



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NUCLEO ANZOÁTEGUI
ESCUELA DE CIENCIAS DE SALUD
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA

**IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE *CANDIDA* CAUSANTES DE
VULVOVAGINITIS Y SU SUSCEPTIBILIDAD “IN VITRO” A FLUCONAZOL.**

Asesor:

Msc. Druvic Lemus Espinoza

Trabajo realizado por:

Br. Villarroel Jiménez; Oskarina C.I. 16.938.694

Trabajo presentado como requisito para optar al título de Médico Cirujano

Barcelona, Marzo 2011.

DEDICATORIA

Dedicada especialmente a Mi Señor y Redentor DIOS y su hijo JESUCRISTO por siempre cuidarme, bendecirme, orientarme y apoyarme en este sueño que comencé hace 7 años. Además de darme fuerzas para no desfallecer sabiendo y recordándome en su palabra en Josué 1:9 Mira que te mando que te esfuerces y seas valiente, no temas ni desmayes porque Jehová tu DIOS estará contigo donde quieras que vayas y Romanos 8:37 Antes, en todas estas cosas somos más que vencedores por medio de aquel que nos amó, enseñándome que cuando estamos con JESUCRISTO somos más que vencedor y no hay ninguna barrera que no podamos atravesar.

A mi madre Carmen Dorila Jiménez Álvarez, por ser una gran mujer, ejemplar, madre, padre, compañera, amiga, emprendedora, luchadora, trabajadora, por darme la vida, apoyarme y enseñarme que cuando uno tiene un sueño hay que luchar para alcanzarlo, por sus sacrificios que durante mi carrera realizó, por ayudarme a realizarme como profesional a ti madre va este triunfo que hoy se vuelve realidad para las dos. TE AMO MAMÁ.

A mis ángeles que desde el cielo siempre me están cuidando Patricia Valentina, Anslí y tío Reinaldo, siempre estarán en mi corazón

A mi regalo de DIOS mi padre Douglas Díaz por su apoyo y siempre estar a mi lado en todo el transcurso de mi carrera y enseñarme que hay personas con el corazón inmenso y lleno de amor como el de él. Gracias por existir en mi vida papi.

A mi familia por apoyarme y decirme hija estamos orgullosas de ti, sigue adelante, mis abuelos Rosa y Gerónimo, mis tías Eneida, Albaneli y Yamile las princesas de mi familia ejemplo a seguir, a mis tíos y mis primas Alba (mi hermana), Yannelis, Leidy y María las quierooooo.

A mi segundo regalo de DIOS mi novio Guido López, quien llegó a mi vida en el momento indicado para enseñarme que el amor existe, llenándome de alegrías, fuerzas, esperanzas, bendiciones, cariño y mucho amor, por estar a mi lado incondicionalmente en la

realización de mi tesis. Te amo bebé. Y a mi nueva familia mi suegra Rosanna, y mis cuñadas Joanna y Rosa Emilia.

A mis amigos que siempre estuvieron pendientes de mí desde el comienzo de mi carrera Susana, Maraiza, Magda, Antonio Luis, por darme siempre una palabra de aliento y bendición.

A mis amigas, hermana y compañeras de estudio Maurilina y Lena, serán y seguirán siendo unos ángeles.

Oskarina Del Valle Villarroel Jiménez

AGRADECIMIENTO

A DIOS primeramente por estar a mi lado y darme las fuerzas para seguir en esta larga carrera. GRACIAS DIOS.

A la casa más alta LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE en especial el núcleo de Anzoátegui por brindarme sus enseñanzas y formarme como profesional.

A mi madre Carmen Jiménez y su esposo Arquímedes Hernández por siempre apoyarme emocionalmente y económicamente.

A mis profesores (as) y doctores (as) que fomentaron sus conocimientos en pro de mi aprendizaje, en especial a la Dra. María Padilla, Dra. Mirna Rodríguez y la Dra. María T. Maniscalchi, siempre las llevare en mi corazón y en mis neuronas.

A la empresa Inversiones AGER Estudios y Proyectos, C.A. por su aporte económico para la realización de esta investigación.

Y un súper agradecimiento a mi tutora, profesora, compañera y amiga Druvic María Lemus Espinoza, a quien admiro mucho por la grandiosa persona que es y el espléndido corazón que tiene, además por dedicarme su espacio y tiempo para emprender este camino a la investigación y decirme Villarroel Villarroel tranquila, lo cual me ayudo y enseñó a tener paciencia. Gracias.

La Autora.

INDICE

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iv
INDICE.....	v
LISTA DE TABLAS.....	vii
LISTA DE GRÁFICOS.....	viii
RESUMEN.....	ix
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	4
EL PROBLEMA.....	4
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
JUSTIFICACION.....	7
OBJETIVOS.....	9
OBJETIVO GENERAL.....	9
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	9
CAPITULO II.....	10
MARCO TEORICO.....	10
VULVOVAGINITIS.....	10
GENERO CANDIDA.....	10
CANDIDA ALBICANS.....	11
CANDIDIASIS.....	11
CANDIDIASIS VULVOVAGINAL.....	11
CAPITULO III.....	16
MARCO METODOLOGICO.....	16
TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	16
POBLACIÓN Y MUESTRA.....	16
CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	17
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	17
INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	17
TOMA DE LA MUESTRA.....	17
TRASLADO DE MUESTRAS.....	18

ESTUDIO MICROSCÓPICO.....	18
PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO.....	19
SIEMBRA.....	20
CONSERVACIÓN DE LAS CEPAS PARA LAS PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD <i>IN VITRO</i> :	20
IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE LEVADURAS.....	21
SENSIBILIDAD <i>IN VITRO</i> A LOS ANTIFÚNGICOS.....	22
CAPITULO IV	23
RESULTADOS Y DISCUSION	24
CAPITULO V	40
CONCLUSIONES.....	40
REFERENCIA BIBLIOGRAFICA.....	41
ANEXOS	47
APENDICES N°1 CONSENTIMIENTO INFORMADO	53
APENDICE N°2 RECOLECCIÓN DE DATOS	55
APENDICE N°3 FICHA MICOLOGÍA.	56

LISTA DE TABLAS

Tabla N° 1 Distribución absoluta y porcentual de las especies de levaduras en las muestras provenientes de las secreciones vaginales	23
Tabla N° 2 Distribución absoluta y porcentual de las características macroscópicas (grumosa y fétida) de las secreciones vaginales con las especies de <i>Candida</i>	25
Tabla N° 3 Representación absoluta y porcentual de parámetro pH de las secreciones vaginales con las especies de <i>Candida</i>	27
Tabla N° 4 Representación absoluta y porcentual del N° de leucocitos según especies de <i>Candidas</i>	28
Tabla N° 5 Representación absoluta y porcentual del síntoma clínico prurito con las especies del género <i>Candida</i> de las muestras de secreción vaginal.....	29
Tabla N° 6 Representación absoluta y porcentual del síntoma clínico dispareunia con las especies del género <i>Candida</i> de las muestras de secreción vaginal.	30
Tabla N° 7 Representación absoluta y porcentual del síntoma clínico disuria con las especies del género <i>Candida</i> de las muestras de secreción vaginal.....	31
Tabla N° 8 Representación absoluta y porcentual del síntoma clínico ardor con las especies del género <i>Candida</i> de las muestras de secreción vaginal.....	32
Tabla N° 9 Representación absoluta y porcentual del grupo etario con las especies del género <i>Candida</i> de las muestras de secreción vaginal.	33
Tabla N° 10 Representación absoluta y porcentual de la susceptibilidad “in vitro” a fluconazol según especies del género <i>Candida</i> de las muestras de secreción vaginal.....	34

