



UNIVERSIDAD ANDINA "SIMÓN BOLÍVAR"
SEDE CENTRAL
Sucre – Bolivia

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN
"ANÁLISIS CLÍNICOS - IV VERSION"

"FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA RESISTENCIA DE *Cándida spp.*
A FLUCONAZOL AISLADA DE PACIENTES CON CANDIDIASIS VAGINAL
QUE ASISTEN AL SEGURO SOCIAL UNIVERSITARIO DE POTOSÍ
DE JULIO A DICIEMBRE 2013"

Tesis presentada para obtener
el Grado Académico de Magíster
en Análisis Clínicos

MAESTRANTE: Viviana Gómez Montañez

POTOSÍ – BOLIVIA
2014



UNIVERSIDAD ANDINA “SIMÓN BOLIVAR”
SEDE CENTRAL
Sucre – Bolivia

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN
“ANÁLISIS CLÍNICOS - IV Versión”

“FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA RESISTENCIA DE *Cándida spp.*
A FLUCONAZOL AISLADA DE PACIENTES CON CANDIDIASIS VAGINAL
QUE ASISTEN AL SEGURO SOCIAL UNIVERSITARIO DE POTOSÍ DE
JULIO A DICIEMBRE 2013”

Tesis presentada para obtener
el Grado Académico de Magíster
en Análisis Clínicos

MAESTRANTE: Viviana Gómez Montañez
TUTOR: Msc. María Luisa De la Cruz Claire

POTOSÍ – BOLIVIA
2014

DEDICATORIA

A DIOS a la Virgen María y a Jesús por
sus bendiciones, por darme fe, esperanza
y fuerza para alcanzar mi sueños.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por estar siempre conmigo y no desampararme en los momentos más difíciles de mi vida.

A mi familia por la paciencia, colaboración en el presente trabajo.

A la Dra. María Luisa De la Cruz Claure por darme una orientación, paciencia y colaboración en el presente trabajo.

A todos los amigos y personas que en algún momento me brindaron su ayuda.

Gracias.

RESUMEN

Introducción.- La resistencia de *Cándida spp* a fluconazol fue por muchos años un problema de poca importancia, así mismo otros estudios reportaron un aumento en la resistencia a este antimicótico azólico, especialmente en la especie de *Cándida no albicans*, se reportaban algunos casos con resistencia natural al medicamento como *Cándida krusei* es por este motivo se requiere conocer la presencia de cepas resistentes a fluconazol en pacientes de Seguro Social Universitario de Potosí.

Objetivo.- Determinar factores de riesgo asociados a la resistencia de *Cándida spp.* a fluconazol, aislada de pacientes con candidiasis vaginal que asistieron al Seguro Social Universitario de Potosí de julio a diciembre 2013.

Metodología.- El estudio tuvo un enfoque cuantitativo, fue de tipo observacional, corte transversal, descriptivo y componente analítico. Se determinó la resistencia a través del método de difusión agar empleando sensidiscos según los puntos de corte del CLSI.

Resultado.- Se aislaron 35 cepas de *Cándida spp.* de 33 mujeres que asistieron al SSUP. Estableciendo una resistencia de *Cándida spp.* a fluconazol de 22,8 % y la misma estuvo asociada a la especie de *Cándida no albicans* con un 62,5%, de resistencia, considerando a la especie de *Cándida*, embarazo como factores de riesgo.

Conclusiones.- La resistencia de *Cándida spp.* a fluconazol en mujeres con secreciones vaginales está asociada a la especie, siendo estadísticamente significativo ($p < 0,05$). No se encontró asociación entre la resistencia de *Cándida spp.* a fluconazol y embarazo

Palabras clave: Candidiasis, *Cándida no albicans*, resistencia.

Summary

Introduction. - The *Candida spp.* resistance to fluconazole was for many years been a minor problem, but recently increased resistance to fluconazole was reported, especially in non-albicans *Candida* species. The antifungal-resistant species more frequently in patients with vaginal candidiasis is *Candida krusei* therefore requires knowledge of the presence of resistant strains to fluconazole in patients SSUP.

Objective. -The *Candida spp* resistance to fluconazole was determined, he isolated from vaginal discharge of patients with vaginal candidiasis Social Security University de Potosi associated risk factors, 2013.

Methodology.-The study had a quantitative approach, was of observational type, descriptive and component cross section analytical. The resistance through the diffusion method was determined to agar using sensidiscos according to the points of cut of the CLSI.

Result. -35 stocks of *Innocent spp.* were isolated. Of 33 women who attended the SSUP. Establishing an *Innocent* resistance of *spp.*to fluconazol of 22.8 % and the same one was associate to *the Innocent* species of *albicans* with a 62.5%, of resistance, not considering to the species of *Innocent*, pregnancy and diabetes like risk factors.

Conclusions. - Therefore *Candida spp.* resistance to fluconazole in women with vaginal discharge is associated with the species, being statistically significant ($p < 0.05$) No significant association between resistance of *Candida spp* found fluconazole pregnancy

Keywords: *Candidiasis, Candida no albicans.* resistance.

INDICE

CAPÍTULO I	1
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Antecedentes del tema de investigación	1
1.2. Planteamiento del problema.....	4
1.3. Justificación	5
1.4. Objetivos	6
1.4.1. Objetivo general.....	6
1.4.2. Objetivos específicos.....	7
CAPÍTULO II	8
2. MARCO TEÓRICO Y CONTEXTUAL	8
2.1. Marco teórico	8
2.1.1. Candidiasis vaginal.....	8
2.1.1.1. Candidiasis vaginal no complicada	9
2.1.1.2. Candidiasis vaginal complicada	9
2.1.1.2.1. La recurrencia o cronicidad.....	9
2.1.2.3. Epidemiología	11
2.1.2. <i>Cándida spp.</i>	13
2.1.2.1. Resistencia intrínseca	16
2.1.2.2. Resistencia primaria	17
2.1.2.3. Resistencia secundaria.....	17
2.1.3. Antimicóticos azólicos empleados en el tratamiento de candidiasis vaginal.....	18
2.1.3.1. Fluconazol.....	18
2.1.3.2. Mecanismos de resistencia del fluconazol.....	20
2.1.4. Factores asociados a la resistencia del fluconazol.....	21
2.2 Hipótesis.....	24
2.3. Marco Contextual	24
2.3.1. Bolivia.....	24

2.3.1.1. Indicadores en salud.....	26
2.3.2. Potosí.....	27
2.3.3. Seguro Social Universitario de Potosí	27
CAPÍTULO III.....	29
3. MARCO METODOLÓGICO	29
3.1. Enfoque, tipo y diseño de la investigación	29
3.2. Población y muestra	29
3.2.1. Población.....	29
3.2.2. Muestra.....	29
3.3. Variables de estudio	30
3.3.1. Identificación y clasificación	30
3.3.1.1 Variable Dependiente	30
3.3.1.2. Variables Independientes	30
3.3.2. Matriz de operacionalización de variables.....	31
3.4. Criterios de inclusión y exclusión	40
3.4.1. Criterios de inclusión	40
3.4.2. Criterios de exclusión.....	40
3.5. Procedimiento para recolección de la información	40
3.5.1. Fuente de recolección de la información.....	40
3.5.2. Descripción de instrumentos de recolección	40
3.5.3. Procedimiento de recojo de la información	41
3.6. Procesamiento y análisis de datos.....	48
3.7. Delimitación de la investigación	48
3.7.1. Delimitación geográfica.....	48
3.7.2. Sujetos que participaran en el estudio	49
3.7.3. Delimitación temporal	49
CAPITULO IV.....	50
4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	50
4.1. Descriptivo.....	50

4.2. Análisis bivariado.....	55
4.3. Discusión.....	58
CAPITULO V.....	61
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	61
5.1. Conclusiones.....	61
5.2. Recomendaciones.....	61
BIBLIOGRAFIA.....	63
ANEXOS.....	71

INDICE DE TABLAS

4.1. DESCRIPTIVOS.....	49
4.1.1. Tablas de una entrada.....	49
Tabla N° 1 Mujeres con candidiasis vaginal según edad del Seguro Social Universitario de Potosí 2013.....	49
Tabla N° 2 Tipo de especie de <i>Cándida spp.</i> aislada de muestras de flujo vaginal de pacientes del Seguro Social Universitario de Potosí 2013.....	50
Tabla N° 3 Mujeres con candidiasis vaginal según embarazo del Seguro Social Universitario de Potosí 2013.....	50
Tabla N° 4 Mujeres con candidiasis vaginal según diabetes del Seguro Social Universitario de Potosí 2013.....	51
Tabla N° 5 Resistencia de <i>Cándida spp</i> a fluconazol aislada de flujo vaginal de pacientes del Seguro Social Universitario de Potosí 2013.....	51
4.2. Tabla Doble Entrada.....	52
Tabla N° 6 Resistencia de <i>Cándida spp.</i> a fluconazol según especie del Seguro Social Universitario de Potosí 2013.....	52
Tabla N° 7 Resistencia de <i>Cándida spp</i> .a fluconazol según embarazo de Seguro Social Universitario de Potosí 2013.....	52
Tabla N° 8 Resistencia de <i>Cándida spp.</i> a fluconazol según diabetes del Seguro Social Universitario de Potosí 2013.....	53
4.2. ANÁLISIS BIVARIADO.....	54
Tabla N° 9 Relación de resistencia de <i>Cándida spp.</i> a fluconazol y especie de <i>Cándida spp.</i> , del Seguro Social Universitario de Potosí 2013.....	54
Tabla N° 10 Relación de resistencia de <i>Cándida spp.</i> a fluconazol y embarazo. Seguro Social Universitario de Potosí 2013.....	55
Tabla N° 11 Relación entre resistencia de <i>Cándida spp</i> .a fluconazol según diabetes. Seguro Social Universitario de Potosí 2013.....	56

INDICE DE FIGURAS

Fig. N°1 Examen directo con solución fisiológica estéril.....	42
Fig. N°2 Examen directo con tinción de Gram: pseudohifas; levaduras teñidas como estructuras de Gram	42
Fig. N°3 Colonias blancas de <i>Cándida spp</i> en agar Sabouraud en placa.....	43
Fig. N°4 Colonias blancas de <i>Cándida spp</i> de agar Sabouraud en tubo.....	43
Fig. N°5 Tubo germinal	44
Fig. N°6 Medio cromogénico de CHROMagar-Cándida. <i>Cándida albicans</i>	45
Fig. N°7 Colonias de <i>Cándida spp</i> en Chromagar.....	45
Fig. N°8 Resistencia a fluconazol por el método de difusión de disco.....	47

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN.

1.1 Antecedentes del tema de investigación

La candidiasis vaginal (CV) ocupa el primer lugar como motivo de consultas ginecológicas en el Seguro Social Universitario de Potosí (SSUP). Se ha observado que gran parte de la población femenina en edad reproductiva presenta por lo menos un cuadro clínico de este padecimiento a lo largo de su vida y lo que aumenta su importancia es la recurrencia del cuadro clínico.

El principal agente causal reportado a nivel mundial es *Cándida albicans*, un organismo muy común y distribuido por todo el mundo. Normalmente, se encuentra en pequeñas cantidades en la vagina, en la mucosa bucal, en el tracto digestivo y en la piel y no ocasiona ningún tipo de síntoma o de enfermedad. Aproximadamente el 25% de las mujeres tienen esta levadura sin que se presente ningún síntoma de enfermedad. Los síntomas aparecen cuando el equilibrio entre los microorganismos que normalmente habitan en la vagina se pierde y la población de *Cándida albicans* aumenta en relación a otros microorganismos.

La *Cándida albicans* presenta una serie de factores de virulencia que facilitan la colonización y la infección. Entre estos cabe mencionar el dimorfismo o capacidad del hongo para desarrollar un crecimiento levaduriforme y filamentosos el cual favorece la evasión de los mecanismos del hospedador.

También existen otros factores como: adhesinas que permiten la unión de la célula fúngica a los receptores del hospedador o a materiales plásticos como prótesis y catéteres. Proteínas y fosfolipasas enzimas que favorecen su

diseminación y el tigmotropismo que permite encontrar discontinuidades y penetran a los tejidos.

La resistencia de las levaduras a los agentes antimicóticos fue por muchos años un problema de poca importancia, sin embargo, debido a la introducción de nuevos fármacos antimicóticos, se creó una presión de selección sobre este microorganismo, promoviendo la presencia de cepas resistentes y la emergencia de especies no *albicans* como *Cándida glabrata*, *Cándida tropicalis*, *Cándida parapsilosis* a su vez, aparecen con mayor frecuencia en pacientes con candidiasis vaginal recurrente.¹

Hasta hace unos pocos años, se consideraba que los hongos eran regularmente susceptibles a los antimicóticos; se había observado solamente que *Cándida spp.* podía adquirir resistencia a la 5 flurocitocina.² Más tarde, se observó la resistencia de *Cándida albicans* en pacientes con candidiasis granulomatosa crónica bajo tratamiento prolongado con ketoconazol.³ El incremento de cepas resistentes de especies no *albicans*, ha traído consigo el aumento de fallas terapéuticas, que incrementan los costos de atención a la salud y por otro lado impacta en la calidad de vida de las mujeres con candidiasis vaginal (CV).⁴ Entre estas se destacan la *Cándida krusei* que tiene resistencia natural al fluconazol y la *Cándida glabrata* cuya susceptibilidad a los azoles es muy variable.^{5,6}

La *Cándida glabrata* se aísla con mayor frecuencia, como agente de candidiasis vaginal y micosis sistémicas graves en los enfermos críticos, inmunodeprimidos y con neoplasias hematológicas.

El interés por la *Cándida glabrata* reside en ser considerada como un patógeno emergente, con la particularidad de que un número considerable de cepas

pueden ser resistentes in vitro a los antimicóticos triazólicos. La estructura antigénica de *Cándida glabrata* ha sido determinada por varios autores, demostrándose que existe cierto grado de reactividad cruzada con otras especies consideradas más patógenas como *Cándida albicans*, *Cándida tropicalis*, *Cándida guilliermondi*, *Cándida kefyr* y *Cándida parapsilosis*.

