans* Belonging to a Family of Immunodominant Fungal Antigens. *Inf. Immun.*, 69: 2909-2919.

ANEXOS
ANEXO 1

Levadura	LEVADURAS DE INTERES CLÍNICO										OBSERVACIONES										
	AUXANOGRAMA					ZIMOGRAMA															
	MALTOZA	SACAROSA	INOSITOL	LACTOSA	CELOBIOSA	RAFINOSA	MELIBIOSA	ERITRITOL	RAMNOSA	DULCITOL	TREHALOSA	XILOSA	GALACTOSA	GLUCOSA	GALACTOSA	SACAROSA	MALTOZA	LACTOSA	RAFINOSA	TREHALOSA	
<i>C. albicans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/b	+	+	-	+/	Biología molecular p/identificación definitiva
<i>C. dubliniensis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/+nd	+	+/+	+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	
<i>C. famata</i>	+	+	+	+/	+	+	+	+	+	+/+	+	+/+	+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	
<i>C. glabrata</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/+	+	+/+	+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	
<i>C. guilliermondii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/+	+	+/+	+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	
<i>C. haemulonii</i>	+	+	+	+	+	+/+	+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	
<i>C. intermedia</i>	+	+	+	+	+	+/+	+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	
<i>C. kefyi</i>	+	+	+	+/	+	+/	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	* Ascas en fase sexual
<i>C. krusei</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/	+	+	+	+	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>C. lusitanae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/	+	+	+	+	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>C. parapsilosis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/	+	+	+	+	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>C. pelliculosa</i>	+	+	+	+/	+	+/	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>C. pulcherrima</i>	+	+	+/	+/	+	+/	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>C. rugosa</i>	+	+	+	+/	+	+/	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>C. tropicalis</i>	+	+	+/	+/	+	+/	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>C. utilis</i>	+	+	+/	+/	+	+/	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>C. zeylanoides</i>	+	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>Crypt. albidus</i>	+	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>Crypt. laurentii</i>	+	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>Crypt. neoformans</i>	+	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>Crypt. uniguttulatus</i>	+	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>Geotrichum candidum</i>	+	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>Rhodotorula glutinis</i>	+	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>Rhodotorula minuta</i>	+	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	+	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	+	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>Trichosporon asahii</i>	+	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>Trichosporon cutaneum</i>	+	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>Trichosporon inkin</i>	+	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>Trichosporon mucoides</i>	+	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	
<i>Yarrowia lipolytica</i>	+	+	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	

+/+: positivo débil o negativo, -/+: negativo o positivo débil. Referencia: G.S.de Hoog, J. Guarro, J. Gené & M.J. Figueras. Atlas of Clinical Fungi. 2da edición. CBS. Utrecht, The Netherlands/Universitat Rovira i Virgili. Reus, Spain. 2000. Versión electrónica del mismo Atlas actualizado. 2005.

ANEXO 2

Diámetro (mm) de la zona de inhibición de las cepas de referencia usadas como control de calidad. Método de difusión por disco para fluconazol y voriconazol.

Antifúngico.	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	<i>C. krusei</i> ATCC 6258
Fluconazol (25 µg)	22 - 33	-----
Voriconazol (1 µg)	28 - 37	16 - 25

Fuente: Manual M44-A. Method for antifungal disk diffusion susceptibility of yeasts. 2004.

APÉNDICES
APÉNDICE 1

FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA RESISTENCIA *IN VITRO*
DE *Candida glabrata* A FLUCONAZOL EN PACIENTES CON CANDIDIASIS
VULVOVAGINAL RECURRENTE.

FICHA DE REGISTRO DEL PACIENTE

Fecha: _____

DATOS DEL PACIENTE			
Nº			
Nombres y Apellidos:			
Edad:			
Lugar y Fecha de Nacimiento:			
Dirección de Habitación			
DATOS CLÍNICOS			
Diagnóstico:			
Tiempo de evolución:			
Síntomas:			
Recibe Terapia antimicrobiana	Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	Especifique:
Ha sufrido otros episodios	Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	
Número			
Tiempo			
Sexualmente activa	Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	
ENFERMEDADES SUBYACENTES			
Diabetes	Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	
HIV	Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	
Otra			
TIPO DE MUESTRA			
Endocervix			
Exocervix			
Fondo de saco			
EXÁMEN DIRECTO			
Olor		Color	
pH			
Sedimento:			
DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO			
Exámen microscópico:			

Levaduras identificadas:

APÉNDICE 2

CONSENTIMIENTO VÁLIDO

Bajo la coordinación de la Lcda. Evis Parra, profesora de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, se está realizando el proyecto de investigación intitulado: FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA RESISTENCIA *IN VITRO* DE *Candidaglabrata*AFLUCONAZOLEN PACIENTES CON CANDIDIASIS VULVOVAGINAL RECURRENTE.

Yo: _____

C.I: _____

Nacionalidad: _____

Estado Civil: _____

Domiciliado en: _____

Siendo mayor de edad, en uso pleno de mis facultades y sin que medie coacción ni violencia alguna en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio médico declaro mediante la presente:

1.- Haber sido informado (a) de manera clara y sencilla por parte del grupo de investigación de este proyecto de todos los aspectos relacionados con el proyecto de investigación intitulado:FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA RESISTENCIA *IN VITRO* DE *Candidaglabrata*AFLUCONAZOLEN PACIENTES CON CANDIDIASIS VULVOVAGINAL RECURRENTE.

2.- Tener conocimiento claro de que el objetivo del trabajo antes señalado es: Identificar*Candidaglabrata* en muestras de secreciones vaginales de pacientes procedentes de dos centros de salud en la ciudad de Cumaná, estado Sucre, y su relación con candidiasis vulvovaginalrecurrente.