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1: Distribución absoluta y porcentual de las especies de levaduras en las muestras provenientes de las secreciones vaginales	23
Gráfico N° 2.1: Distribución absoluta y porcentual de las características macroscópicas (grumosa) de las secreciones vaginales con las especies de <i>Candida</i>	25
Gráfico N° 2.2: Distribución absoluta y porcentual de las características macroscópicas (fétida) de las secreciones vaginales con las especies de <i>Candida</i>	26
Gráfico N° 3: Representación absoluta y porcentual de parámetro pH de las secreciones vaginales con las especies de <i>Candida</i>	27
Gráfico N° 4: Representación absoluta y porcentual del N° de leucocitos según especies de <i>Candidas</i>	28
Gráfico N° 5: Representación absoluta y porcentual del síntoma clínico prurito con las especies del género <i>Candida</i> de las muestras de secreción vaginal.	29
Gráfico N° 6: Representación absoluta y porcentual del síntoma clínico dispareunia con las especies del género <i>Candida</i> de las muestras de secreción vaginal.	30
Gráfico N° 7: Representación absoluta y porcentual del síntoma clínico disuria con las especies del género <i>Candida</i> de las muestras de secreción vaginal.	30
Gráfico N° 8: Representación absoluta y porcentual del síntoma clínico ardor con las especies del género <i>Candida</i> de las muestras de secreción vaginal.....	32.
Gráfico N° 9: Representación absoluta y porcentual del grupo etario con las especies del género <i>Candida</i> de las muestras de secreción vaginal.	33
Gráfico N° 10: Representación absoluta y porcentual de la susceptibilidad “in vitro” a fluconazol según especies del género <i>Candida</i> de las muestras de secreción vaginal.....	34



RESUMEN

IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE *CANDIDA* CAUSANTES DE VULVOVAGINITIS Y SU SUSCEPTIBILIDAD “IN VITRO” A FLUCONAZOL.

Autora:

Br. Villarroel Jiménez; Oskarina

Tutora Académica

Msc. Druvic Lemus Espinoza

El objetivo principal del trabajo es identificar las especies de *Candida* causantes de vulvovaginitis y su susceptibilidad *in vitro* a fluconazol. La población estuvo conformada por 85 pacientes que presentaban sintomatología de vulvovaginitis entre ellos leucorrea, prurito, dispareunia, disuria y sensación de quemadura, a las secreciones vaginales se le realizó examen microscópico y medición de pH. La muestra fue sembrada en cultivo de tipo cromogénico, para luego realizar su identificación por especie presente de *Candida* y su susceptibilidad *in vitro* a fluconazol. De los resultados se derivan que la especie que se aisló con mayor frecuencia fue *Candida albicans* en un 69.56% otras especies aisladas fueron *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. krusei* con un porcentaje de 8.70%. Así mismo se encontró que las secreciones vaginales con la especie *Candida* era grumosa 100% y pH donde se observó mayor presencia de levaduras fue de 3-6 (73,91%). Respecto a la sintomatología clínica más del 60% presentó prurito en todas las especies de *Candida* encontradas de igual manera con la dispareunia. Todas las especies de *C. albicans* resultaron sensibles a fluconazol, *C. glabrata* y *C. tropicalis* mostraron sensibilidad dosis dependiente y *C. krusei* resultó 100% resistente a este azol. Las pruebas de susceptibilidad, son necesarias con el fin de establecer la posible eficacia clínica y orientar al médico en su decisión terapéutica.

Palabras clave: Vulvovaginitis, candidiasis vulvovaginal, susceptibilidad *in vitro*.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones vaginales son causas frecuentes de consulta en la práctica ginecológica diaria. Los síntomas incluyen flujo vaginal patológico, prurito vulvar y olor vaginal. Tres enfermedades son responsables con más frecuencia de las infecciones vaginales: vaginosis bacteriana, tricomoniasis vaginal y candida vaginal. (Medina, 1999).

La vulva y la vagina están cubiertas por epitelio escamoso estratificado. La vulva contiene folículo piloso y sebáceas, sudoríparas y las glándulas apocrinas, mientras que el epitelio de la vagina es no queratinizado y carece de estos elementos especializados. (Beckmann, 2009).

Fisiológicamente, la secreción vaginal es el resultado normal de la producción de moco cervical y de la descamación de células epiteliales, presentando un aspecto blanquecino, homogéneo o algo fluocular, viscoso, que se acumula en el fondo de saco vaginal. La cantidad y la composición del moco cervical pueden variar en cuanto a sus características físico-químicas con la edad, la excitación, la actividad sexual y según el momento del ciclo ovárico; así se puede encontrar que aumenta progresivamente a medida que avanza el ciclo. Igualmente la concentración de hidrogeniones en la secreción vaginal de la mujer sana varía y produce un pH de 7,0 en la fase menstrual, en la menopausia y antes de la pubertad, mientras que en la fase premenstrual y en resto del ciclo el pH oscila entre 3,8 y 5,0. (Mard, 1991).

En condiciones normales los lactobacilos constituyen el elemento predominante y junto con otros organismos de la flora vaginal normal (especies de anaerobios, *Escherichia coli* y otros “coliformes”, bacilos difteroides, etc), mantienen una compleja interrelación de equilibrio e inhiben en la mayor parte de las mujeres el sobre crecimiento de otros organismos potencialmente patógenos. Cuando este equilibrio es alterado, los organismos potencialmente patógenos (*Candida spp*, *Gardnerella vaginalis*, algunas bacterias anaerobias, entre otros.) son capaces de proliferar para producir síntomas. Aproximadamente el 20% de los pacientes

que acuden a la consulta de ginecología y obstetricia tienen síntomas de trastornos de la vía genital. (Sobel 1990 y Kaufsman 1994).

Entre las entidades clínicas más comunes y que comprende más del 90% de los casos de trastornos inflamatorios de la vía genital están la candidiasis vaginal, la tricomoniasis y la vaginosis bacteriana. Las infecciones micóticas y la vaginosis bacteriana se disputan el primer lugar de frecuencia. En la candidiasis, el microorganismo causal de la infección puede encontrarse originalmente como flora normal de la cavidad bucal, aparato gastrointestinal e inclusive vagina, y ante cambios de la flora circundante puede proliferar y comportarse como un germen oportunista. (Goode 1994).

Desde los años 80, se ha determinado que muchos de los procesos infecciosos que ocurren en el tracto genital femenino, entre ellas la vulvovaginitis es común, constituye una de las principales afecciones ginecológicas, en mujeres sexualmente activas en edad reproductiva y su causa más frecuente es la candidiasis. *Candida albicans* ha sido considerado el agente más importante de esta patología; sin embargo, estudios más recientes revelan un incremento en la incidencia de otras especies del género (De la Parte, 2006).

Diversos organismos asociados con la vulvovaginitis se encuentran de forma habitual en la flora normal. Aproximadamente un 15% de las mujeres están colonizadas por *Candida albicans*, pero generalmente no presentan síntomas, incluso en varias circunstancias *Candida tropicalis*, *Candida kefyr*, *Candida glabrata* y *Candida parasilopsis* también se encuentran como parte de la flora normal de la vagina, señalándose indiscutiblemente a *Candida albicans* como la especie involucrada en más del 90% de los casos (Maha, 2002).

Las especies del género *Candida*, han desarrollado una batería de factores de virulencia y estrategias para coloniza, infectar y evadir la respuesta inmune del hospedero. Aparentemente la transición de comensal a patógeno puede atribuirse a la expresión selectiva, bajo ciertas condiciones predisponentes, de algunos de los posibles factores de virulencia. Dentro de los atributos de virulencia la levadura del género *Candida* se menciona: cambios fenotípicos, polimorfismo, reconocimiento de moléculas de superficie y secreción de enzimas líticas (Ombrella, 2009).

Algunas especies diferentes a la *C. albicans* tienen la particularidad de presentar resistencia a los tratamientos usuales con antimicóticos, por lo que se hace necesario llegar al diagnóstico de especie para instalar tratamiento específico (De la Parte, 2006).