En diversas publicaciones, se menciona el aislamiento de *Cándida glabrata* de diferentes poblaciones y localizaciones, destaca la mayor frecuencia en los pacientes ancianos (27%) y con estomatitis debida a prótesis dental (22-25%). La *Cándida glabrata* también se ha aislado en el 5-25% de las muestras de estómago y del 5-30 % de origen ginecológico u obstétrico en mujeres sin vaginitis. Esta especie se aísla con muy baja frecuencia de la piel normal (1-2%) y, por el contrario, se ha cultivado hasta en el 36% de las muestras de orina procedentes de pacientes hospitalizados.⁷

La Candidiasis vaginal recurrente tiende al incremento y en la práctica clínica se ha convertido en un desafío, las manifestaciones clínicas van desde la colonización asintomática hasta la sintomatología severa. El 15% de las infecciones micóticas evolucionan a candidiasis vaginal recurrente y alrededor del 85% de los casos son ocasionados por *Cándidas* no *albicans*.⁸

La morbilidad concomitante como la diabetes mellitus, cortico terapia o terapia antimicrobiana a largo plazo, estados de inmunosupresión, embarazo y colonización de levaduras por el tracto gastrointestinal suelen coincidir con la candidiasis vaginal recurrente. Las opciones terapéuticas para candidiasis recurrente contemplan tratamiento de inducción y de mantenimiento, los fármacos antimicóticos más recomendados son fluconazol e itraconazol con diversos protocolos por tiempos prolongados hasta por 6 meses, los resultados

de cura clínica y micológica van desde 49.6% hasta 90%. El fluconazol demostró en los diferentes protocolos terapéuticos ser un antimicótico eficaz para las pacientes con vaginitis micótica recurrente en numerosos ensayos clínicos, con buena tolerancia y rango terapéutico amplio de dosis única.

Sobel y colaboradores en un ensayo con dosis secuenciales de fluconazol 150 mg los días 0 y 3 incrementaron la frecuencia de curación de 67% a 80%.⁹ de candidiasis vaginal recurrente. Los estudios de Kotarski demostraron que el fluconazol es una opción eficaz de tratamiento para las pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente confirmando alta confiabilidad a largo plazo en numerosos ensayos clínicos y buena tolerancia.¹⁰

Actualmente no hay datos concluyentes en el Seguro Social Universitario de Potosí (SSUP) sobre la distribución de las especies causantes de Candidiasis vaginal y la prevalencia de su resistencia a fluconazol.

Por ello se considera pertinente llevar a cabo un estudio para establecer los factores asociados a la resistencia a fluconazol en aislados clínicos de diferentes especies del género *Cándida* de pacientes del Seguro Social Universitario en la Ciudad de Potosí - Bolivia, así como establecer la relación entre la presencia de resistencia y las características clínicas y microbiológicas.^{11, 12,13}

1.2. Planteamiento del problema

¿Cuáles son los factores de riesgo asociados a la resistencia de *Cándida spp.* a fluconazol aislada de pacientes con candidiasis vaginal que asistieron al Seguro Social Universitario de Potosí, de julio a diciembre de 2013?

1.3. Justificación

La vaginitis constituye una de las primeras afecciones ginecológicas y su causa más frecuente es la candidiasis. La *Cándida albicans* ha sido considerada el agente más importante de esta patología; sin embargo, estudios más recientes revelan un incremento en la incidencia de otras especies del género. Algunas especies “no *albicans*” tienen la particularidad de presentar resistencia a los tratamientos usuales con antimicóticos.

Es importante la identificación de la especie del género *Cándida* para la orientación del tratamiento antimicótico, porque existen múltiples reportes en la literatura sobre resistencia innata y adquirida de alguna de estas levaduras a tratamientos de primera y segunda generación como el caso de *Cándida krusei*, *Cándida glabrata* y *Cándida albicans* que con frecuencia pueden presentar resistencia al fluconazol, de aquí la gran importancia el llevar a cabo la identificación del microorganismo, garantizando la eficacia del tratamiento anti fúngico. Ha tenido una gran importancia el valorar e introducir en los laboratorios de micología las pruebas de identificación de levaduras de rutina, las cuales han permitido ampliar el conocimiento de estos microorganismos desde el punto de vista clínico, micológico y epidemiológico.

En Bolivia se han realizado pocos estudios referidos a la prevalencia de candidiasis vaginal con especificación de género, especie y su resistencia a los antimicóticos como el fluconazol, en Potosí no se tiene datos sobre la prevalencia de este agente etiológico en candidiasis vaginal y se desconoce los datos de la susceptibilidad a fluconazol. En el Laboratorio del Seguro Social Universitario de Potosí se refiere un 65% de presencia de *Cándida spp.* en flujos vaginales en la gestión 2012.¹⁴

Dado que el año 2012 se brindó atención a 375 mujeres embarazadas que experimentan cambios fisiológicos, hormonales, tolerancia inmunitaria y elevadas concentraciones del glucógeno en la vagina por el cambio de pH, por predisponer a una colonización por *Cándida spp.* Estos argumentos tienen mucha importancia a la hora de concebir y recibir un nuevo ser humano y al no ser tratadas oportunamente en los meses previos al parto, la candidiasis vaginal de la madre expone al recién nacido a múltiples infecciones por *Cándida*, como muguet bucal (infección del área oral causado por *Cándida albicans*), ceguera temporal y candidiasis intestinal para nombrar unas cuantas de las infecciones que puede adquirir el recién nacido.

Se estima que el 75% de las mujeres padecen candidiasis vaginal, con una recurrencia del 40-50%, que a pesar de todo suelen responder bien a tratamiento local o tópico. La tasa de portadoras asintomáticas puede oscilar entre el 50% y el 90%, aislándose *Cándida albicans* en un 80-90% y *Cándida glabrata* en un 5% con tasas de recurrencia del 30%.¹⁵

Por ello se considera el ejecutar este proyecto e implementando el servicio de micología, con nuevas técnicas de identificación en el laboratorio de la institución beneficiará al paciente proporcionando un diagnóstico correcto. La información aquí presentada, servirá al médico tratante para la selección de mejores estrategias terapéuticas de acuerdo a las características del paciente considerando factores asociados a la presencia de resistencia de la *Cándida spp.* a fluconazol

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General

Determinar los factores de riesgo asociados a la resistencia de *Cándida spp.* a fluconazol, aisladas de pacientes con candidiasis vaginal que asisten al Seguro Social Universitario de Potosí, de julio a diciembre 2013.

1.4.2. Objetivos Específicos.

- Determinarla prevalencia de candidiasis vaginal en pacientes que asisten al Laboratorio Clínico SSUP.
- Identificar las especies de *Cándida spp.* aisladas de muestras de flujo vaginal mediante métodos microbiológicos.
- Asociarla resistencia de *Cándida spp.* a fluconazol según su especie, a estado gestacional y diabetes.

CAPITULO II

2. MARCO TEÓRICO Y CONTEXTUAL

2.1. MARCO TEÓRICO

2.1.1. *Candidiasis vaginal*

La Candidiasis Vaginal es una micosis mucocutánea y frecuente en la consulta ginecobstetricia de mujeres en edad reproductiva. Fue descrita por primera vez por Wilkinson en 1849; es considerada una enfermedad inflamatoria de la vagina ocasionada por diferentes especies del género *Cándida spp.*

Las **manifestaciones clínicas** se presentan cuando existe una alteración en la microbiota vaginal y/o una disminución en la inmunidad local que ocasiona un crecimiento desmedido de las especies de *Cándida*. Lo anterior promueve la acción de la respuesta inmunológica del hospedero que a su vez producirá una reacción inflamatoria y secundariamente las manifestaciones habituales de este padecimiento.^{16, 17, 18}. Se caracteriza por la presencia de flujo blanquecino espeso, abundante y grumoso, placas blanquecinas o pseudomembranosas con pústulas satélites, prurito (comezón) y disuria (dolor al orinar). Se puede presentar de manera asintomática en un 10 al 20% de los casos.^{19, 20}

Se identifican **factores predisponentes** a la enfermedad como son: cambios en la acidez normal de la vagina, embarazo, diabetes no controlada aumentando el glucógeno celular, cambios en la microbiota natural debido a antibioticoterapia con tetraciclina, ampicilina, cefalosporinas que eliminan lactobacillus y tratamiento con cortico esteroides, terapia de remplazo hormonal, alteraciones en la inmunidad celular o humoral; otros factores como son: uso de pantalones ajustados, duchas vaginales y ropa interior de nylon. Se menciona también clima tropical subtropical, dietas ricas en carbohidratos,

frutas que condicionan a la candidiasis asintomática y edades extremas de la vida.²¹

Según la sintomatología y los episodios de candidiasis, se tiene tres grupos de mujeres: mujeres que jamás desarrollarán vaginitis a pesar de ser colonizadas por meses o años con *Cándida*, mujeres con episodios aislados, mujeres con episodios recurrentes (más de tres episodios por año).

2.1.1.1. Candidiasis vaginal no complicada Se caracteriza por ser esporádica o poco frecuente, con síntomas leves a moderados; *Cándida albicans* es la causa más probable y no existe inmunosupresión ni se relaciona a embarazo.²²

2.1.1.2 Candidiasis vaginal complicada Es la que presenta recurrencia, infección severa se relaciona a otras especies diferentes a *Cándida albicans*, se relaciona a inmunodepresión, diabetes y embarazo.

2.1.1.2.1 La recurrencia o cronicidad Es la presencia de 4 episodios específicos de candidiasis en un año y por lo menos tres episodios no están relacionados a medicamentos y cuyas causas son *Cándida* resistente al tratamiento, presencia de otras especies de *cándida* (*Cándida glabrata* y *Cándida tropicalis*), terapia antibiótica frecuente, uso de anticonceptivos, inmunodepresión, actividad sexual e hiperglicemia, corresponde a 5% de las mujeres que cursan con candidiasis vaginal.²³

La candidiasis vaginal recurrente tiende al incremento y en la práctica clínica se ha convertido en un desafío, las manifestaciones clínicas van desde la colonización asintomática hasta la sintomatología severa. Se requiere además de la clínica para el diagnóstico certero. Visualizar por microscopía blastosporas o pseudohifas en solución salina o KOH al 10% y cultivo positivo en mujeres sintomáticas. El 15% de las infecciones micóticas evolucionan a

candidiasis vaginal recurrente y alrededor del 85% de los casos son ocasionados por *Cándida no albicans*. La morbilidad concomitante como la diabetes mellitus, corticoterapia o terapia antimicrobiana a largo plazo, estados de inmunosupresión como el embarazo y colonización de levaduras por el tracto gastrointestinal suelen coincidir con la candidiasis vaginal recurrente. Las opciones terapéuticas contemplan tratamiento de inducción y de mantenimiento, los fármacos antimicóticos más recomendados son fluconazol e itraconazol con diversos protocolos por tiempos prolongados hasta por 6 meses, los resultados de cura clínica y micológica van desde 49.6% hasta 90%. El fluconazol demostró en los diferentes protocolos terapéuticos ser un antimicótico eficaz para las pacientes con vulvovaginitis micótica recurrente en numerosos ensayos clínicos, con buena tolerancia y rango terapéutico ampliado de dosis única.²⁴

El **tratamiento** no farmacológico incluye corregir factores predisponentes, discontinuar uso de productos vaginales perfumados y estimular el uso de ropa interior de algodón. Con el tratamiento farmacológico se toma en cuenta el tipo de candidiasis, es decir si es no complicada; de acuerdo a esto se determina la dosis, la vía y el tiempo de tratamiento.

El tratamiento sistémico en candidiasis vaginal, incluye agentes antimicóticos como los azoles y polienos.

- Los polienos se unen al ergosterol de la membrana plasmática fúngica, ocasionando poros hidrofóbicos en la membrana que alteran su permeabilidad, provocando la pérdida de los componentes citoplasmáticos y por ende la muerte celular. Los agentes polienos utilizados son la anfotericina B de uso sistémico y la nistatina que es tópica.

- Los antimicóticos azólicos son fármacos fungistáticos sintéticos que se caracterizan por tener un anillo imidazólico libre, unido mediante enlace C-N a otros anillos aromáticos. En relación al número de nitrógenos que contienen en el anillo imidazólico, se dividen en imidazoles (con 2 nitrógenos) y triazoles (con 3 nitrógenos).²⁵

2.1.1.3. Epidemiología

La candidiasis es una afección cosmopolita, que ha tenido un incremento en la prevalencia a través de los últimos 30 años. Del total de las micosis en humanos abarca el 7.4% y representa hasta un 25.0% de las micosis superficiales. Las especies de *Cándida*, principalmente *Cándida albicans*, habita de manera natural en la mucosa vaginal y gastrointestinal. Por eso se considera que la transmisión se da principalmente de manera endógena, aunque se ha demostrado la transmisión interpersonal.^{26, 27}

La especie que se aísla con más asiduidad continúa siendo *Cándida albicans*, aunque pueden aparecer cepas de otras especies del género *Cándida* e incluso, dos o más especies diferentes simultáneamente en un proceso infeccioso. Los tratamientos con antimicóticos orales, en especial fluconazol, son habituales. Sin embargo, se observan fracasos terapéuticos con este fármaco, fundamentalmente porque algunas de las especies que aparecen son resistentes a este triazólico, sobre todo *Cándida krusei* o poseen sensibilidad disminuida al mismo como *Cándida glabrata*.

La *Cándida glabrata* se aísla cada vez con mayor frecuencia de muestras clínicas como agente de candidiasis vaginal o produciendo micosis sistémicas graves y candidemia en los enfermos críticos, inmunodeprimidos. En las mujeres afectadas de vaginitis con flujo aumentado, se aísla tanto en infecciones intra-hospitalarias como en infecciones superficiales, fundamentalmente en candidiasis vaginal, se asocia al uso previo de

antibacterianos y antimicóticos como fluconazol; puede ser portada en las manos del personal y asociarse a infección, en conjunto con otras especies de *Cándida spp.* Se ha descrito un aumento en el aislamiento de este agente en infecciones del torrente sanguíneo y característicamente se aísla con mayor frecuencia en candidiasis vaginal recurrente, presentando además una mayor resistencia al fármaco de elección para el tratamiento: fluconazol.