- 3.- Conocer bien el protocolo experimental expuesto por el investigador en el cual se establece que mi participación en el trabajo consiste en: donar de manera voluntaria la muestra de acuerdo al tipo de infección, la cual será obtenida por el personal especializado y autorizado.
- 4.- Que la muestra que acepto donar será utilizada única y exclusivamente para estudio micológico.
- 5.- Que el equipo de personas que realiza esta investigación coordinada por la profesora Evis Parra me han garantizado confidencialidad relacionada tanto a mi identidad como a cualquier otra información relativa a mi persona a la que tenga acceso por concepto de mi participación en el proyecto antes mencionado.
- 6.- Que bajo ningún concepto podré restringir el uso para fines académicos de los resultados obtenidos en el presente estudio.
- 7.- Que mi participación en dicho estudio no implica riesgos e inconveniente alguno para mi salud o la de mi representado.
- 8.- Que cualquier pregunta que tenga en relación a este estudio me será respondida oportunamente por parte del equipo antes mencionado, con quienes me puedo comunicar por los teléfonos: 0424-8965378 con el Br. Tulio Corrales.
- 9.- Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido ni pretendo recibir ningún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que pueda producirse en el referido proyecto de investigación.

DECLARACIÓN DEL VOLUNTARIO

Luego de haber leído, comprendido y aclarado mis interrogantes con respecto a este formato de consentimiento y por cuanto a mi participación es totalmente voluntaria, acuerdo:

- 1.- Aceptar las condiciones estipuladas en el mismo y a la vez autorizar al equipo de investigadores a realizar el referido estudio en la muestra que acepto donar para los fines indicados anteriormente.

2.- Reservarme el derecho de revocar esta autorización y donación en cualquier momento sin que ello me conlleve algún tipo de consecuencia negativa para mi persona.

Firma del voluntario _____

Nombre y Apellido _____

Lugar y Fecha _____

Firma del testigo _____

Nombre y Apellido _____

C.I: _____

Lugar y Fecha _____

Declaración del Investigador

Luego de haber explicado al voluntario la naturaleza del protocolo mencionado, certifico mediante el presente que, a mi leal saber, el sujeto que firma este formulario de consentimiento comprende la naturaleza, requerimientos, riesgos y beneficios de la participación en este estudio. Ningún problema de índole médico, de idioma o de instrucción ha impedido al sujeto tener una clara comprensión de su compromiso con este estudio.

Por el Proyecto de FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA RESISTENCIA *IN VITRO* DE *Candida glabrata* AFLUCONAZOLEN PACIENTES CON CANDIDIASIS VULVOVAGINAL RECURRENTE.

Nombre: _____

Lugar y Fecha: _____

HOJAS DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA RESISTENCIA <i>IN VITRO</i> DE <i>Candida glabrata</i> A FLUCONAZOL EN PACIENTES CON CANDIDIASIS VULVOVAGINAL RECURRENTE
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Corrales Villafañe, Tulio Ernesto	CVLAC	17.214.922
	e-mail	tecv_18@hotmail.com
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

<i>Candida glabrata, candidiasis vulvovaginal recurrente, factores de riesgo</i>

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

Se evaluaron los factores de riesgo asociados a la resistencia *in vitro* de *Candida glabrata* a fluconazol en pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente. Se tomaron 140 muestras de secreción vaginal de pacientes procedentes del área de ginecología del Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá" y el Hospital de Veteranos "Dr. Julio Rodríguez", durante los meses de octubre y noviembre de 2011. Las muestras fueron sembradas en agar Sabouraud dextrosa con antibiótico y las cepas obtenidas fueron identificadas utilizando métodos convencionales como producción de tubo germinal en suero, producción de clamidoconidias en CornMeal agar (CMA), zimograma, crecimiento a 45°C y antifungigrama. Los resultados de la identificación demostraron que 55,4% de los aislados pertenecieron a *C. albicans*, 30,4% *C. glabrata*, 8,9% *C. tropicalis* y el 5,3% *C. guilliermondii*. En la prueba de susceptibilidad antifúngica, las cepas no *albicans* demostraron resistencia a fluconazol e itraconazol y 100% de sensibilidad a voriconazol. *C. glabrata* fue la especie mayormente aislada en los casos de candidiasis vulvovaginal recurrente. Los síntomas clínicos más resaltantes en este grupo de pacientes fueron: flujo cremoso, prurito y ardor; y entre los factores de riesgo asociados se encontraron la edad, el uso frecuente de antimicrobianos y el uso de dispositivos intrauterinos. Es importante la identificación de la especie, así como, la aplicación de pruebas de susceptibilidad antifúngica, para indicar la terapéutica adecuada y evitar episodios de recurrencia de candidiasis vulvovaginal.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Parra, Evis	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	10.947.421
	e-mail	eviespin@hotmail.com
	e-mail	
Centeno, Sara	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	5.702.407
	e-mail	sara.centeno@gmail.com
	e-mail	
Díaz, Josefa	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	5.007.425
	e-mail	diazvv@gmail.com
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año Mes Día

Colocar fecha de discusión y aprobación:

2013	02	08
------	----	----

Lenguaje: SPA

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis-corralest.doc	Application/word

Alcance:

Espacial: INTERNACIONAL

Temporal: TEMPORAL

Título o Grado asociado con el trabajo:Licenciado en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciado

Área de Estudio: Bioanálisis

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado: Universidad de Oriente

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

UNIVERSIDAD DE ORIENTE
SISTEMA DE BIBLIOTECA
RECIBIDO POR <i>Martínez</i>
FECHA <i>5/8/09</i> HORA <i>5:30</i>

Cordialmente,

JUAN A. BOLAÑOS CUNVELO
Secretario

C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso- 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009) : “los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización”.



Corrales, Tulio
Autor