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La candidiasis vulvovaginal es una infección cosmopolita, considerada como uno de los desórdenes más frecuentes en obstetricia y ginecología, que afecta principalmente a las mujeres sexualmente activas y en edad reproductiva (Maha, 2002). Entendiéndose por candidiasis vulvovaginal a una enfermedad inflamatoria de la vagina, producida por diferentes especies de *Candida*, secundaria generalmente a condiciones fisiológicas alteradas que determinan disminución de la inmunidad local y se caracteriza principalmente por la presencia de flujo vaginal blanco, inodoro y grumoso, prurito, sensación de quemadura, eritema y edema vaginal (Pimentel, 2007).

La candidiasis vulvovaginal se clasifica en: candidiasis vaginal no complicada que se caracteriza por ser esporádica o poco frecuente, con síntomas leves a moderados; *C. albicans* es la causa más probable y no existe inmunosupresión ni se relaciona a embarazo y candidiasis vaginal complicada la cual presenta recurrencia, infección severa, se relaciona a otras especies diferentes a *C. albicans*, se relaciona a inmunodepresión, diabetes y embarazo. La recurrencia o cronicidad se refiere a la presencia de 4 episodios específicos de candidiasis en un año y por lo menos tres episodios no están relacionados medicamentos y cuyas causas son *Candida* resistente al tratamiento, presencia de otras especies de *Candida* (*C. glabrata* y *C. tropicalis*), terapia antibiótica frecuente, uso de anticonceptivos, inmunodepresión, actividad sexual e hiperglicemia. Corresponde a 5% de las mujeres que cursan con candidiasis vulvovaginal (Owen, 2008). Se estima que hasta un 75% de las mujeres sexualmente activas sufren candidiasis vaginal al menos una vez en la vida y entre el 5 a 10% de ellas la padecen en forma recurrente (García, 2006).

Es importante mencionar que tanto la colonización como la infección vaginal micótica son más frecuentes en el embarazo y en mujeres con otros factores predisponentes, la literatura refiere que un elevado porcentaje de estas infecciones, suelen ser de origen endógeno por modificación del ecosistema microbiano intestinal o vaginal, ya sea después de un tratamiento antibiótico, por disminución de las defensas inmunitarias del hospedero como en el caso de corticoterapia, enfermedades inmunosupresoras, diabetes no controlada, obesidad, estrés, uso de anticonceptivos orales, terapias de reemplazo hormonal, e incluso el uso de prendas de vestir inadecuadas y la utilización irracional de productos de higiene femenina (Rodríguez, 1996).

Desde la perspectiva clínica, la resistencia antibiótica puede definirse como la persistencia o progresión de una infección a pesar de la terapia adecuada. Los resultados clínicos del tratamiento dependen de la sensibilidad del patógeno a un cierto fármaco y a factores como la farmacocinética, interacciones farmacológicas, sistema inmunológico y cumplimiento por parte del paciente. La resistencia puede determinarse como la concentración inhibitoria mínima que restringe el crecimiento del hongo *in vitro*. Sin embargo, este parámetro en oportunidades sólo pronostica el resultado clínico. Las diferencias en las sensibilidades a los antimicóticos entre patógenos, poblaciones y especies reflejan distintas escalas de tiempo de evolución. Muchas especies evidencian un amplio espectro de sensibilidades a determinada droga, con genotipos sensibles y resistentes. Algunas clonas de especies podrían haberse adaptado a la droga luego de su exposición, en cualquier momento de su evolución. Según la magnitud de la capacidad replicativa, el fenotipo de resistencia puede persistir en ausencia del antimicótico. Los genotipos resistentes pueden ser transmitidos entre cepas por mecanismos intrínsecos, entre pacientes hospitalizados o por medio de diferentes parejas sexuales. En la escala evolutiva más contemporánea se encuentra el surgimiento de resistencia en una población de levaduras inicialmente sensible que se adapta a la droga en un paciente a lo largo del tratamiento. (Cowen, 2002).

Tradicionalmente el diagnóstico de vulvovaginitis candidiásica se ha realizado clínicamente sin confirmación del laboratorio, o algunas veces solo se solicita el examen microscópico directo, el cual permite obtener información respecto a la presencia de hongos y su abundancia; la observación directa de levaduras en muestras vaginales y de cérvix tiene un

valor cuestionable, pues pueden ser parte de la flora comensal; sin embargo, la presencia de leucocitos polimorfonucleares es un signo sugestivo de infección. En la candidiasis vaginal, la microscopía presenta, en general una baja sensibilidad a veces inferior al 50%, por lo que siempre debe realizarse el cultivo para identificar el hongo levaduriforme aislado, ya que en vagina se pueden encontrar otros hongos levaduriformes como *Trichosporom* y *Rhodotorula*, *Sacharomyces cereviciae* e igualmente es importante tipificar la especie de *Candida* aislada, para realizar un tratamiento específico (Llovera, 2004).

Algunos autores consideran que la colonización vaginal por *Candida* es de extrema importancia, y que la infección clínica no es sino la parte visible de una infección severa, teniendo en cuenta que es importante conocer el mecanismo patogénico por lo que una colonización asintomática puede transformarse en una infección clínica. La identificación de la especie de *Candida* permitirá un tratamiento específico para la erradicación del hongo (Plazas, 2008).

Con lo antes expuesto surge la interrogante de ¿Cuáles serán las especies de *Candida* causantes de Vulvovaginitis? ¿Cual será su susceptibilidad *in vitro* a fluconazol? La presente investigación se propone dar respuestas a dichas interrogantes.

JUSTIFICACION

Como se ha venido mencionando las infecciones vaginales son una de las causas más frecuentes de consulta ginecológica en las mujeres en edad fértil. En estudios realizados a nivel mundial se ha encontrado que el 90% de las infecciones son causadas por agentes bacterianos seguidos por levaduras del género *Candida* spp. Sin embargo, a pesar de los avances terapéuticos, la candidiasis vulvovaginal continúa siendo un problema en el mundo, afectando a todos los estratos sociales (Salas, 2009).

La incidencia de la candidiasis vulvovaginal no se conoce realmente ya que no amerita denuncia obligatoria y por errores en el diagnóstico, debido a estudios poco representativos de la población general. Afecta entre 70 y 75% de las mujeres en edad fértil y se estima que 40 y 50% experimentará recurrencia relacionadas con especies diferentes de *Candida albicans* en algún momento de su vida y al menos un 5 a 8% de las mujeres desarrolla un cuadro más grave; asimismo se estima que, en promedio, 20% de las mujeres asintomáticas están colonizadas por estas levaduras (Sobel, 2007).

En países desarrollados e industrializados el diagnóstico y tratamiento de la candidiasis vulvovaginal, se asocia a una importante pérdida de productividad y generan un gasto económico importante, aumentando esta problemática en países en vías de desarrollo; es importante mencionar que aproximadamente el 95% de las levaduras aisladas corresponden a *C. albicans*, siendo la segunda en frecuencia *C. glabrata* (10 a 20%), que se ha demostrado estar asociada a candidiasis vulvovaginal recurrente y se estima que la incidencia de candidiasis vulvovaginal por otras especies de *Candida*, ha aumentado por el uso de tratamientos inadecuados; así como por los factores de virulencia y patogenicidad de estas levaduras, y otros factores predisponente para esta infección como los son factores hormonales, uso de antibacterianos, edad, actividad sexual, comorbilidades como la diabetes mellitus, entre otras que predisponen a la colonización y al desarrollo de candidiasis vulvovaginal (Rivero, 2003).