En mujeres embarazadas la prevalencia es mayor (28% a 38%), con relación a la hallada en el tercer trimestre, también se encuentra a *Cándida albicans* como la principal etiología (88%) seguido de, *Cándida glabrata* (6,2 a 16,3%) ésta se relaciona a vaginitis crónica, *Cándida krusei* (4%) y *Cándida spp*(17,7%).^{28, 29} La *Cándida albicans* puede producir en más del 80% de los casos una infección congénita por *Cándida spp.* seguida por *Cándida tropicalis* en el 10%, *Cándida parapsilopsis* y produciendo corioamnionitis, aborto, muerte perinatal, infección cutánea neonatal y neumonitis fúngica.³⁰

La diabetes tipo 2 representa un factor importante de riesgo de colonización y de candidiasis vaginal. El tratamiento con fluconazol es eficaz, tanto en el caso de la infección por *Cándida albicans*, como cuando se aíslan otras especies de *Cándida*. En pacientes diabéticas los índices de infección por *Cándida albicans* y por otras especies de *Cándida* fueron semejantes. De hecho, en otras poblaciones también se refirió una mayor frecuencia de aislamiento de especies no *albicans*. La excelente respuesta al fluconazol, tanto en las mujeres no diabéticas como en las pacientes con diabetes, sugiere que este antimicótico sigue siendo la opción terapéutica de primera línea. En el caso de *Cándida glabrata*, una especie tradicionalmente menos sensible a este fármaco, el monitoreo de la sensibilidad es muy importante.³¹

La Candidiasis vaginal en Bolivia ocupa el primer lugar de las vaginitis, con una prevalencia de 8% a 14% en los tres niveles de atención. Se estima que tres de cada cuatro mujeres en edad reproductiva presentarán por lo menos un

episodio de candidiasis vaginal a lo largo de la vida. La Candidiasis vaginal recurrente se describe como la presencia de cuatro episodios en un año, se presenta del 20 al 50% de los casos, además el 10% de las mujeres en edad reproductiva puede cursar con un cuadro de Candidiasis vaginal de manera asintomática^{32, 33}

Los estudios de vigilancia de *Cándida spp.* en general, no incluyen cepas de la comunidad. Recientemente, se han propuesto nuevos puntos de corte clínicos para interpretar la susceptibilidad y puntos de corte epidemiológicos, para detectar cepas silvestres o con algún tipo de resistencia. El objetivo fue analizar la distribución y perfil de susceptibilidad *Cándida spp.* en pacientes hospitalizados y ambulatorios durante seis meses. Las cepas (n: 223) provenían desde flujo vaginal (51,6%), tracto respiratorio bajo (24,7%), orina (20,2%), heridas (1,8%), sangre (0,9%), líquido peritoneal (0,4%) y uñas (0,4%), donde el resultado de la distribución de especies *Cándida albicans* fue de 84,8% (n: 189), *Cándida glabrata* 7,6% (n: 17), *Cándida tropicalis* 2,7% (n: 6), *Cándida parapsilosis* 2,2% (n: 5) y otras 1,8% (*Cándida krusei*, *Cándida lusitaniae*, *Cándida guilliermondii*) (n: 4). La susceptibilidad dosis dependiente y resistencia fueron de 3,2% para fluconazol y 2,2% para voriconazol. La mayoría de las cepas de susceptibilidad dosis dependiente fueron resistentes y fueron ambulatorias. Se llegó a la conclusión que la mayoría de las infecciones invasoras son causadas por cepas endógenas, y que hay cepas con algún grado de resistencia en la comunidad, estas últimas debieran vigilarse.³⁴

2.1.2. *Cándida spp.*

Las especies de *Cándida*, están agrupadas dentro del Fylum:Fungi, clase:Blastomycetes,orden:Moniliales,familia:Cryptococcaceae, género:*Cándida*,especies:*albicans*,*guilliermondii*,*parapsilosis*,*krusei*,*tropicalis*.

Todas las especies del género *Cándida* se desarrollan como células levaduriformes ovaladas de 3 a 5 micras que forman yemas o blastoconidias. La pared celular está constituida por B-1,3-D-glucano (50 a 70%), manano (20%), quitina (10 a 20%), proteínas (3 a 6%) y lípidos (1 a 5%). Los hongos que presentan mutaciones se expresan con adherencia disminuida y son menos patógenos.

Con excepción de *Cándida glabrata*, las especies de *cándida* producen también pseudohifas e hifas verdaderas, por otra parte, *Cándida albicans* genera tubos germinales y clamidioconidias terminales de pared gruesa. En condiciones in vitro, casi todas las especies de este género dan lugar a colonias lisas en forma de domo de color blanco a crema.

La *Cándida albicans* es la especie más importante, forma parte de la microbiota normal de las vías gastrointestinales, la mucosa bucal (31 a 55%) y vaginal (13%), así como la piel de individuos sanos (25 a 50%). La *Cándida spp.* vive en equilibrio con otros microorganismo del cuerpo humano y coexiste como comensal, pero cuando este equilibrio se pierde, se torna patógena causando afecciones mucocutáneas. Presenta diferencias antigénicas en las proteínas de la pared celular, identificándose los serotipos A y B. El serotipo A posee los determinantes antigénicos 1, 4, 5 y 6, en tanto el serotipo B carece del epitopo 6.³⁵

El proceso de infección comienza con la adherencia del microorganismo comensal a las células de la mucosa o queratinocitos que interactúan en la relación de la pared fúngica de polisacáridos (mananos) con un receptor en la célula epitelial. Se han reconocido como adhesinas a los mananos, las proteínas y la quitina. Aunque in vivo la situación es más compleja que en estudios experimentales, se han postulado los siguientes **mecanismos de virulencia**: capacidad de adhesión; producción de enzimas proteolíticas, en especial proteasas como la Aspartilproteinasas secretadas (Saps) son

codificadas por los genes de la familia SAP, proporciona al hongo un sistema proteolítico eficiente y flexible que puede garantizar su éxito como patógeno oportunista, esencial en las infecciones de mucosas. Fosfolipasas son enzimas hidrolíticas, se secreta y detecta en la punta de las hifas durante la invasión a los tejidos las cuales facilitan la penetración y la degeneración de queratina y colágeno; transformación morfológica de levadura en hifa, pues la hifa libera mayor cantidad de fosfolipasas y es más resistente a la fagocitosis; efectos inmunorreguladores de determinantes fúngicos que contribuyen a disminuir la actividad de las defensas del huésped; cambios fenotípicos, que permiten al hongo adaptarse a condiciones diferentes o cambiantes, formación de biopelículas o biofilms.

La adhesión depende de condiciones ambientales, pero también es influida por factores del huésped, como: hidrofobicidad; mimetismo de las proteínas de superficie que puede afectar la unión a neutrófilos y por tanto, la fagocitosis; el tipo de medio para su crecimiento y condiciones del mismo, así como las alteraciones hormonales e inmunitarias. Se ha propuesto al tigmotropismo como un mecanismo que permite la invasión de las invaginaciones de los tejidos, pues in vitro los filamentos siguen la superficie de las membranas, mientras que el quimiotropismo explica la invasión por las hifas, tanto en endotelio como en epitelios.

En la vagina el principal mecanismo de extensión de las lesiones es la autoinoculación a partir de la región anorectal por una mala técnica de aseo personal. La frecuencia de episodios recurrentes se relaciona con cifras altas de hialuronato, y son secundarios al incremento de interleucina (IL)-12 e IL-23 presentes en el flujo vaginal, estas poseen acción bacteriostática, fungistática e inflamatoria. Cuando se establece la infección, las concentraciones de hialuronato aumentan y se relacionan con síntomas locales como prurito o ardor.

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

La resistencia clínica es multifactorial porque involucra factores del hospedero, del hongo y del antimicótico.

- Los **factores del hospedero** son: inmunosupresión, sitio de la infección, severidad de la infección, presencia de materiales extraños como placa dental, catéteres, válvulas, formación de abscesos y no adherencia del paciente al régimen de la droga.
- Los **factores del hongo** son: CIM (Concentración mínima inhibitoria) inicial, tipo de crecimiento del hongo (blastoconidios, levaduras o hifas), estabilidad genómica de las cepas tamaño de la población, formación de biopelículas.
- Por último se deben de tomar en cuenta los **factores del antimicótico** como: la capacidad del fármaco de inhibir el crecimiento o producir la muerte celular, dosificación: frecuencia, cantidad, horarios, dosis acumulativa, farmacocinética: absorción, distribución, metabolismo e interacciones droga-droga.

Hay tres tipos de resistencia:

2.1.2.1. Resistencia intrínseca: ningún miembro de la especie es sensible a la droga. Ej.: *Cándida krusei* y el fluconazol

2.1.2.2. Resistencia primaria: una cepa perteneciente a una especie normalmente sensible al antimicótico presenta resistencia natural a éste sin haber estado en contacto con el compuesto, por mutaciones que ocurren al azar. Ej.: *Cándida albicans* y 5-fluorocitosina; o *Cándida lusitanae* y *Cándida guilliermondii* a la anfotericina B.

2.1.2.3. Resistencia secundaria: la más interesante desde el punto de vista clínico, ocurre en una cepa previamente sensible que adquiere resistencia al compuesto después de que el hongo ha estado en contacto con él. Ej.: *Cándida albicans* y 5-fluorocitosina y fluconazol.

Entre los **mecanismos celulares** de resistencia a antimicóticos están los siguientes:

- Cambio a cepas más resistentes (cepas endógenas con resistencia intrínseca).
- Reemplazo con cepas más resistentes de *Cándida albicans* (0-33%).
- Alteraciones genéticas en cepas, es decir, resistencia secundaria.
- Como las levaduras tienen plásmidos, igual que las bacterias, sufren mutaciones no cromosomales, con expresión génica transitoria, lo que da células temporalmente resistentes (resistencia epigenética).
- Alteraciones en el tipo celular (serotipo; levadura/hifa; colonias).
- Alteraciones de la población fúngica (predisposición genética a S o R).

Las levaduras tienen muchos **mecanismos moleculares** de resistencia. Por este motivo es importante conocerlos y preocuparse de ellos, igual que en el caso de las bacterias, son los siguientes:

- alteraciones en la importación del fármaco, como ocurre con la fluorocitosina: al mutar la enzima permite la entrada del fármaco.

- alteraciones en el procesamiento intracelular de la droga (modificación, degradación).
- alteraciones en la enzima target (mutaciones puntuales, sobreexpresión, amplificación génica, conversión génica o recombinación mitótica).
- alteraciones de otras enzimas que participan en la vía biosintética del ergosterol.
- alteraciones en bombas de eflujo (transportadores ABC, facilitadores mayores).

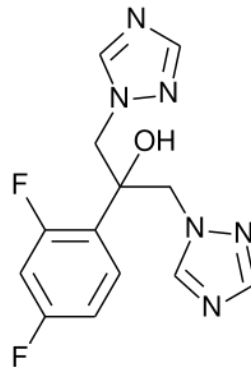
2.1.3. Antimicóticos azólicos empleados en el tratamiento de candidiasis vaginal

Los antimicóticos azólicos incluyen dos clases generales que son los imidazoles y triazoles. Aunque pertenecen a grupos químicos diferentes ambos comparten el mismo espectro y mecanismo de acción contra los hongos. El papel de ketoconazol en la terapéutica ha disminuido considerablemente desde la introducción al mercado del fluconazol en 1990 y el itraconazol en 1992. Los triazoles se han convertido desde entonces en una mejor opción para el tratamiento de las micosis sistémicas al presentar un mayor espectro antimicótico y menor toxicidad sobre el huésped.

Los triazoles sistémicos se metabolizan con mayor lentitud y tienen menor efecto en la síntesis de esteroides en el ser humano, que los imidazoles.

2.1.3.1. Fluconazol

Agente antimicótico ampliamente usado. Como otros triazoles, tiene 2 anillos que contienen 3 átomos de N. El anillo bencénico presenta 2 átomos de flúor.



Es un triazol con excelentes propiedades farmacocinéticas y escasa toxicidad, espectro de actividad frente a levaduras (incluyendo *Criptococo*). La mayoría de *Cándida spp.* son sensibles si bien existen cepas de *Cándida glabrata* que son resistentes y *Cándida krusei* es intrínsecamente resistente. Buena actividad frente a coccidioidomicosis y paracoccidiomicosis pero carece de actividad frente a *Aspergillus* y otros hongos filamentosos.

Los efectos antimicóticos de fluconazol consisten en bloquear el ergosterol, principal sustrato con que cuenta la célula micótica. El fluconazol lleva a cabo esta acción a través de bloquear la 14 alfadimetilasa, una enzima dependiente de citocromo P-450, que es necesaria para la conversión del lanosterol a ergosterol. Uno de los nitrógenos libres en el anillo imidazólico se une al átomo de hierro del grupo hemo (ubicado en el sitio de acción de la enzima), bloqueando la activación del oxígeno que es necesaria para la desmetilación del lanosterol (intermediario en la biosíntesis del ergosterol). Se cree que la posición que tiene el segundo nitrógeno al estar en contacto con la apoproteína de la enzima, determina la especificidad de los diferentes azoles por la enzima.

La inactivación de la enzima Erg11p, resulta en la acumulación de 14 alfa-metil-esterol, estos son tóxicos en la membrana celular porque interfieren con las funciones del ergosterol, promoviendo la formación de una membrana anormal, situación que implica tanto la inhibición del crecimiento como de la replicación celular.

El fluconazol tiene una gran estabilidad metabólica que puede administrarse por vía oral o intravenosa una sola vez al día su absorción tras la administración oral es muy satisfactoria, alcanzando el nivel máximo en plasma a las dos horas. Puede usarse para la prevención de infecciones por *Cándida* en pacientes inmunodeprimidos y en casos de vaginitis candidiásica recurrente. Otra indicación es como un coadyuvante en el tratamiento de infecciones micóticas en pacientes con SIDA, candidiasis mucocutánea crónica, candidiasis u otras micosis sistémicas y meningitis fúngica.