Debido al aumento observado en el número de casos por esta infección, además del incremento de algunas especies resistentes a los antifúngicos, se hace necesario estudios que permitan determinar la etiología de estas infecciones, con el fin de brindar una información oportuna sobre las especies que circulan en el estado y el comportamiento de la levadura con respecto al perfil de susceptibilidad frente a los azoles de uso más frecuentes en el tratamiento de esta entidad clínica.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Identificar las especies de *Candida* asociadas a cuadro de vulvovaginitis y su susceptibilidad *in vitro* a fluconazol.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1.- Distinguir las especies de levaduras presentes en secreciones vaginales de pacientes con sintomatología de vulvovaginitis.

2.- Describir los signos clínicos asociados a los casos de candidiasis vulvovaginal en pacientes con clínica.

3.- Relacionar las especies de *Candida* aisladas con la sintomatología clínica presentada por las pacientes con vulvovaginitis.

4.- Determinar la susceptibilidad *in vitro* de las especies de levaduras aisladas.

CAPITULO II

MARCO TEORICO

VULVOVAGINITIS

Entendemos por “Vulvovaginitis” los diferentes grados de inflamación de la vulva, la vagina y el tejido endocervical ectópico. Esta inflamación puede acompañarse de leucorrea, prurito, escozor, disuria y dispareunia. (ACOG, 2006).

Este síndrome clínico muy frecuente a una proporción alta de mujeres. En condiciones fisiológicas las secreciones vaginales junto con las células de descamación y bacterias constituyen el flujo vaginal normal, que puede aumentar durante el embarazo o por la toma de anticonceptivos. Cuando este flujo vaginal aumenta se denomina leucorrea, que en ocasiones tiene un olor desagradable y que junto con el prurito es el síntoma fundamental de la vulvovaginitis. (De la Rosa, 2003).

GÉNERO CANDIDA

El género *Candida* pertenece a la clase *Deuteromycetes* o *Fungi imperfecti* (hongos imperfectos), clase *Blastomycetidae*, familia *Cryptococcaceae*. Destacan como patógenos del hombre las siguientes especies de *Candida*: *C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, entre otras, siendo la primera la que se aísla con más frecuencia. (García 1999).

Las especies pertenecientes a este género representan los patógenos fúngicos oportunistas más frecuentes, son hongos dimorfos de distribución universal que forma parte de la flora residente de la boca, trato digestivo y genital femenino de sujetos sanos. (De la parte, 2006).

Las especies de *Candida* crecen como levaduras típicas de 4-6 μm , redondas u ovals, con gemación en la mayoría de las condiciones y en casi todas las temperaturas. (Ryan, 2005).

CANDIDA ALBICANS

C. albicans, el hongo más patógeno de este género, es habitualmente de procedencia endógena. Tiene una distribución natural muy restringida. Se encuentra en el hombre y otras especies de animales, en vegetales y suelo. En la especie humana *C. albicans* forma parte de la flora microbiana de la boca, tubo digestivo y vagina. Microscópicamente se observan levaduras ovoides y cortas, pseudohifas, hifas y blastosporas internodulares. También genera clamidosporas en agar de maíz y túbulos germinales en suero. (Pumarola, 1995).

CANDIDIASIS

Micosis primaria o secundaria ocasionada por levaduras endógenas y oportunistas del género *Candida*, especialmente *Candida albicans*. Las manifestaciones clínicas son localizadas, diseminadas o sistémicas; puede afectar piel, mucosa, estructura profunda y órganos internos. La evolución es aguda, subaguda o crónica. (Arenas 1993).

CANDIDIASIS VULVOVAGINAL

En la mayoría de las mujeres las levaduras se encuentran como organismos comensales en la vagina sin producir enfermedad; sin embargo, existen alteraciones en el ecosistema vaginal que le permiten proliferar y desarrollar una vaginitis. (Aller. 1999).

Epidemiológicamente, la incidencia se ha elevado durante los últimos 20 años, la vulvovaginitis explica el 20% a 30% de las enfermedades ginecológicas. (Arenas 1993).

Entre los agentes causales de esta alteración vaginal se encuentran el uso de antibióticos como penicilinas, cefalosporinas y tetraciclinas, que originan una disminución de los

Lactobacilos, y condiciones como la diabetes, el embarazo y el uso de anticonceptivos orales con elevada concentración de estrógenos, que producen un aumento del glucógeno vaginal que favorece el desarrollo de candidiasis vaginal. La alteración de la inmunidad mediada por células asociada con el embarazo puede contribuir al aumento de la candidiasis en éste período. (Sobel, 1979).

Los síntomas incluyen prurito, sensación de quemadura en la vagina o la vulva y puede haber disuria. La vulva y la vagina pueden estar eritematosas y haber lesiones satélites en la periferia del eritema vulvar, se observa un flujo que varía en apariencia, pero que generalmente es blanco y adherente. (Aller, 1999).

Determinadas condiciones o factores exaltan la virulencia de las especies de *Candida*:

1-Inhibición que los antibióticos de amplio espectro ejercen sobre la flora microbiana normal del hospedero.

2-Aumento de estrógeno circulante que enriquecen los depósitos de glucógenos del epitelio vaginal y determinan mayor producción de ácido láctico, bajando el pH.

3-Enfermedades como la diabetes azucarada, cirrosis hepática, sprue, cáncer, tuberculosis, infecciones crónicas, que produzcan en el organismo estados de desnutrición avitaminosis o caquexia a parte de *Candida albicans* la más aisladas de los tipos clínicos son: *Candida tropicalis* que aparece en las estadísticas seguida de *Candida albicans* en los aislados de material infectado. Esta especialmente asociado a vulvovaginitis. (Casas, 1994).

Las infecciones micóticas se adquieren del ambiente o pueden ser endógenas en unos cuantos casos, cuando el agente causal forma parte de la flora normal, las infecciones se restringen a unas cuantas levaduras en especial *Candida albicans*. Estas levaduras tienen la capacidad de colonizar mediante su adhesión a las células hospedero en formar estructuras más profundas, si tienen la capacidad de adhesión: varias especies de hongos, sobre todo las levaduras pueden colonizar la superficie de la mucosa de los sistemas digestivos y genital femenino. Se ha demostrado en estudios experimentales que la capacidad para adherirse a las células epiteliales bucales y vaginales se vincula con la colonización y viremia.

La invasión directa de las barreras mucosas por la levadura de *Candida albicans* se acompaña de un cambio morfológico, la formación de hifas. Se desconoce los mecanismos desencadenantes de este cambio, pero la nueva forma es capaz de penetrar y diseminarse.

El cambio de la forma de blastospora a la hifa tiene una relación importante con el aumento del potencial patógeno de *Candida albicans*.

Las hifas de *Candida albicans* tienen la capacidad de formar uniones fuertes con las células epiteliales humanas. El mediador probable de esta unión es una proteína de la pared de la hifa (Hwp1) que solo se encuentra en la superficie de los tubos germinales y las hifas. Este nuevo procedimiento patogénico emplea las enzimas del hospedero para unir al patógeno con las células epiteliales. Las hifas también se secretan proteinasas y fosfolipasas que pueden digerir las células epiteliales y tal vez facilita la invasión.

Candida albicans tiene receptores proteicos de superficie que se une con el componente C3 del complemento en forma similar a la de los receptores en los neutrófilos. Por lo tanto, el C3 unido a la superficie candidosica mediante estos receptores está orientado de manera que es inaccesible a la opsonización. (Ryan, 2005)

Diagnostico: se realiza examen directo a partir del exudado vaginal, se efectúa con hidróxido de potasio, solución de lugol o fisiológica. También se pueden realizar frotis y teñirse con Gram, azul de metileno, entre otros, se observan bastantes células redondeadas u ovals de 2 a 4 micrometros de diámetro, las blastosporas y pseudo hifas o hifas verdaderas el cultivo se logra a 35-37°C y en los medio habituales, como Sabouraud simple o con clorafenicol y actidiona. Para confirmar la patogenicidad de la levadura aislada es necesario obtener colonias abundantes. (Arenas, 1993)

Entre los tratamientos más utilizados están los imidazólicos y la nistatina, siendo los primeros los más efectivos. Se ha venido observando en estudios recientes que ha aumentado el número de aislamientos correspondiente a especies de *Candida* no *albicans* como agente

etiológico de vulvovaginitis, particularmente en candidiasis vulvovaginal recurrente. La importancia de realizar cultivo e identificación de los aislados radica en el hecho de que algunas especies de *Candida* son resistentes naturales a ciertos imidazoles, como por ejemplo *C.krusei* que es resistente natural al fluconazol. (Nyir, 1994), mientras que otras levaduras como *C. tropicalis*, *C. glabrata* presentan una mayor resistencia a los azoles en general. Se piensa que en el uso previo de imidazoles, especialmente el fluconazol, podría efectuar una selección de estas especies resistentes e incluso podría inducir a la aparición de cepas mutantes de *C.albicans* resistente a la terapia. (Jhonson, 1984).

Las drogas antifúngicas más importante en clínica o con más perspectiva de uso futuro pueden agruparse según Kerridge. De acuerdo a su mecanismo de acción en aquellos que actúan sobre el núcleo, la membrana citoplasmática o la pared celular. Entre las drogas que actúan a nivel del núcleo, la más común es la 5-fluorocitosina que origina la síntesis defectuosa de RNA en aquellas células que posee una citoxina permeasa que les permite incorporar la droga a su citoplasma; probablemente debido a deficiencias en estas permeasas, la 5-fluorocitosina genera una alta proporción (5 al 10%) de mutantes resistente. (Kerridge, 1966)

Las drogas que actúan a nivel de la membrana citoplasmática pueden alterar la integridad física de la misma o bien actuar sobre la síntesis del ergosterol. Entre las primeras tenemos la anfotericina B y la nistatina o drogas polienicas, que se enlazan con los esteroides de la membrana citoplasmática de eucariotas incrementando la permeabilidad celular y alterando el normal flujo de elementos. La principal limitación del uso de los polienicos radica en que también afectan a las membranas de eucariotas superiores que contengan esteroides, (como el colesterol) produciendo daño a nivel renal. Entre las drogas que inhiben la síntesis de ergosterol se encuentran los azoles, cuyo mecanismo de acción consiste en inhibir la 14 α -demetilasa del lanosterol dependiente del citocromo p-450 con posterior acumulación del lanosterol; al no poderse reemplazar el ergosterol de la membrana se producen cambios en la misma que conducen a la inhibición del crecimiento.

La aparición de cepas resistentes a ciertos azoles, en especial a fluconazol, debe ser elemento de alerta en el uso racional de estas drogas. (San Blas, 1991, Rex 1995). En el caso de las levaduras se han descrito tres mecanismos de resistencia a los azoles. Uno es reduciendo el acceso de las drogas a las enzimas blanco del citocromo p-450, bien disminuyendo la entrada de la droga o acelerando su excreción; el segundo mecanismo implica la sobreproducción de las enzimas blanco, posiblemente por amplificación génica, a consecuencia de la cual se necesita mayores dosis para producir el efecto inhibitorio y un tercer mecanismo es la alteración estructural del citocromo p-450 con la consiguiente disminución de la susceptibilidad a la droga. (Odds, 1996).

CAPITULO III

MARCO METODOLOGICO

TIPO DE INVESTIGACIÓN

Se realizó un estudio de tipo Epidemiológico, definido como: “aquel que estudia grandes grupos de pacientes para conocer la frecuencia y distribución de las enfermedades y sus relaciones con otros factores”; Transversal, puesto que se examinó las características de una determinada población de pacientes en un determinado periodo de tiempo y espacio (Romero, 1999), Experimental ya que es definida como una prueba o ensayo, en la que es posible manipular una o más variables independientemente para observar los cambios en la variable dependiente en una situación o contexto estrictamente controlado por el investigador (Balestrini, 2002).

POBLACIÓN Y MUESTRA

Población: Según Alcáida, A. (1979). “Cualquier conjunto de elementos de los que se quiere conocer o investigar alguna o algunas de sus características”, representada por secreciones vaginales de pacientes con clínica de vulvovaginitis.

Muestra: Según Balestrini (2002). “Parte de la población, es decir, un número de individuos u objetos seleccionados científicamente, cada uno de los cuales es un elemento del universo, obtenida con el fin de investigar, a partir del conocimiento de sus características particulares, las propiedades de una población”, representada por las pacientes que acuden con sintomatología de vulvovaginitis.

Tipo de muestra: Se utilizó una muestra no probabilística, la cual es un procedimiento de selección informal, en donde la elección de los sujetos no depende de que todos tengan la misma probabilidad de ser elegidos, sino de la decisión de un investigador o investigadores, con la ventaja de que requiere no tanto una representatividad de elementos de una población, sino de una cuidadosa y controlada elección de sujetos con ciertas características específicas (criterios de inclusión y exclusión), que se adapten a los objetivos y alcances del trabajo.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Mujeres con sintomatología orientada clínicamente hacia cuadros de vulvovaginitis.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Mujeres que hayan recibido tratamiento antibiótico con aproximadamente 4 semana de anterioridad a la toma de muestra.
- Mujeres con enfermedades que produzcan inmunosupresión.
- Mujeres que con sangrado menstrual.

INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

- A. Consentimiento informado a la paciente. (Apéndice N°1).
- B. Ficha de recolección de datos. (Apéndice N°2).
- C. Ficha de identificación de especie. (Apéndice N°3).

TOMA DE LA MUESTRA

Para la toma de la muestra de secreción vaginal, se procedió con el uso de guantes estériles y previa colocación de la paciente en posición ginecológica a introducir un especulo bivalvo (de Graves) estéril (Kenxin International Company, Tamaño medium y large) sin utilizar lubricante, bajo visión directa del canal vaginal, se seleccionó el tipo de secreción según los criterios subjetivo para vulvovaginitis de origen micótico caracterizado principalmente por la presencia de flujo vaginal blanco, inodoro como “ leche cortada”, prurito, sensación de quemadura, eritema y edema vaginal) (Pimentel, 2007), se recogió la secreción de la mucosa de

la pared posterior del canal vaginal mediante aplicador de madera con algodón estéril, haciendo rodar el mismo por la zona de secreción más abundante y se colocó este material en tubo Vacutainer también contentivo de 1cc de solución fisiológica. Simultáneamente se realizó la colección de una segunda muestra representativa con dispositivo Copan para el mantenimiento de las levaduras hasta el traslado al laboratorio, con la ayuda de una pipeta Pasteur descartable se colectó secreción para coleccionar la medición de pH de la muestra utilizada para tal fin cinta de pH (pHydrion papers / micro essential laboraty Inc.)

TRASLADO DE MUESTRAS

La fase de traslado de las muestras de las secreciones se efectuó mediante dispositivo de medio de transporte estéril para gérmenes aerobios y anaerobios (Copan), las muestras se colocaron en una cava térmica, cuya temperatura era de aproximadamente 8°C, trasladándose hasta el laboratorio d Grupo de Investigación de Micología, de la Universidad de Oriente, del Núcleo de Anzoátegui.

Previo a la toma de las muestras, se le informó a cada paciente acerca de la naturaleza del estudio, manifestando éstos su disposición e interés en formar parte del mismo.

Se les entregó el consentimiento informado, el cual fue firmado por ellas.

ESTUDIO MICROSCÓPICO.

A todas las muestras colectadas se les realizó 2 evaluaciones microscópicas:

a. Examen directo en solución salina: Para visualizar en objetivos secos de 40X si estaban presentes estructuras fúngicas. Para ello se colocó en el centro de una lámina previamente rotulada e identificada. Se tomo 30µl de la suspensión de la secreción vaginal, cubriéndola con laminilla de (22 x 22 mm) bajo microscopia de 40X, (Olympus CH-20).

b. Coloración de Gram.