Las reacciones adversas que produce el Fluconazol son a dosis de hasta 400 mg dando: náuseas, diarrea, dolor abdominal, flatulencia. Además de los efectos gastrointestinales puede producir rash, pero muy raramente reacciones exfoliativas en mucosa o en la piel. Igual que otros azoles, en raras ocasiones se ha reportado anafilaxis.

En Candidiasis genital pacientes recibiendo una dosis única de Fluconazol de 150 mg, desarrollaron: cefaleas, náuseas, dolor abdominal, diarrea, dispepsia, temblores y alteración del gusto.

2.1.3.2. Mecanismos de resistencia a fluconazol, se describen tres posibles mecanismos:

El primero es la modificación del a enzima blanco; el segundo, la incapacidad de alcanzar concentraciones adecuadas del antimicótico en el sitio de acción por la presencia de barreras de permeabilidad o sistemas de bombeo activo; y por último, la inactivación del antimicótico por modificación del mismo. De todos éstos, en el caso de los azoles sólo se conocen los dos primeros como potenciales causas de resistencia.

En las especies de *Cándida* y en muchos otros hongos, el gen ERG11 se encarga de la síntesis de la Erg11p o la enzima 14 α demetilasa indispensable

para la síntesis del ergosterol. La resistencia a los azoles se ha descrito en aislamientos clínicos en los que se demuestra una disminución de la expresión de dicha enzima o la presencia de mutaciones específicas que la afectan en su estructura o función; y puede ser inducida por regulación negativa de su síntesis tras la exposición prolongada al fluconazol.³⁶

En relación con el sistema de transporte activo a través de bombas y con base en modelos experimentales con otras levaduras no patógenas como *Sacharomyces cerevisiae*, se ha logrado determinar la presencia de un conjunto de genes denominados factores de resistencia múltiple o pleiotrópica a fármacos (PDR: Pleiotropic Drug Resistance) dado que confieren resistencia a múltiples medicamentos sin ninguna semejanza estructural definida. El primero de ellos definido en *Cándida spp*, fue MDR1, el cual codifica una proteína MDR1p que pertenece a una superfamilia de proteínas transportadoras transmembranales con 6 dominios, (MFS: Major Facilitators Superfamily). Se ha demostrado en ratones que la sobreproducción de esta proteína confiere resistencia de la *Cándida spp* a fluconazol.³⁷

2.1.4. Factores asociados a la resistencia del fluconazol

- **Especie de *Cándida spp*.**

Hay varios datos que apoyan el papel que juega el gen *CDR1* en la resistencia a fluconazol en ***Cándida albicans***.

En la ***Cándida dubliniensis***, en la adquisición de resistencia se destaca como mecanismo más frecuente la sobreexpresión de la proteína Mdr1p (codificada por el gen CdCDR1), mientras que en *Cándida albicans* la proteína que se sobrepresa es Cdr1 (gen CDR1-CDR2), para el fluconazol.³⁸

La ***Cándida glabrata*** produce un aumento en la actividad de la 14 alfa desmetilasa. Posee 11 cromosomas y debido a su carácter haploide, se considera que *Cándida glabrata* tiene mayores posibilidades de presentar mutaciones que otras especies diploides como *Cándida albicans*. . El estudio muestra un alto porcentaje de resistencia de *Cándida glabrata* al fluconazol.³⁹

La ***Cándida krusei*** tiene resistencia natural a fluconazol.⁴⁰

- **Diabetes**

La diabetes mellitus es una enfermedad metabólica de los hidratos de carbono, lípidos y proteínas que se caracteriza por presencia de concentraciones elevadas de glucosa en torrente sanguíneo por encima de los niveles de normalidad. La presencia de productos glucosilados terminales en las paredes de los capilares de la mucosa vaginal promueven el crecimiento y sobrepoblación de levaduras *Cándida spp.*, concomitantemente aumenta la probabilidad de presentar resistencias a los antimicóticos. La *Cándida glabrata* y la *Cándida tropicalis* representan un mayor porcentaje en relación a la *Cándida albicans* y está ligado este dato a pacientes diabéticos no controlados. Otros estudios que identificaron un aumento de casos de resistencia de las *Cándidas no albicans* a fluconazol, por ello podrían ser considerados un factor asociado a la resistencia. En el SSUP en la gestión 2012 se reportó a 30 de mujeres diabéticas.

- **Embarazo**

Durante el embarazo, el alto nivel de estrógenos causa en la vagina mayor producción de glucógeno y esto a su vez facilita que los hongos *Cándida spp.* crezcan más rápido y se adhieran con mayor facilidad a las paredes de la

vagina, aumentando la probabilidad de portar una *Cándida* resistente al fluconazol que puede ser adquirida por el nuevo ser en el momento del nacimiento. Si bien no existen datos como factor de riesgo a una resistencia al fluconazol, pero debido a los porcentajes elevados de candidiasis vaginal que sufren las embarazadas se incluyó en el presente estudio. Por otro lado se reportó 375 embarazadas el año 2012 en el SSUP.

- **Uso previo de antimicóticos**

Reportes recientes describen un relativo decremento de la infección por este microorganismo en comparación con el aumento de *Cándida glabrata*, *Cándida krusei*, *Cándida tropicalis* y *Cándida parapsilosis* como agentes causales de la infección.⁴¹

Dichas especies tienden a ser menos sensibles a los azoles utilizados con mayor frecuencia en las terapias y además porque se asocian con los episodios de recurrencia.⁴²

El uso de terapia profiláctica a fluconazol puede asociarse con la colonización de levaduras del género *Cándida spp.* con sensibilidad reducida o resistencia al fluconazol.⁴³ La resistencia es un cambio de sensibilidad o susceptibilidad al antimicótico que puede medirse in vitro por métodos de laboratorio apropiados. Existen dos tipos generales de resistencia: la intrínseca, que de por sí se tiene al antimicótico antes de que entre en contacto con éste y la adquirida, que induce la levadura cuando coexiste con el antimicótico.^{44, 45}

La resistencia a antimicóticos depende tanto de factores clínicos como microbiológicos.⁴⁶ La resistencia clínica ocurre cuando una infección persiste a pesar de la administración de un antimicótico a dosis máximas. No obstante, el

microorganismo responsable de la infección puede mostrar in vitro una sensibilidad normal al agente.

Los mecanismos de resistencia propuestos son: disminución de la permeabilidad de la membrana citoplasmática, sobreexpresión de enzimas y mutaciones de compensación. Sin embargo, los mecanismos demostrados son cambios en la α -lanosteroldemetilasa, cambios en la D5-6 esteroles desaturasa y bomba de flujo.

Probablemente nuevas técnicas diagnósticas como PCR, permitan clarificar si esas recurrencias se deben a fallos terapéuticos, selección de cepas, o bien a nuevas colonizaciones. De este modo, los porcentajes de recurrencia en vaginitis, obtenidos por biotipo, descienden hasta el 15% utilizando técnicas moleculares (genotipado) ya que se demuestra que el cuadro está producido por una cepa distinta.⁴⁷

2.2. Hipótesis

La resistencia de *Cándida spp* a fluconazol, aislada de pacientes con candidiasis vaginal que asistieron al Seguro Social Universitario de Potosí de julio a diciembre del 2013 es mayor a 3, 2 %

2.3. MARCO CONTEXTUAL

2.3.1. Bolivia

Bolivia nace a la vida independiente el 6 de agosto de 1825, cuando el congreso reunido en Chuquisaca, funda la República Bolívar en homenaje al Libertador Simón Bolívar, denominación que cambió el 3 de octubre del mismo

año, al nombre de República de Bolivia que es una nación libre, independiente, soberana, multiétnica y pluricultural. Actualmente denominada Estado Plurinacional de Bolivia.

Bolivia se halla situada en la zona central de América del Sur, entre los meridianos 57° 26´ y 69° 38´ de longitud occidental del meridiano de Greenwich y los paralelos 9° 38´ y 22° 53´ de latitud sur, por lo tanto abarca más de 13° geográficos. Limita al norte y al este con Brasil, al sur con Paraguay y Argentina, y al oeste con Chile y Perú, no tiene salida al mar. Su superficie es la sexta más extensa de Iberoamérica y comprende distintos espacios geográficos como la cordillera de los Andes, el Altiplano, la Amazonía, los Llanos de Moxos y el Chaco, siendo así uno de los países con mayor biodiversidad en el mundo.

Bolivia política y administrativamente se divide en 9 departamentos, 112 provincias, 327 secciones de provincia transformados en Municipios y 1.384 cantones. La Ley de Participación Popular redefinió las unidades administrativas y las jurisdicciones territoriales. La nueva normativa rediseñó las fronteras de las secciones municipales (Municipios), coincidentes en gran parte con las secciones de provincia. Según estimaciones al año 2010, proporcionados por el Instituto Nacional de Estadística, cuenta con aproximadamente 10 426.154 habitantes, de los cuales 5 201.974 son varones y 5 224.181 son mujeres.⁴⁸

Bolivia tiene un nivel de salud que está catalogada entre las más bajas de América Latina, la mayor parte de la población vive en condiciones de pobreza ya que los ingresos económicos y sociales son muy reducidos que le impiden acceder a una adecuada alimentación y educación esto influye para que exista todo tipo de enfermedades.

2.3.1.1. Indicadores en salud

Los indicadores en salud determinados para el año 2011, reflejan los siguientes datos:

Distribución por edad

- 0-14 años: 34,6% (hombres 1.785.453/mujeres 1.719.173)
- 15-64 años: 60,7% (hombres 3.014.419/mujeres 3.129.942)
- 65 años y más: 4,6% (hombres 207.792/mujeres 261.904) (2011 est.).
- Tasa de crecimiento. 1,664% (2011 est.)
- Tasa de natalidad. 24,24 nacimientos/1.000 habitantes (2011 est.)
- Tasa de mortalidad. 6,76 muertes/1.000 habitantes (July 2011 est.)

Distribución por sexo

- Al nacer: 1,05 hombre(s)/mujer
- Menores de 15 años: 1,04 hombre(s)/mujer
- 15-64 años: 0,96 hombre(s)/mujer
- 65 años y más: 0,79 hombre(s)/mujer
- Población total: 0,98 hombre(s)/mujer (2011 est.)
- Tasa de mortalidad infantil.
- Total: 40,94 muertes/1.000 nacimientos
- Hombres: 44,68 muertes/1.000 nacimientos
- Mujeres: 37,02 muertes/1.000 nacimientos (2011 est.)

Expectativa de vida al nacer

- Población total: 67,9 años.
- Hombres: 65,16 años.
- Mujeres: 70,77 años (2011 est.)

- Tasa de fertilidad. 2,93 infantes nacidos/mujer (2011 est.)
- Tasa de mortalidad materna. 180 muertes / 100.000 niños nacidos vivos (2008).⁴⁹

2.3.2. Potosí

El estudio se realizó en la ciudad de Potosí de la provincia Tomas Frías del Departamento de Potosí del Estado Plurinacional de Bolivia. El departamento de Potosí está ubicado al sudoeste de Bolivia que limita al norte, con los departamentos de Oruro y Cochabamba; al sur, con la república Argentina; al este con los departamentos de Chuquisaca y Tarija y al oeste con la República de Chile. La ciudad de Potosí se halla en las faldas de la cordillera oriental de los Andes. Se encuentra a una altura de 4,060 m.s.n.m. Su extensión es de 118.218 Km² y está dividida en 16 provincias, 40 municipios y 301 cantones, donde se habla los idiomas español y quechua. Con una población: 154,693 habitantes (INE 2010).

La Tasa Bruta de Natalidad estimada para el año 2013, del departamento de Potosí es de 27,5 nacimientos por cada mil habitantes, tasa inferior al promedio nacional de 24,82. La Tasa Global de Fecundidad para el mismo periodo es de 3,8 hijos o hijas por mujer, nivel inferior a la tasa nacional de 3,05.

Para el departamento de Potosí, se estima una Tasa de Mortalidad Infantil de 51,8 muertes de menores de un año de edad por cada mil nacidos vivos, mayor a la estimada para el total nacional de 37,49. La esperanza de vida al nacer es 62,2 años, nivel inferior a la nacional de 67,31 años.⁵⁰

2.3.3. Seguro Social Universitario De Potosí

El Seguro Social Universitario de Potosí se encuentra ubicado en la calle Calama N° 107 del barrio San Roque del distrito 35.

Esta unidad hospitalaria, es considerada de segundo nivel, cuenta con un policlínico que presta consultas externas en Medicina General, Medicina Interna, Pediatría, Ginecología, Traumatología, Oftalmología, Odontología, Farmacia, Nutrición, Imagenología, Laboratorio clínico y Enfermería.

El área de Clínica, que cuenta con 48 salas de internación repartido en los servicios de Medicina interna, Cirugía, Maternidad, Neonatología y Terapia intermedia. Proporcionando atención médico-quirúrgica, hospitalización y urgencias las 24 horas, de los 365 días del año.

En cuanto al servicio de laboratorio clínico funciona las 24 horas. del día rindiendo servicio a pacientes hospitalizados, ambulatorios tanto asegurados como particulares y emergencias en un conveniente horario de lunes a viernes de 8:00 a.m. a 12:30 y de 2:30 p.m. a 6:00 p.m. y los sábados y domingos de 8:00 a.m. a 2:00 p.m. las pruebas de laboratorio que se ofrecen están organizadas por las siguientes áreas básicas de: Hematología, Química sanguínea, Inmunología y serología, Microbiología y Parasitología, Líquidos biológicos, Marcadores tumorales y Hormonas. Cuenta con un personal capacitado y equipos automatizados que brindan un excelente servicio a la población.

El propósito del Laboratorio Clínico es brindar un servicio a pacientes hospitalizados como externos (asegurados de la universidad Autónoma Tomás Frías, tanto personal administrativo como estudiantes, asegurados de empresas como: Sinchi Wayra, Banca Privada, Caja Petrolera) con análisis clínicos y bacteriológicos de la mejor calidad y en el menor tiempo posible.

CAPITULO III

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Enfoque, tipo y diseño de investigación

El **enfoque** de la investigación fue **cuantitativo**, porque se presentó la prevalencia de candidiasis vaginal y la presencia de resistencia a fluconazol con un valor numérico.

Fue de **tipo descriptivo observacional** porque no se manipuló las variables de estudio, se observaron y describieron tal como se presentaron en su ambiente natural. Con un componente **analítico** porque se asoció la variable dependiente que fue la resistencia a fluconazol con las variables independientes como especie, embarazo y diabetes.

Fue de **corte transversal** porque se realizó un corte en un momento o periodo determinado, recogiéndose información de las variables dependientes e independientes.

3.2. Población y Muestra

3.2.1. Población

El estudio se realizó en 200 mujeres referidas del servicio de ginecología del SSUP de julio a diciembre del 2013, en las cuales 33 dieron positivas a *Cándida spp.* de las que se aisló 35 cepas de *Cándida spp.*

3.2.2. Muestra

No hubo muestreo, porque se incluyó a las 33 mujeres

3.3. Variables de estudio

3.3.1. Identificación de Variables

3.3.1.1. Variable Dependiente:

- Resistencia de *Cándida spp.* a fluconazol

3.3.1.2. Variables Independientes:

- Especies de *Cándida spp.*
- Embarazo
- Diabetes

La variable uso previo de antimicóticos no fue incluida en el presente estudio debido a que la información obtenida en este punto no fue fidedigna por desconocimiento del paciente y fichas clínicas incompletas.

3.3.2. Diagrama de variables

Objetivo Específico	Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Categorías	Tipo de variable	Instrumentación
Determinar la prevalencia de Cándidiasis vaginal en pacientes que acuden al Laboratorio Clínico SSUP	Candidiasis vaginal	La presencia del microorganismo en flujo vaginal.	Mujeres con flujo vaginal que tenga <i>Cándida spp.</i> En los exámenes laboratoriales	Presencia de candidiasis vaginal Ausencia de candidiasis vaginal	Independiente Cualitativa Nominal Dicotómica	Hoja de registro
Identificar las especies de <i>Cándida spp</i> aisladas de muestras de flujo vaginal mediante métodos microbiológicos.	Especies de <i>Cándida</i>	Grupos en que se divide el género <i>Cándida</i>	Tipos de especies identificadas.	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i> <i>C. kruzei</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. parapsilosis</i>	Independiente Cualitativa Nominal Politómica	Hoja de registro
	Resistencia a fluconazol	Capacidad de no tener respuesta, efecto o acción a los antimicóticos	Por halo de inhibición en el método de difusión en placa, por norma	Sensible según los valores de la CLSI que incluyan resistencia. Resistente según los valores de la CLSI	Dependiente Cualitativo Nominal Dicotómica	Hoja de registro

Asociar la resistencia de <i>Cándida spp</i> a fluconazol según especie, embarazo y diabetes			de la CLSI	que incluyan sensibilidad		
	Embarazo	Período de tiempo comprendido, desde la fecundación del óvulo por el espermatozoide, hasta el momento del parto.	Según su condición de estar cursando embarazo	Embarazada aquellas mujeres que dieron positivo en la prueba de embarazo No embarazada	Independiente Cualitativa Nominal Dicotómica	Hoja de registro
	Diabetes	Personas que tienen la enfermedad de diabetes	Según su condición de tener la enfermedad de diabetes diagnosticada	Diabética y no diabética para ambas según valoración mediante pruebas de laboratorio y registro clínico	Independiente Cualitativa Nominal Dicotómica	Hoja de registro

3.4. Criterios de Inclusión y exclusión

3.4.1. Criterios de inclusión

- Mujeres con diagnóstico presuntivo de candidiasis vaginal referidas por el servicio de ginecología del SSUP entre julio a diciembre del 2013.
- Mujeres que aceptaron participar voluntariamente en el estudio y firmaron el consentimiento informado.

3.4.2. Criterios de Exclusión

- Mujeres que recibieron tratamiento con óvulos u otras formas farmacéuticas de antimicóticos 7 días antes de la toma de muestra.
- Mujeres de consulta externa que asistieron al laboratorio clínico de SSUP.

3.5. Procedimientos para la recolección de la información

3.5.1. Fuente de recolección de la información.

Se utilizó fuentes primarias, un formulario de registro y fichas clínicas para la obtención de información sobre variables dependientes e independientes.

3.5.2. Descripción de los instrumentos de recolección de información que serán utilizados.

El formulario de registro permitió almacenar y ordenar los datos recolectados de las pacientes que asistieron al laboratorio clínico del SSUP. Se registró:

- Datos del paciente
- Pruebas de laboratorio como examen en fresco del flujo vaginal, cultivo y pruebas de sensibilidad.
- Prueba de embarazo (positivo y negativo).
- Muestra de sangre en ayunas para determinar glicemia con valores de 70 a 110 mg/dl.

3.5.3. Procedimiento de recojo de la información.

Previa aprobación del consentimiento informado se procedió con el siguiente sistema de trabajo:

- **Toma de muestra**

Las muestras 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 hisopos estériles; éstos fueron colocados posteriormente en dos tubos que contenían 1 ml de solución salina fisiológica estéril, uno para examen directo y otro para el cultivo.

- **Examen en fresco**

Con el primer hisopo se procedió a realizar el extendido en una placa de microscopia y luego el mismo es depositado en un tubo de ensayo con solución fisiológica para la realización del examen en fresco, depositando un poco de la muestra del tubo entre lámina y laminilla que se observó con objetivo de 10 X y 40X.

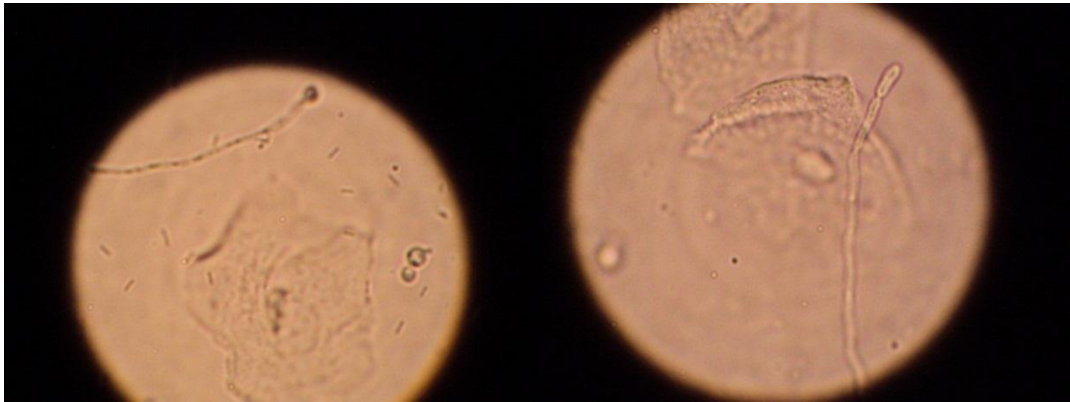


Fig. N°1 Examen directo con solución fisiológica estéril (40X), pseudohifas (Fuente propia)

- **Tinción de Gram**

Se realizó un extendido y procedió a la tinción de Gram, con el fin de visualizar: blastoconidias (cantidad, morfología y tamaño), número de gemaciones, pseudohifasy tipo de células presentes como ser células epiteliales, leucocitos, macrófagos, entre otras.

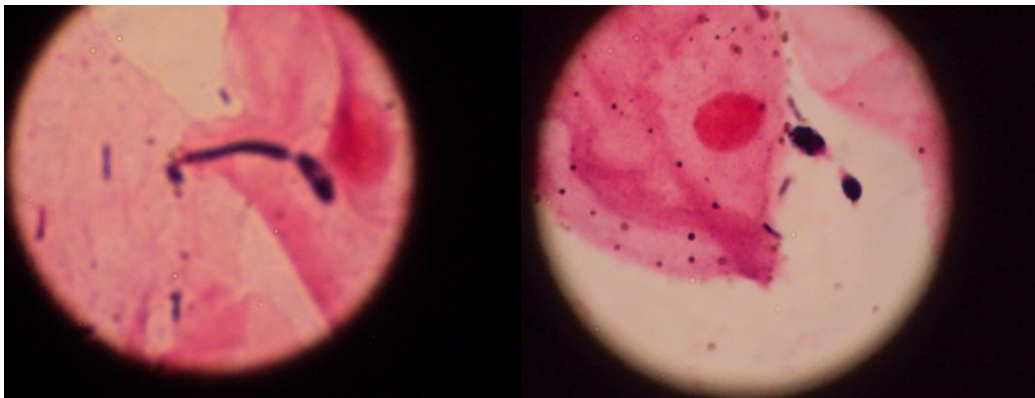


Fig. N°2 Examen directo con tinción de Gram (100X), A) pseudohifas; B) levaduras (Fuente propia)

A la muestra en un tubo con 1 ml de solución fisiológica, se le añade 3 o 4 gotas de KOH (hidróxido de potasio) al 10 %, con el fin de eliminar los demás elementos celulares y microorganismos menos a la *Cándida* de tal manera que se puede observar un campo limpio. Solo se usó en algunas muestras con mucha saturación de células epiteliales.

- **Aislamiento de levaduras**

Con el segundo hisopo se procedió al sembrado de las muestras en placas de agar Sabouraud dextrosa, se incubaron a 37°C durante 48 horas. Donde se observó el aspecto de las colonias cremosas de colores blanco amarillento, lustrosos poco elevadas con borde definido y diámetro de 0,5 a 3,0 mm a las cuales se les realizó una tinción de Gram, observándose al microscopio células unicelulares de color violeta.

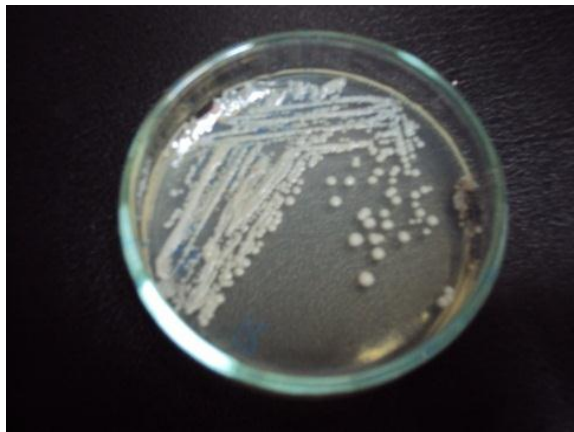


Fig. N°3 Colonias blancas de *Cándida spp* en agar Sabouraud en placa (Fuente propia)



Fig. N°4 Colonias blancas de *Cándida spp* de agar Sabouraud en tubo (Fuente propia)

- **Identificación de especies de *Cándida spp.***

Técnica de tubo germinal

Es una prueba útil para diferenciar *Cándida albicans* de *Cándida no albicans*. Se colocó una pequeña porción de una colonia obtenida de un cultivo de 24 horas en 0,5 ml de suero fresco e incubarlo a 37 °C por máximo 3 horas. Luego se tomó una gota de la suspensión, se colocó sobre la lámina porta-objeto para observar al microscopio con objetivo 40X. El tubo germinal es una extensión filamentososa de la levadura, sin estrechamiento (constricción) en su sitio de unión con la blastoconidia, que da lugar a hifas verdaderas. Sólo *Cándida albicans*/*Cándida dubliniensis* son capaces de producir verdaderos tubos germinales; sin embargo, otras especies como *Cándida tropicalis* pueden producir pseudohifas de aspecto similar a los tubos germinales pero con blastoconidias más grandes que las de *Cándida albicans*. Para considerar una prueba como positiva deben observarse más de 5 tubos germinales.

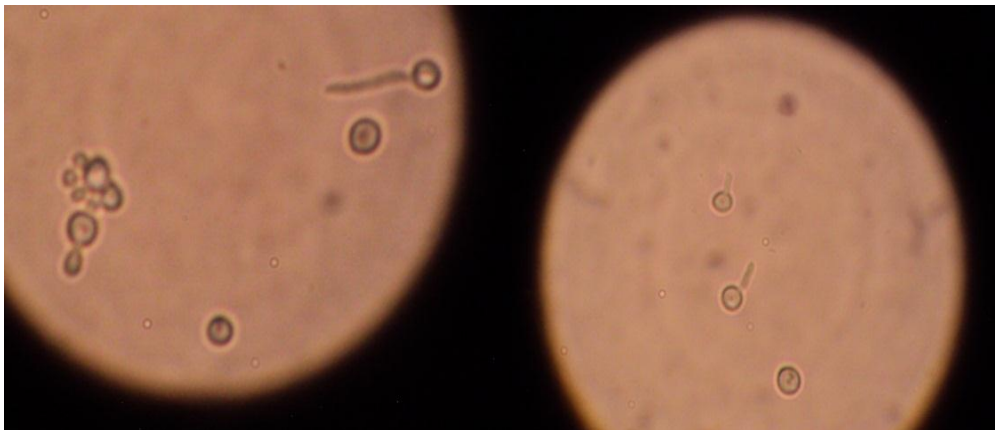


Fig. N°5 Tubo germinal (Fuente propia)

Cultivo en Chromoagar *Cándida*.-

Es un medio selectivo y de diferenciación para el aislamiento e identificación para *Cándida spp.*

Inocular la muestra sobre la superficie del medio. Incubar la placa en posición invertida a $35 \pm 2^\circ \text{C}$ en una atmósfera aerobia. Examinar las placas después de 20 - 48 hrs. Después de la incubación las placas presentaran crecimiento. Se recomienda realizar la lectura de las placas sobre un fondo blanco.

Si están presentes especies de *Cándida*, las colonias presentarán:

- *Cándida albicans* crecimiento de colonia verde.
- *Cándida krusei* fuerte crecimiento de colonia rosa a rosa malva, plana puede tener borde blanquecino.
- *Cándida tropicalis* fuerte crecimiento de azul oscuro a azul metálico, con o sin halos.