Se le realizó a cada una de las secreciones una coloración de Gram (Modificación de Huccker y Conn, 1923) que permitió verificar la presencia de blastosporas, polimorfonucleares, entre otros. Se observó bajo microscopía de 100X. (Olympus CH-20). Procediéndose de la siguiente manera:

- Se fijó el extendido con calor
- Luego se cubrió el extendido con solución de lugol, por un minuto
- A continuación se lavó con solución alcohol – acetona.
- Se lavó con agua corriente.
- Y por último, se colocó solución de safranina e inclino la lámina en un ángulo de 45° aproximadamente, dejando secar al aire libre. El número de la lámina quedó en la parte superior para luego ser evaluada por microscopía.

PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO.

Se procedió según norma de cada fabricante, a la preparación de los medios Chromo Agar® (Oxoid), Sabouraud (BBL, Microbiology) + Cloranfenicol Agar, Müller-Hinton (BBL)

Chromo Agar:

- Se agregó 15,6 g 500 ml de agua destilada.
- Luego se hirvió hasta disolver completamente el medio.
- Se incorporó un vial del suplemento inhibitorio, reconstituyéndole 5 ml de metanol.
- Se mezcló bien antes de verter a la placa de Petri.

Agar Müller-Hinton:

- Se agregó 38 g 1000 ml de agua destilada.
- Glucosa al 2%
- Azul de metileno 0,5 µg/ml
- Luego se hirvió hasta disolver completamente el medio.
- Se esterilizó por medio del autoclave a 15 lb de presión (121°C), 15 minutos.

- Se mezcló en vórtex (Maxi-Mix) bien antes de verter.

Agar Sabouraud Cloranfenicol:

- Se agregó 65 g en 1000 ml de agua destilada.
- Se calentó hasta hervir para disolver el medio completamente.
- Se esterilizó por medio del autoclave 15 lb de presión (121°C), 15 min.

SIEMBRA

Se procedió a iniciar una siembra por agotamiento de la muestra de la secreción en el medio Chromo Agar (Oxoid), este medio fue implementado por la capacidad diferenciadora de especies de levaduras que tiene el agar, la cual se visualiza por los cambios de color (García-Martos, P. y Otros, 1998), permitiendo discernir entre los grupos principales de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* y *C. krusei*. y poder obtener, después 48 horas de incubación a una temperatura aproximada de 35°C, la detección de la actividad enzimática por parte de la levadura, mediante hidrólisis específica de un sustrato cromogénico en presencia de un indicador incorporado en este medio selectivo que permite identificar algunas especies de *Candida*.

Las otras especies del género fueron identificadas por el método API AUX 20 que permite, mediante comportamiento bioquímico alcanzar la identificación de más de 20 microorganismos que no pueden ser detectados por el método cromogénico.

CONSERVACIÓN DE LAS CEPAS PARA LAS PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD *IN VITRO*:

En las muestras donde se desarrolló crecimiento, se procedió a realizar repique en el medio de cultivo Sabouraud Cloranfenicol Agar, para la conservación de la levadura hasta el momento de realizar pruebas complementarias.

IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE LEVADURAS

Se utilizó la galería API AUX 20C, para la verificación de las propiedades metabólicas de las levaduras estudiadas.

La galería API 20 C AUX (Biomieux, France), está constituida por 20 cúpulas que contienen sustratos deshidratados y permite obtener 19 ensayos de asimilación. Las cúpulas se inoculan con un medio mínimo semi-agar y las levaduras crecen solamente si son capaces de utilizar el sustrato correspondiente. La lectura de estas reacciones se realiza por comparación con los testigos de crecimiento y la identificación se obtiene con la ayuda del catálogo analítico o del software de identificación.

EL INÓCULO SE PREPARÓ DE LA SIGUIENTE MANERA:

- Se abrió una ampolla de API suspensión medium, 2 ml o una ampolla de API NaCl al 0,85%.
- Con la ayuda de una pipeta, se extrajo una fracción de colonia por aspiración o por toques sucesivos, utilizando cultivos jóvenes, entre 18 – 24 horas.
- Se realizó una suspensión de levadura de turbidez igual a la del patrón 2 de Mc Farland. Esta suspensión se utilizó inmediatamente después de su preparación.
- Se abrió una ampolla de API C medium, transfiriéndose 100 µl de la suspensión anterior, homogeneizando con la pipeta para evitar la formación de burbujas.

PARA EL INÓCULO DE LA GALERÍA, SE PROCEDIÓ A:

- Llenar las cúpulas con la suspensión obtenida en el API C medium, procurando que no se formaran burbujas y para ello se colocó la punta de la pipeta sobre la zona lateral de la cúpula.
- Se cuidó que se creara un nivel horizontal o ligeramente convexo, pero jamás cóncavo. Las cúpulas parcial o excesivamente llenas son causa de resultados incorrectos.
- La cámara se cerró, procediéndose a incubar por horas 48 – 72 h a 29° C.

- Lectura de la galería: después 48-72 horas de incubación el ensayo, en particular la glucosa, no resultó muy claro después de las primeras 48 horas, se observó el crecimiento de las levaduras comparativamente con la cúpula 0, testigo negativo. Cabe referir que una cúpula con mayor turbidez que la de control, indica una reacción positiva que se anotó en la guía de observación.
- Interpretación: la identificación se obtuvo a partir del perfil numérico donde en la hoja de resultados los test se vaciaron los grupos.
- Con la ayuda del software, se localizó el perfil correspondiente de la levadura en estudio, identificando el género y especie de la levadura.
- Culminados los ensayos, los datos se analizaron empleando el análisis estadístico mediante el uso del software SPSS 11,0 bajo Windows.

SENSIBILIDAD *IN VITRO* A LOS ANTIFÚNGICOS

Se evaluó la sensibilidad al fluconazol (FCZ) por el método de difusión en agar (M44-A) establecido por el Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2004).

PREPARACIÓN DEL INÓCULO: para ello se tomó de 3 colonias de las levaduras en estudio para ajustarse a la turbidez de 0,5 Mc Farland, lo que corresponde al rango de $1 - 2 \times 10^8$ UFC/mL unidades formadoras de colonias por ml, valorado con turbidímetro digital (Oxoid VE89).

- Se procedió a impregnar un aplicador de madera con algodón estéril, en la suspensión y se inoculó la placa de Petri en el medio sólido de Mueller-Hinton suplementado con glucosa al 2% y 0,5 µg/ml de azul de metileno.
- La prueba se llevó a cabo con sensidiscos (BD Decton-Dickinson) que tenían una concentración de 25 µg de fluconazol

- El halo de los diámetros de inhibición fue medido con un instrumento de calibración vernier digital marca Electronic Digital Calliper Type LR 44, el cual expresa digitalmente la lectura del halo en milímetros.
- Los halos fueron clasificados como Sensibles (S), Sensibles Dosis Dependiente (SDD) o Resistentes (R) al antifúngico, según los puntos de corte establecidos por el CLSI (2004) para el fluconazol
- Como control de calidad de la prueba, se utilizó la cepa ATCC *C. albicans* 90028 y *C. krusei* ATCC 6258 de sensibilidad conocida (CLSI, 2004). Las concentraciones críticas utilizadas en miligramos por litro (mg/l) recomendadas por la CLSI para *Candida* spp:

Agente antifúngico	Concentración del disco	Diámetro de la Zona			Equivalente CMI		
		R	SDD	S	R	SDD	S
Fluconazol	25 µg	≤14	15-18	≥19	≥64	16-32	≤8

Definiendo los criterios S: Sensible, SDD: Sensible Dosis Dependiente y R: Resistente como índice del fabricante.