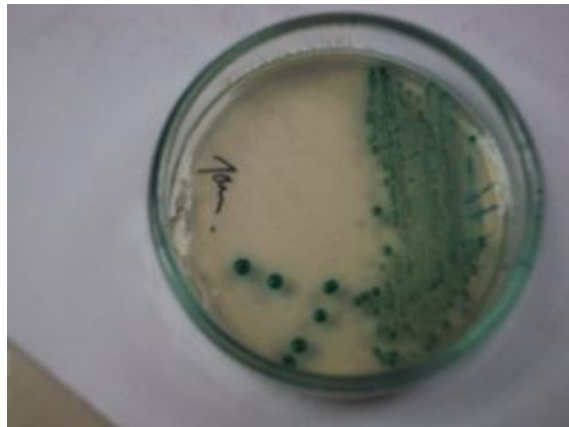


Fig. N°6 Medio cromogénico de CHROMagar-Cándida. *Cándida albicans* (Fuente propia)

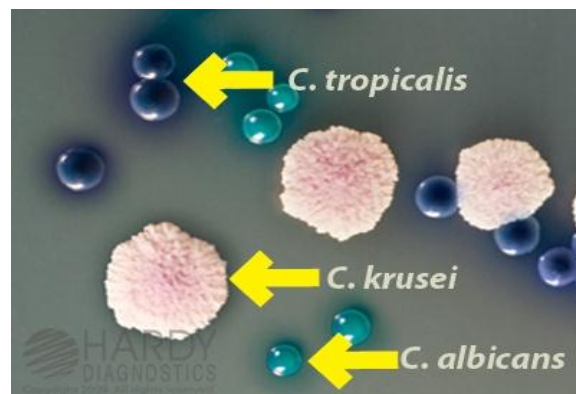


Fig. N°7 Colonias de *cándida spp* en Chromagar www.catalog.hardydiagnostics.com

Microcultivo

Otra forma de diferenciarlas es mediante el uso del microcultivo. Desde un aislamiento de la levadura, se realizó un subcultivo bajo condiciones mínimas de nutrientes y oxígeno. Sembrando estrías con el inóculo de la levadura en un agar poco nutritivo (agar maíz con Tween al 1 % o Lacrimel) y se cubrió con cubre objeto estéril.

Esto se incubó a 28 °C y se observó el crecimiento levaduriforme y presencia de pseudomicelios.

La Cándida albicans forma pseudohifas ramificadas, con blastoconidios en racimos en intervalos regulares. Las pseudohifas suelen terminar con una estructura redonda de capa gruesa que se denomina clamidioconidio.

Cándida glabrata solo presenta forma de levaduras con gemaciones (blastoconidios) de forma redonda y oval.

Cándida tropicalis presenta múltiples pseudohifas delgadas, rectas y ramificadas con múltiples grupos de blastoconidios que son de forma ovalada, también pueden ser redondas. Rara vez produce clamidioconidios.

- **Determinación de la susceptibilidad a los antimicóticos**

Método de difusión en agar Agar Mueller Hinton con discos de antimicóticos.- Este método se realizó siguiendo las normas establecidas por el Comité

Internacional de Estándares de Laboratorio Clínico (CLSI), para la determinación de susceptibilidad de hongos levaduriformes a los antimicóticos. Realizar un cultivo de 24 horas a 35 °C en agar sabouraud.

A partir del cultivo, se preparó un inóculo de turbidez 0,5 McFarland (siguiendo las indicaciones establecidas del CLSI, para un 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, al cual se le adicionó azul de metileno hasta una concentración final de 0,5 ug/ml y glucosa al 2%. Con un hisopo cargado con el inóculo correspondiente, se sembró la superficie de una placa de Petri con Mueller-Hinton en tres direcciones, se colocó un disco de fluconazol (25,0 µg) por placa y luego, se incubaron por 24 horas a 37°C. 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.⁵¹

Interpretación de los resultados

Antimicótico	Diámetro de la zona de inhibición		
	Sensible	Sen. Disminuida	Resistente
Fluconazol 25 ug	≥19	15 - 18	≤ 14

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: *Cándida albicans* ATCC 90028 y *Cándida krusei* ATCC 6258.⁵²

Valores de halo de inhibición para cepas control

	Halo de inhibición en mm de fluconazol
<i>Cándida albicans</i> ATCC 22019	28 - 39
<i>Cándida krusei</i> ATCC 6258	--



Fig. N°8 Susceptibilidad afluconazol por el método de difusión de disco

3.6. Procesamiento y análisis de la información.

3.6.1. Procesamiento y análisis de datos

Para el registro y procesamiento de datos se empleó los programas estadísticos SPSS v 18 y EPIDAT 3.1, a través de las funciones que posee estos programas permitió determinar: Frecuencias, proporciones, razones de prevalencia, intervalos de confianza, χ^2 y significancia estadística $p (<0,05)$, para luego ser analizados y expuestos, mediante tablas.

3.7. Delimitaciones de la investigación

3.7.1. Delimitación geográfica

Se llevó a cabo en el laboratorio clínico del Seguro Social Universitario de la ciudad de Potosí, capital de la provincia Tomas Frías del departamento de Potosí del Estado Plurinacional de Bolivia.

3.7.2. Sujetos y/u objetos que participaron en la realización del estudio

En el estudio participaron voluntariamente 200 mujeres con flujo vaginal referidas del servicio de ginecología de la institución.

3.7.3. Delimitación temporal

El trabajo de investigación se llevó a cabo de Mayo del 2013 hasta julio del 2014.

Capítulo IV

4. PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. Descriptivo

4.1.1. Tablas de una entrada

Según a los objetivos planteados a continuación se presentan los resultados descriptivos de las variables de estudio.

Tabla N°1

Mujeres con candidiasis vaginal según edad del Seguro Social Universitario de Potosí 2013

Grupo etario	N°	%
22 – 43	31	93,9
44 - 63	2	6,1
Total	33	100

La edad de las mujeres de las cuales se aislaron las cepas correspondieron entre las edades de 22 a 63 años, siendo el promedio 32,81 años, predominando el grupo etario de 22 a 43 años.

Tabla N° 2

Tipode especie de *Cándida spp* aislada de muestras de flujo vaginal de pacientes del Seguro Social Universitario de Potosí 2013

Especie	N°	%
<i>Cándida no albicans</i> *	6	17,1
<i>Cándida albicans</i>	29	82,9
Total	35	100

*Según pruebas de identificación corresponde a las especies: *Cándida krusei* y *Cándida glabrata*

De 33 mujeres se obtuvieron 35 cepas de *Cándida spp.* predominando la *Cándida albicans* .En 2 de las mujeres se aisló 2 especies identificadas como *Cándida krusei* y *Cándida glabrata*.

Tabla N° 3

Mujeres con candidiasis vaginal según embarazo del Seguro Social Universitario de Potosí 2013

Embarazo	N°	%
Embarazadas	8	24,2
No embarazadas	25	75,8
Total	33	100

De las 33 mujeres que presentaron candidiasis vaginal, el (8) 24,2 % estaban embarazadas.

Tabla N° 4

**Mujeres con candidiasis vaginal según diabetes del
Seguro Social Universitario de Potosí 2013**

Diabetes	N°	%
Diabéticas	2	6,1
No diabéticas	31	93,9
Total	33	100

De las 33 mujeres que presentaron candidiasis vaginal, el (2) 6,1 % son diabéticas.

Tabla N° 5

**Resistencia de *Cándida spp.* a fluconazol aislada de flujo vaginal de
pacientes del Seguro Social Universitario de Potosí 2013**

Resistencia	N°	%
Resistente	8	22,8
Sensible	27	77,1
Total	35	100

De las 35 cepas de *Cándida spp.* aisladas de secreciones vaginales de 33 mujeres; 8 (22,8 %) fueron resistentes a fluconazol y (27) 77,1% sensibles.

4.1.2. Tabla de doble entrada

Tabla N° 6

Resistencia de *Cándida spp.* a fluconazol según especie del
Seguro Social Universitario de Potosí 2013

Especie	Resistencia a fluconazol			
	Resistente		Sensible	
	Nº	%	Nº	%
<i>Cándida no albicans</i>	5	62,5	1	3,7
<i>Cándida albicans</i>	3	37,5	26	96,3
Total	8	100	27	100

La especie de *Cándida no albicans* presentó mayoritariamente resistencia a fluconazol en un 62,5 % en relación a las cepas de *Cándida no albicans*.

Tabla N° 7

**Resistencia de *Cándida spp.* a fluconazol según embarazo del
Seguro Social Universitario de Potosí 2013**

Embarazo	Resistencia a fluconazol			
	Resistente		Sensible	
	Nº	%	Nº	%
Embarazadas	1	12,5	7	25,9
No embarazadas	7	87,5	20	74,1
Total	8	100	27	100

Las cepas de *Cándida spp.* aisladas de mujeres embarazadas presentaron un 12,5% de resistencia a fluconazol, en relación a un 25,9 % de sensibilidad al mencionado antimicótico.

Tabla N° 8

**Resistencia de *Cándida spp.* a fluconazol según condición de diabetes del
Seguro Social Universitario de Potosí 2013**

Diabetes	Resistencia a fluconazol			
	Resistente		Sensible	
	Nº	%	Nº	%
Diabética	0	0	2	7,4
No diabética	8	100	25	92,6
Total	8	100	27	100

Las cepas de *Cándida spp.* aisladas de mujeres diabéticas no presentan resistencia a fluconazol (7.4 %) en relación a las no diabéticas.

4.2. ANALISIS BIVARIADO.

La Resistencia de *Cándida spp.* a fluconazol en función de las variables de exposición, se analiza a continuación.

En las siguientes tablas se detallan los resultados de la asociación entre las variables de exposición y la resistencia a fluconazol.

Tabla N° 9
Relación de resistencia de *Cándida spp.* a fluconazol y especie de *Cándida spp.* del Seguro Social Universitario de Potosí 2013

Especie	Resistencia a fluconazol	
	Presencia	Ausencia
Expuestos*	5	1
No expuestos**	3	26
Total	8	27

Expuestos* Mujeres portadoras de *Cándida no albicans*

No expuestos** Mujeres portadoras de *Cándida albicans*

Variables	PE	PNE	Razón Prevalen.	X2	Intervalo de Conf. 95%		P
					Inf.	Sup.	
Especie de <i>Cándida spp.</i>							
<i>Cándida no albicans</i>	0.833333	0.103448	8.055556	8.055556	2.603167	24.928084	0.0001

La razón de prevalencia es $8.05 > 1$, por lo tanto, el portar una *Cándida no albicans* es un factor de riesgo para la presencia de resistencia a tratamientos con fluconazol en candidiasis vaginal. Observando el IC, éste incluye la unidad y el valor p de la prueba de χ^2 es de 0,0001 ($p < 0.05$); por lo que existe asociación entre el tipo de *Cándida no albicans* y su resistencia a fluconazol, siendo estadísticamente significativa.

Tabla N° 10

**Relación de resistencia de *Cándida spp.* a fluconazol y embarazo.
Seguro Social Universitario de Potosí 2013**

Embarazo	Resistencia a fluconazol	
	Presencia	Ausencia
No expuestos**	7	20
Expuestos*	1	7
Total	8	27

Expuestos* Mujeres embarazadas

No expuestos** Mujeres no embarazadas

Variables	PE	PNE	Razón Prevalen.	X2	Intervalo de Conf. 95%		P
					Inf.	Sup.	
Embarazadas	0.125000	0.25925	0.482143	0.6309	0.069211	3.358728	0.4270

La razón de prevalencia es de 0.48 es < 1 por lo tanto, el ser una mujer embarazada no es un factor de riesgo para la presencia de resistencia a tratamientos con fluconazol en candidiasis vaginal. Observando el éste no incluye la unidad y el valor p de la prueba de χ^2 es de 0,4270 ($p < 0.05$); por lo que no existe asociación entre mujeres embarazadas y a resistencia de la *Cándida spp.* a fluconazol, siendo no estadísticamente significativa.

Tabla N° 11

**Relación entre resistencia de *Cándida spp.* a fluconazol según diabetes.
Seguro Social Universitario de Potosí 2013**

Diabetes	Resistencia a fluconazol	
	Presencia	Ausencia
Expuestos*	0	2
No expuestos**	8	25
Total	8	27

Expuestos* Mujeres diabéticas

No expuestos** Mujeres no diabéticas

Debido al número reducido de cepas de *Cándida spp.* aisladas de mujeres diabéticas, no fue posible realizar el análisis bivariado.

4.3. Discusión

En este estudio la prevalencia de candidiasis fue de 16,5 % tomando una muestra de 200 mujeres atendidas en el Seguro Social Universitario, sin embargo Eduardo J. Muñoz Ganoza 2012 en el hospital Regional Docente de Trujillo, Perú realizó un estudio en mujeres obteniendo una prevalencia de 34,7% de candidiasis vaginal, siendo un valor superior al obtenido en nuestro estudio.

En las 35 cepas de *Cándida spp.* aisladas de 33 mujeres con secreción vaginal 22,8 % cepas fueron resistentes a fluconazol, en otro estudio, realizado en pacientes atendidos en consulta externa de Centros Asistenciales de los países Colombia, Ecuador y Venezuela, donde se obtuvieron 2139 aislamientos de *Cándida spp.*, el 6,8 % fue resistentes a fluconazol, en relación a este estudio fue inferior.

Relacionando el **tipo** de *Cándida spp.*, en este estudio predominó la *Cándida albicans* 82,9% y la *Cándida no albicans* 17,1%, con un 83,3 % de *Cándida krusey* y *cándida glabrata* con un 16,6 %: sin embargo el 2011 se realizó un estudio por Janeth Villarroel Rodríguez en el Hospital Materno German Urquidi de Cochabamba, donde obtuvo un 62,1% de *Cándida albicans*, seguida de *Cándida no albicans* con 37,9% siendo un valor diferente al nuestro, a pesar de ello la *Cándida albicans* es la levadura de mayor colonización de los tejidos vaginales.