CAPITULO IV
RESULTADOS

Tabla N° 1 Distribución absoluta y porcentual de las especies de levaduras en las muestras provenientes de las secreciones vaginales

Levaduras	Fa	%
<i>C. albicans</i>	16	69.56
<i>C. glabrata</i>	2	8.70
<i>C. tropicalis</i>	2	8.70
<i>C. krusei</i>	2	8.70
Mixta	1	4.34
Total	23	100

Mixta: *C.albicans*, *C. krusei* Fa: Frecuencia absoluta

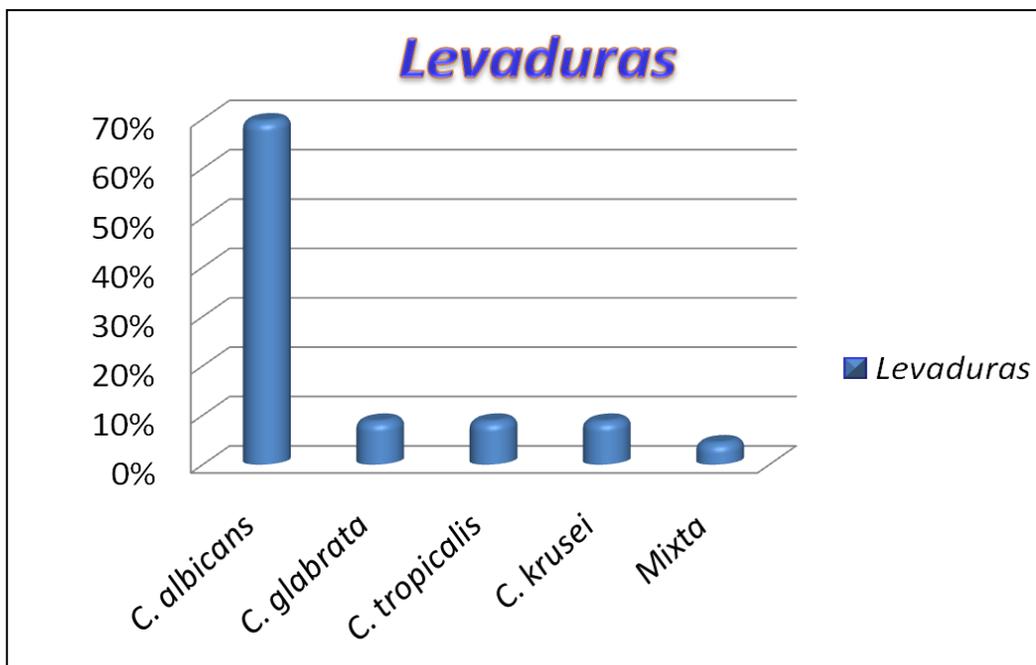


Gráfico N° 1: Distribución absoluta y porcentual de las especies de levaduras en las muestras provenientes de las secreciones vaginales

Análisis: Las especies de *Candida* que resulto más frecuente fue *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* en menos frecuencia (8.70%). Solo se obtuvo el 27.06% para infecciones micóticas.

Tabla N° 2 Distribución absoluta y porcentual de las características macroscópicas (grumosa y fétida) de las secreciones vaginales con las especies de *Candida*.

Especie	Grumosa						Fétida					
	Presente	%	Ausente	%	Fa	%	Presente	%	Ausente	%	Fa	%
<i>C. albicans</i>	9	56.25	7	43.75	16	100	10	62.5	6	37.5	16	100
<i>C. tropicalis</i>	2	100	0	0	2	100	1	50	1	50	2	100
<i>C. glabrata</i>	2	100	0	0	2	100	2	100	0	0	2	100
<i>C. krusei</i>	2	100	0	0	2	100	1	50	1	50	2	100
Mixta	1	100	0	0	1	100	1	100	0	0	1	100

Mixta: *C.albicans*, *C. krusei* Fa: Frecuencia absoluta.

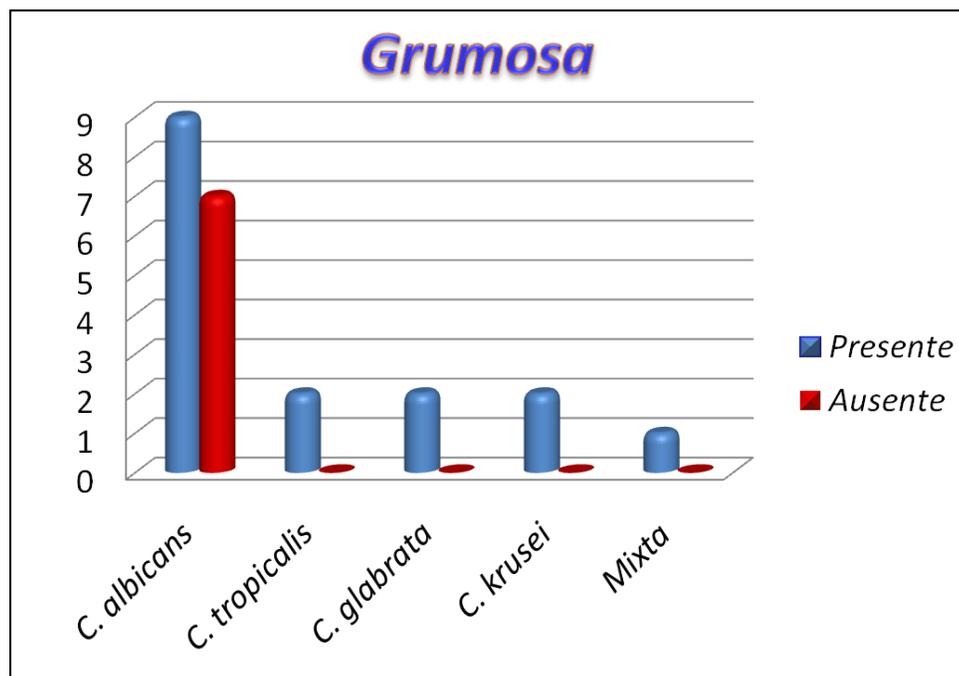


Gráfico N° 2.1: Distribución absoluta y porcentual de las características macroscópicas (grumosa) de las secreciones vaginales con las especies de *Candida*.

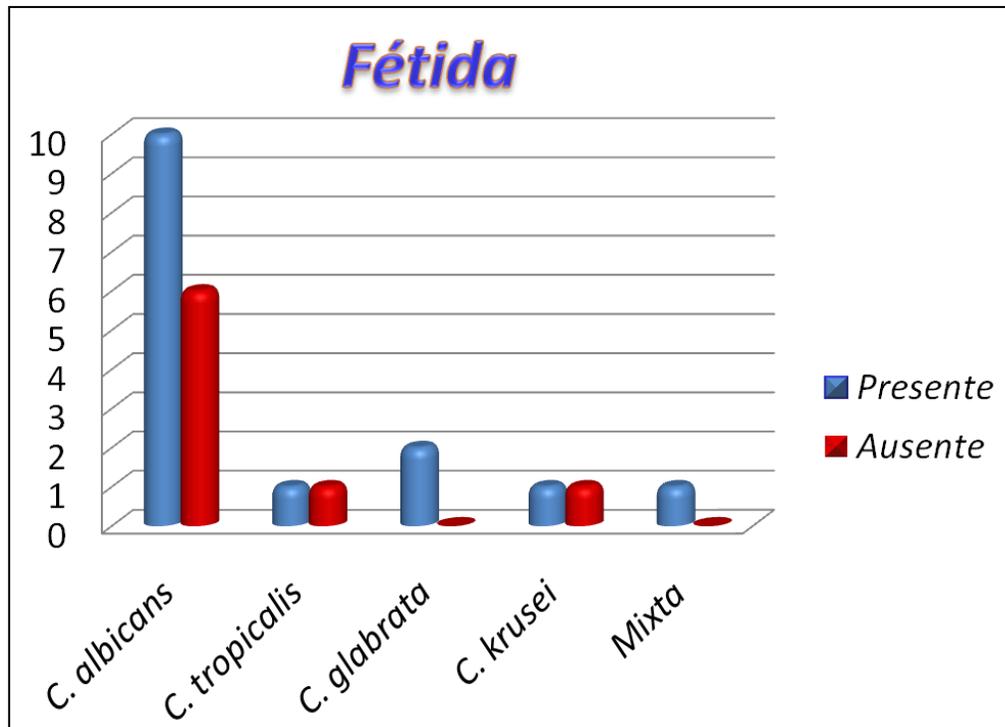


Gráfico N° 2.2: Distribución absoluta y porcentual de las características olor (fetidez) de las secreciones vaginales con las especies de *Candida*.