De las 33 mujeres que presentaron candidiasis vaginal, 24,2 % estaban embarazadas, en relación al estudio realizado en Medellín Colombia por Clara María Duque en febrero del 2006 a junio del 2007 encontrando 33,3% de prevalencia de *Cándida spp.* en mujeres gestantes, siendo un valor aproximado a nuestro estudio. Por lo tanto, la probabilidad de que una embarazada porte cepas resistentes a fluconazol es mayor.

En este estudio el 6,1 % de las mujeres con candidiasis vaginal fueron diabéticas, de las cuales se aisló *Cándida albicans* y *Cándida glabrata*; no se logró determinar la predominancia de la especie por la reducida participación de diabéticas en este estudio. El estudio realizado en la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. México por Verónica Gallegos García encontró principalmente pacientes colonizadas por *Cándida albicans* en un 56%.⁵³

En el año 2000 el estudio realizado por María Mercedes Panizo et. Al en Caracas Venezuela obtuvieron un 20 % de vulvovaginitis asintomáticas con una resistencia de *Cándida albicans* a fluconazol de 50%. En comparación al grupo de mujeres con vulvovaginitis recurrente colonizadas con cepas resistentes en su totalidad. En este estudio las pacientes atendidas en el SSUP tuvieron el diagnóstico de **candidiasis vaginal sintomática**; debido a fichas clínicas incompletas no se obtuvo la recurrencia de Candidiasis vaginal.⁵⁴

Respecto a los factores de riesgo, en este grupo de estudio se observó que el **tipo de *Cándida spp.*** está asociada a la resistencia a fluconazol siendo la *Cándida glabrata* y la *Cándida krusei*, la más frecuente. En comparación al estudio de Arechavala A.I. y colaboradores realizado en cepas aisladas de mujeres con vaginitis aguda determinó que la *Cándida glabrata* y la *Cándida krusei* fueron las especies con mayor resistencia a fluconazol.⁵⁵

Gómez C.H. realizó un estudio sobre factores asociados a resistencia a fluconazol con resultados estadísticamente significativos en el análisis multivariado que presentó: neutropenia (OR 4,94 IC 95% 1,5 – 16,20 p=0,008), Enfermedad Renal Crónica (OR 4,82 IC 95% 1,47 – 15,88 p=0,01), y exposición previa a fluconazol (OR 5,09 IC 95% 1,66 – 15,6 p=0,004) como factores asociados a la resistencia.⁵⁶

El SSUP no tiene registros confiables sobre el uso previo de antimicóticos en pacientes aseguradas, razón por la cual no se incluyó esta variable.

Por último, no se encontraron estudios sobre asociación entre embarazo y mujeres diabéticas con la resistencia de la *Cándida spp.* al antimicótico azólico; a pesar de incluir estos factores en este estudio, no se obtuvo asociación estadística con la resistencia a fluconazol ,debido a una muestra pequeña en caso de diabetes.

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

5.1. Conclusiones

- La prevalencia de candidiasis vaginal fue de 16,5% en las pacientes que asisten al SSUP.
- La mayor prevalencia de candidiasis vaginal según el grupo etario correspondió a las edades de 22 a 43 años.
- Las especies de *Cándida spp.* más frecuentes fueron *Cándida albicans*, *Cándida krusei* y *Cándida glabrata*,
- La resistencia de *Cándida spp* a fluconazol fue de 22,8% predominando la cepa de *Cándida no albicans*.
- El estudio reveló asociación significativa entre la resistencia de *Cándida spp* a fluconazol con la variable especie *Cándida spp* ($p < 0,05$).
- No existió asociación entre la resistencia de *Cándida spp* a fluconazol y el embarazo.

5.2. Recomendaciones

- Realizar estudios similares con un mayor número de pacientes positivas con cepas de *Cándida* con el fin de aumentar las posibilidades de obtener diferencias estadísticas significativas.

- El cultivo e identificación de las cepas de *Cándida*, así como la posterior realización de pruebas de susceptibilidad, deben ser tomadas en cuenta para el establecimiento de una terapéutica adecuada, sobre todo cuando se presentan aislamientos de *Cándida no albicans*.
- Se sugiere elaborar un protocolo de diagnóstico y manejo terapéutico con el fin de tratar candidiasis vaginal recurrente, incluyendo pruebas de laboratorio.
- Es recomendable obtener mayor información sobre el tratamiento previo de las pacientes y sobre el número de episodios de candidiasis sufridos, con la finalidad de establecer si existe o no relación con la posterior aparición de resistencia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ventolini G, Baggis, M. Recurrent fungal vulvovaginitis and its association with bacterial colonization. *Journal of gynecologic surgery*. December 2003, 19(4): 153-156.
2. Diassio RB, Benett J, Myers CE. Mode of action of 5- flourocytosine. *BiochemPharmacol* 1978;27:703-7.
3. Candidiasis vulvovaginal recurrente: Nuevos protocolos terapéuticos <http://medigraphic.com/pdfs/archivostqi-2021/tqi126i.pdf> Dr. Hugo Briseno Hanon.
4. Jackson ST, Mulling AM, Rainford L, Miller A. The epidemiology of mycotic vulvovaginitis and the use of antifungal agents in suspected mycotic vulvovaginitis and its implication for clinical practice. *Western Indian medical Journal*. 2005;54:192-195.
5. Revankar SG, Dib OP, Kirkpatrick WR, McAtee RK, Forthergill AW, Rinaldi MG, et al. Clinical evaluation and microbiology of oropharyngeal infection due to fluconazole-resistant *Candida* in human immunodeficiency virus-infected patients. *Clin Infect Dis* 1998;26:960-3.
6. Sangeorzan JA, Bradley SF, He X, Zarins LT, Ridenour GL, Tiballi RN, et al. Epidemiology of oral candidiasis in HIV-infected patients: colonization, infection, treatment and emergence of fluconazole resistance. *Am J Med* 1994; 97:339-46.

7. Harris AD, Castro J, Sheppard DC, et al. Risk factors for nosocomial candiduria due to *Candida glabrata* and *Candida albicans*. *Clin Infect Dis* 1999; 29:236-238.
8. Candidiasis vulvovaginal recurrente:Nuevos protocolos terapéuticos <http://medigraphic.com/pdfs/archivostgi-2021/tgi126i.pdf> Dr.Hugo Briseno Hanon.
9. . Sobel JD, et al. Treatment of complicated *Candida* vaginitis:comparison of single and sequeuntial doses of fluconazole.*Am J ObstetGynecol* 2001;185:363-9.
- 10.. Kotarski J, et al. Treatment of acute and recurrent vulvovaginal candidiasis. *Ginekol Pol.* 2008 Sep; 79(9):638-52.
- 11.Rivera SR, Flores PR, Arriaga AM. Identificación de especies de *Candidacausantes* de vaginitis en la población mexicana. *Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica.* 2006; 24(10):634-636.
- 12.Sobel, J. 1997. Vaginitis. *New England Journal of Medicine.* 337:1896-1903
- 13.Arenas, R. 2008. *Micología Médica Ilustrada.* México: McGraw Hill. 425 pp.
- 14.. Duque CM. Candidiasis vulvovaginal en un grupo mujeres gestantes de la ciudad de Medellín. Disponible en:
www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid...lng
- 15.Spinillo A, Capuzzo E, Egbe TO, Baltaro F Nicola S, Piazzzi G. *Torulopsisglabrata* vaginitis. *Obstet-Gynecol* 1995; 85: 993-998.

16. Hanon HD. Candidiasis Vulvovaginal Recurrente: Nuevos Protocolos Terapéuticos Año III, Volumen 6, Abril 2012. 12. Artículo de RecurrentVulvovaginalCandidiasis: New therapeuticprotocols Disponible en: www.medigraphic.com/pdfs/archivostgi/tgi-2012/tgi126i.pdf
17. Candidiasis Vulvovaginal - Siicsalud. Prevalencia de Candidiasis Vaginal en Pacientes Diabéticas y no Diabéticas. Disponible en www.siicsalud.com/pdf/tc_candidiasis_80514.pdf
18. Pimentel SDB, Reynolds MDE. Candidiasis Vaginal. Revista Paceyña de Medicina Familiar. 2007;4:121-127.
19. Cowen LE. The evolution of fungal drug resistance: modulating the trajectory from genotype to phenotype. Nature Review. 2008;6:187-198.
20. Pimentel SDB, Reynolds MDE. Candidiasis Vaginal. Revista Paceyña de Medicina Familiar. 2007;4:121-127.
21. García HM, García SD, Copolillo EF, Cora EM, Barata AD, Vay CA, et al. Prevalencia de candidiasis vaginal en embarazadas. Rev. argent. microbiol. v.38 n.1 Ciudad Autónoma de Buenos Aires ene./mar. 2006
22. Owen MK, Clenney TL. Management of vaginitis. Am FamPhysician (Internet) 2004 (Referido en 2008 ene 18); 70(11):2125-2140. Disponible en: <http://www.aafp.org/afp/20041201/2125.html>
23. Ringdahl EN. Treatment of recurrent vulvovaginal candidiasis. Am FamPhysician (Internet) 2000(referido en 2008 ene 18); 61(11):3306-3317. Disponible en: <http://www.aafp.org/afp/20000601/3306.html>

24. Hanon HD. Candidiasis Vulvovaginal Recurrente: Nuevos Protocolos Terapéuticos Año III, Volumen 6, Abril 2012. 12. Artículo de RecurrentVulvovaginalCandidiasis: New therapeuticprotocols Disponible en: www.medigraphic.com/pdfs/archivostgi/tgi-2012/tgi126i.pdf
25. Fernández AR, González GE., Fernández GJ, Cepeda PFJ. Fármacos antifúngicos. Situación actual y pautas para su administración. *Clinical and Translational Oncología*. 2005;7(9):377-388
26. Cowen LE. The evolution of fungal drug resistance: modulating the trajectory from genotype to phenotype. *Nature Review*. 2008;6:187-198.
27. Guevara J, Bejar V, Cáceres A, Valencia E. Variedades de *Cándida* en mujeres con flujo vaginal anormal. *Anales de la Facultad de Medicina*. 2000;61 (1):51-54.
28. Cowen LE. The evolution of fungal drug resistance: modulating the trajectory from genotype to phenotype. *Nature Review*. 2008;6:187-198.
29. Martínez M, López RJL, Kirkpatrick WR, Bachmann SP, Perea S, Ruesga MT, et al. Heterogeneous mechanisms of azole resistance in *Candida albicans* clinical isolates from an HIV-infected patient on continuous fluconazole therapy for oropharyngeal candidosis. *J Antimicrob Chemother*. 2002 Mar;49(3):515-24.
30. Carrillo MAJ, Tur-Tur C. *Candida* spp y micosis superficiales. *Actualidad Dermatológica*. 1997; 6:463-472.

31. Candidiasis Vulvovaginal - Siicsalud. Prevalencia de Candidiasis Vaginal en Pacientes Diabéticas y no Diabéticas. Disponible en www.siicsalud.com/pdf/tc_candidiasis_80514.pdf
32. Arenas, R. 2008. Micología Médica Ilustrada. México: McGraw Hill. 425 pp
33. Hurley R, Louvois J. *Cándidavaginitis*. Postgraduate Medical Journal. 1979;55:645-647.
34. Distribución de especies y perfil de susceptibilidad de aislados de *Cándida* spp: la importancia de vigilar también cepas de la comunidad (Internet) vol.30 no.3 Santiago jun. 2013 Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182013000300002
35. Noriega IMF, Vázquez EG, Carrillo ER,. El espectro de la candidiasis en la unidad de terapia intensiva. Revista de Investigación Médica Sur de México. 2008;15:200-208.
36. Martínez M, López RJL, Kirkpatrick WR, Bachmann SP, Perea S, Ruesga MT, et al. Heterogeneous mechanisms of azole resistance in *Candida albicans* clinical isolates from an HIV-infected patient on continuous fluconazole therapy for oropharyngeal candidosis. J Antimicrob Chemother. 2002 Mar;49(3):515-24.
37. Albertson GD, Niimi M, Cannon RD, Jenkinson HF. Multiple efflux mechanisms are involved in *Candida albicans* fluconazole resistance. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40(12): 2835-41.

38. Gómez Q C H. Resistencia de levaduras del género *Cándida* al fluconazol. *Infect. vol.14 suppl.2 Bogotá Dec. 2010*
39. Josep M T R, Yolanda M, Olga L. *Cándida glabrata*: UN PATÓGENO EMERGENTE Instituto Municipal de Investigación Médica. Instituto Municipal de Asistencia Sanitaria. Universitat Autònoma de Barcelona. 2000; 18:120-124.
40. Gómez Q C H. Resistencia de levaduras del género *Cándida* al fluconazol. *Infect. vol.14 suppl.2 Bogotá Dec. 2010*
41. Babic M, Bosn H. *Candida albicans* and non-*albicans* species as etiological agent of vaginitis in pregnant and non-pregnant women. *J Basic Med Sci. 2010;10(1):89-97*
42. Hettiarachchi N, Ashbee HR, Wilson JD. Prevalence and management of non-*albicans* vaginal candidiasis. *Sex Transm Infect. 2010;86(2):99-100.*
43. Arechavala A I, Bianchi M H, Robles A M, Santiso G, Negroni R. unidad Micología, Hospital de Infecciosas F.J. Muñoz, Buenos Aires, Argentina. Identificación y sensibilidad frente a fluconazol y albaconazol de 100 cepas de levaduras aisladas de flujo vaginal. *Rev Iberoam Micol 2007; 24: 305-308.*
44. Perea S, Patterson TF. Antifungal resistance in pathogenic fungi. *Clin Infect Dis 2002;35:1073-1080*
45. Heitman J. Molecular principles of fungal pathogenesis. ASM Press. Washington, USA, 2006.

46. Instituto Nacional de Estadística Bolivia: Informe anual. (sitio internet). La Paz: Ine.com; 2011 (actualizado 2013). Disponible en: <http://www.ine.gob.bo>.
47. Mercure S, Poirier S, Lemay G, Auger P, Montplaisir S, de Repentigny L. Application of biotyping and DNA typing of *Candida albicans* to the epidemiology of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Infect Dis* 1993; 168: 502-507.
48. Nyiyisy Paul MD. Chronic vulvovaginal candidiasis. *Am Family Physician* 2001; 63:697-702.-- Fong IW. The rectal carriage of yeast in patients with vaginal candidiasis. *Clin Invest Med* 1994; 17: 126-31.
49. Instituto Nacional de Estadística Bolivia: Informe anual. (sitio internet). La Paz: Ine.com; 2011 (actualizado 2013). Disponible en: <http://www.ine.gob.bo>.
50. Instituto Nacional de Estadística Bolivia: Informe anual. (sitio internet). La Paz: Ine.com; 2011 (actualizado 2013). Disponible en: <http://www.ine.gob.bo>.
51. <http://books.google.com.bo/books?id=FuukzUi3sLvEC&pg=PA206&lpg=PA206&q=clinical+and+laboratory+standards+institute,zone+diameter+interpretivestandard>
52. <http://books.google.com.bo/books?id=FuukzUi3sLvEC&pg=PA206&lpg=PA206&q=clinical+and+laboratory+standards+institute,zone+diameter+interpretivestandard>

53. Gallegos V, Escoto Ch, Velázquez M. Vulvovaginitis por *Cándida* en diabéticas y embarazadas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. 2010
54. Panizzo M M, Pérez C, Maniscalchi M T. Susceptibilidad in vitro a los antifúngicos de *Cándida* spp. y serotipos de *Cándida albicans* aisladas de pacientes con vaginitis primaria y recurrente. Departamento de Micología, Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", Caracas-Venezuela 2000
55. Arechavala A I, Bianchi M H, Robles A M, Santiso G, Negrón R. unidad Micología, Hospital de Infecciosas F.J. Muñiz, Buenos Aires, Argentina. Identificación y sensibilidad frente a fluconazol y albaconazol de 100 cepas de levaduras aisladas de flujo vaginal. *Rev Iberoam Micol* 2007; 24: 305-308.
56. Gómez Q C H. Resistencia de levaduras del género *Cándida* al fluconazol. *Infect. vol. 14 suppl. 2* Bogotá Dec. 2010

ANEXOS

ANEXO Nº 1

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Invitación a participar: Le invitamos a participar en el proyecto de Investigación denominado: "RESISTENCIA DE *Cándida spp* A LOS ANTIMICOTICOS AISLADA DE FLUJO VAGINAL DE PACIENTES DEL SEGURO SOCIAL UNIVERSITARIO DE POTOSÍ, ASOCIADA A FACTORES PREDISPONENTES DE CANDIDIASIS VAGINAL 2013"

Estimado Paciente:

El consentimiento informado es la potestad que tiene Ud. libremente y sin presiones, que por necesidad diagnóstica, se practique con su muestra de flujo vaginal un procedimiento laboratorial, previa explicación clara de la persona que se lo practicará, con el fin del que Ud, sepa y comprenda como será realizado y cuáles son sus beneficios y riesgos eventuales o perjuicios, a más de obtener respuesta a sus preguntas e inquietudes.

Con este propósito, y para el caso en particular del procedimiento que le será practicado, le solicitamos leer cuidadosamente este formulario, en cuya parte final encontrara una casilla para marcar su aceptación o rechazo, seguida de su cédula de identidad y firma.

Nombre del paciente:

Establecimiento: Seguro Social Universitario Potosí

Nombre del profesional que solicita el procedimiento.....

Nombre del servicio donde procede la solicitud:.....

El procedimiento que se realizará será el examen en fresco de flujo vaginal y cultivo para determinación de *Cándida spp*.

Una vez que Ud. Ha leído y llenado la presente ficha y habiendo comprendido como se realizará el procedimiento y cuáles son sus beneficios o eventuales perjuicios, sírvase señalar claramente si Ud. está de acuerdo o no con su realización.

Si estoy de acuerdo

No estoy de acuerdo

C.I paciente.....

Firma paciente.....Fecha:.....

ANEXO N ° 2

FORMULARIO DE REGISTRO

RESISTENCIA DE CANDIDA SPP A LOS ANTIMICOTICOS AISLADA DE FLUJO VAGINAL DE PACIENTES DEL SEGURO SOCIAL UNIVERSITARIO DE POTOSÍ, ASOCIADA A FACTORES PREDISPONENTES DE CANDIDIASIS VAGINAL 2013

Nombre:.....

Edad.....Fecha de toma de muestra.....

Resultados de laboratorio

Examen en fresco:.....

Tinción de Gram:.....

Cultivo en agar Sabouroud.....

Tubo germinativo:.....

Chromoagar Cándida:.....

Microcultivo.....

Observaciones.....

Prueba de sensibilidad y resistencia

<u>Antimicótico</u>	<u>Halo de inhibición</u>	R	<u>Interpretación</u>
Fluconazolmm	R	S

Factores asociados a la resistencia

Embarazada Si No

Diabética Si No

Uso de antimicóticos en tratamientos anteriores Si No

Cual.....

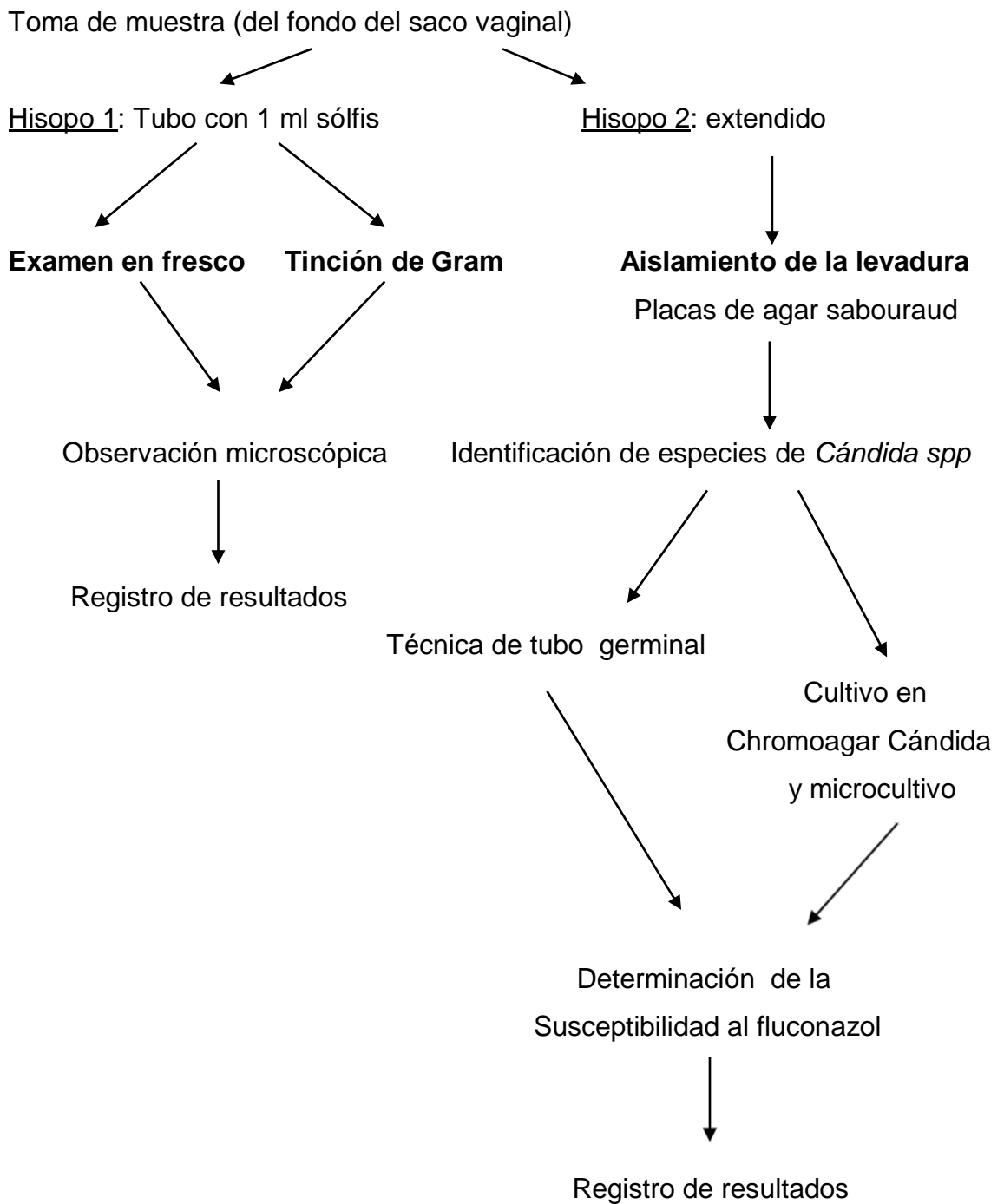
Anexo N° 3

BASE DE DATOS

N°	Edad	Diabéticas	Embarazadas	Proliferación	T.Germinal	especie	Fluconazol
4	30	2	2	1	1	1	1
9	39	2	1	1	1	1	1
10	26	2	2	1	1	1	1
11	27	2	1	1	2	2	2
18	26	2	1	1	1	1	1
20	25	2	2	1	1	1	1
25	31	2	2	1	1	1	2
34	31	2	1	1	1	1	1
41	36	2	1	1	1	1	1
48	37	1	2	1	2	3	1
49	44	2	2	1	2	2	2
50	30	2	2	1	1	1	1
50	30	2	2	1	2	2	2
57	63	1	2	1	1	1	1
58	33	2	2	1	1	1	1
62	38	2	2	1	1	1	1
64	30	2	2	1	1	1	1
64	30	2	2	1	2	2	2
72	40	2	2	1	1	1	1
74	27	2	2	1	2	2	2
75	38	2	2	1	1	1	1
93	38	2	2	1	1	1	1
94	41	2	2	1	1	1	1
96	25	2	2	1	1	1	1
105	34	2	1	1	1	1	1
107	27	2	1	1	1	1	1
108	37	2	2	1	1	1	2
115	40	2	2	1	1	1	1
117	30	2	2	1	1	1	1
125	22	2	2	1	1	1	2
142	30	2	1	1	1	1	1
143	27	2	2	1	1	1	1
145	28	2	2	1	1	1	1
146	32	2	2	1	1	1	1
187	24	2	2	1	1	1	1

Anexo N° 4

Metodología de procesamiento de muestra



Anexo N° 5

Método de Microcultivo

También llamado cultivo en lámina. Este cultivo se realiza una vez recuperado el hongo de un espécimen clínico. Es útil para la identificación de especies de hongos filamentosos.

La técnica de microcultivo se realiza de la siguiente forma:

1. Introducir en una placa de Petri un papel absorbente, una varilla de vidrio en forma de U y una lámina portaobjeto. Esterilizar en autoclave.
2. Tomar una placa de Petri con agar lacrimel y bajo condiciones de esterilidad cortar con un bisturí cuadros de 1 cm de lado colocar uno de ellos sobre la lámina portaobjeto previamente esterilizada anteriormente.
3. Inocular en el centro de los cuatro lados de agar con el hongo en estudio y colocar encima un cubreobjetos.
4. Humedecer el papel absorbente con aproximadamente 5 ml de agua destilada estéril, para evitar desecación.
5. Incubar a 28 ° C .La colonia crecerá por debajo de la superficie del cubreobjetos. Se examina el montaje periódicamente a simple vista para determinar si la colonia ha crecido o se haya contaminado, se deja por un lapso de mínimo de 15 días.
6. Cuando es evidente el crecimiento, e retira cuidadosamente el cubreobjetos con pinzas estériles y se coloca en un portaobjetos que contiene una gota de azul de lactofenol. Si se desea un montaje permanente, se limpia la superficie del portaobjeto e inmediatamente adyacente al borde del cubreobjetos se aplica esmalte para uñas de color claro.
7. Observar la lámina preparada al microscopio óptico.

Anexo N° 6

TABLAS DE ANALISIS BIVARIADOS

Resultados procesados por el programa Epidat 3.1

1. VARIABLE ESPECIE

Tipo de estudio : Transversal

Nivel de confianza: 95.0%

Tabla Enfermos	Sanos	Total		
-----	-----	-----	-----	
Expuestos	5	1	6	
No expuestos	3	26	29	
-----	-----	-----	-----	
Total	8	27	35	
Prevalencia de la enfermedad			Estimación	IC (95.0%)
-----			-----	-----

En expuestos			0.833333	- -
En no expuestos			0.103448	- -
Razón de prevalencias			8.055556	2.603167
24.928084 (Katz)				
-----			-----	-----

Prevalencia de exposición			Estimación	IC (95.0%)
-----			-----	-----

En enfermos			0.625000	- -
En no enfermos			0.037037	- -
Razón de prevalencias			16.875000	2.291056
124.294500 (Katz)				


```

-----
---
OR          IC (95.0%)
-----
43.333333  3.712446  505.806121 (Woolf)
4.551007   -          (Cornfield)

```

Prueba Ji-cuadrado de asociación	Estadístico	Valor p
Sin corrección	8.055556	0.0001
Corrección de Yates	11.1659	0.0008

Prueba exacta de Fisher	Valor p
Unilateral	0.0009
Bilateral	0.0009

2. VARIABLE EMBARAZO

Tipo de estudio : Transversal

Nivel de confianza: 95.0%

Tabla Enfermos	Sanos	Total		
Expuestos	1	7	8	
No expuestos	7	20	27	
Total	8	27	35	
Prevalencia de la enfermedad			Estimación	IC (95.0%)
En expuestos			0.125000	- -
En no expuestos			0.259259	- -
Razón de prevalencias			0.482143	0.069211
3.358728	(Katz)			

Prevalencia de exposición	Estimación	IC (95.0%)	
En enfermos	0.125000	-	-
En no enfermos	0.259259	-	-
Razón de prevalencias 3.358728 (Katz)	0.482143	0.069211	

OR	IC (95.0%)	
0.408163	0.042371	3.931823 (Woolf)
	-	3.150806 (Cornfield)

Prueba Ji-cuadrado de asociación	Estadístico	Valor p
Sin corrección	0.6309	0.4270
Corrección de Yates	0.0992	0.7528

Prueba exacta de Fisher	Valor p
Unilateral	0.3962
Bilateral	0.6478