Análisis: En relación con las características de la secreción a expensas del carácter grumoso se evidenció que más del 50% de las pacientes evaluadas y con cultivo positivo para *Candida albicans*, poseían secreción tipo grumosa y el olor que se percibía de la misma era fétido. En el caso de *C. krusei* se detectó secreción tipo grumosa en todos los casos. La mitad de las secreciones con este agente se caracterizó por olor fétido. *C. tropicalis* - *C. glabrata* en un 100% fueron relacionados con secreción grumosa al menos en uno de los casos donde estuvo presente.

Tabla N° 3 Representación absoluta y porcentual de parámetro pH de las secreciones vaginales con las especies de *Candida*.

pH	<i>C. albicans</i>		<i>C. glabrata</i>		<i>C. krusei</i>		<i>C. tropicalis</i>		Mixta	
	Fa	%	Fa	%	Fa	%	Fa	%	Fa	%
3	1	6.25	0	0	0	0	0	0	0	0
4	5	31.25	0	0	0	0	1	50	0	0
5	2	12.5	0	0	1	50	0	0	0	0
6	4	25	1	50	1	50	0	0	1	100
7	4	25	1	50	0	0	1	50	0	0
Total	16	100	2	100	2	100	2	100	1	100

mixta: *C. albicans*, *C. krusei* Fa: Frecuencia Absoluta

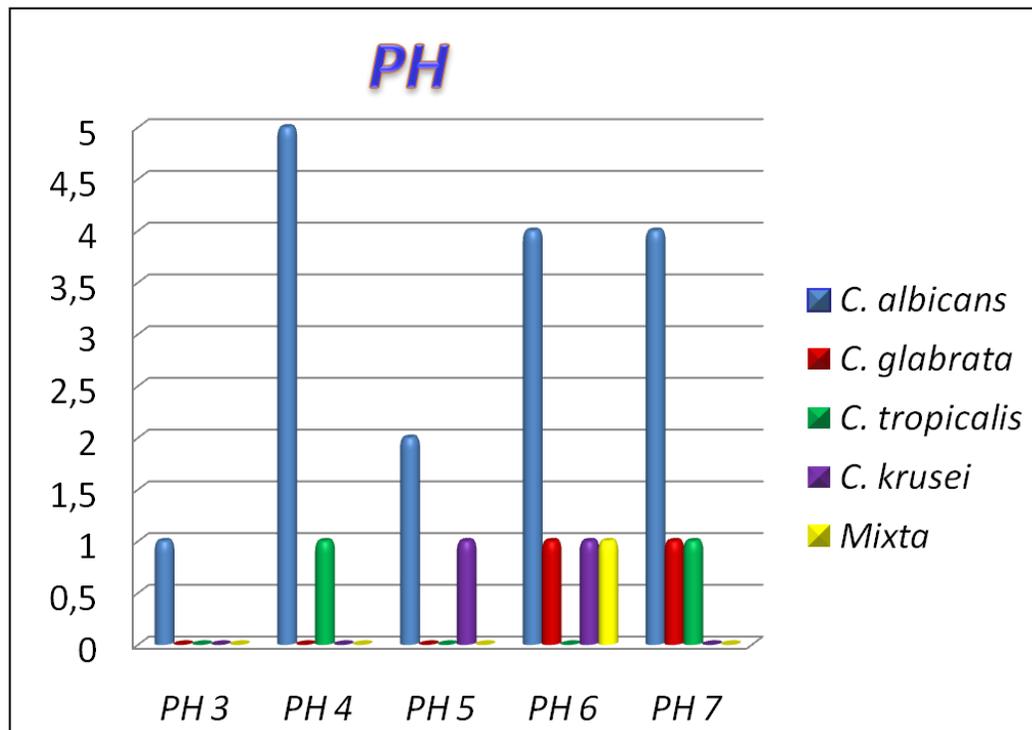


Gráfico N° 3: Representación absoluta y porcentual de parámetro pH de las secreciones vaginales con las especies de *Candida*.

Análisis: *C. albicans* estuvo presente en todas las escalas de pH. *C. glabrata* estuvo presente entre los pH 6-7, (casi ligeramente ácido y neutro). *C. krusei* entre 5-6 y *C. tropicalis* entre 4-7.

Tabla N° 4 Representación absoluta y porcentual del N° de leucocitos según especies de *Candida*.

Número de PMN (X campo)	<i>C. albicans</i>		<i>C. glabrata</i>		<i>C. tropicalis</i>		<i>C. krusei</i>		Mixta	
	Fa	%	Fa	%	Fa	%	Fa	%	Fa	%
0-3	10	62.5	2	100	1	50	0	0	1	100
4-9	5	31.25	0	0	1	50	2	100	0	0
≥10	1	6.25	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	16	100	2	100	2	100	2	100	1	100

Mixta: *C. albicans*, *C. krusei* Fa: Frecuencia absoluta

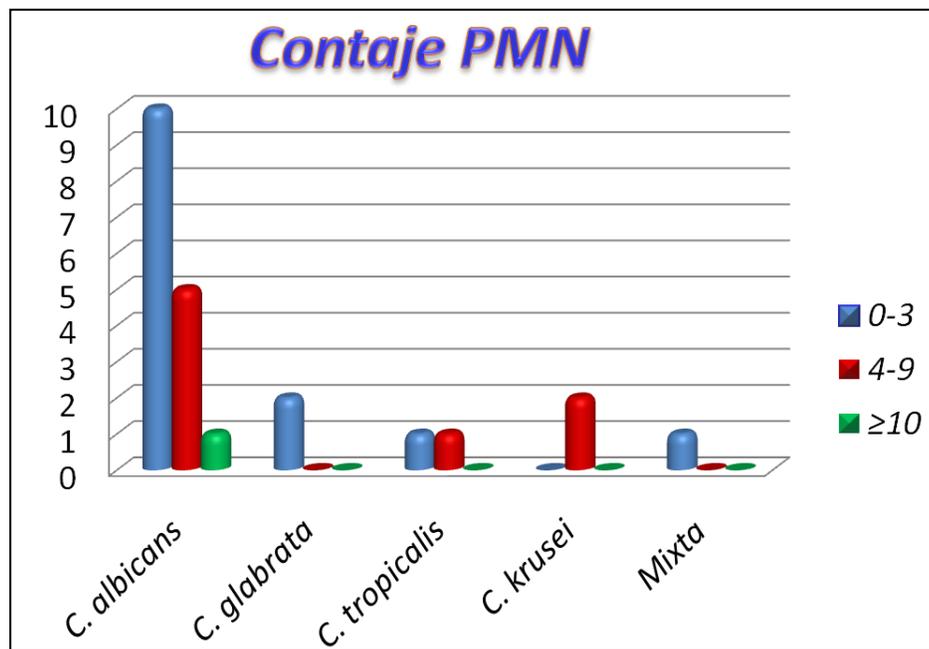


Gráfico N° 4: Representación absoluta y porcentual del N° de leucocitos según especies de *Candida*.

Análisis: En cuanto al número de leucocitos y su relación con las especies de *Candida*, se observó que en los campos microscópicos con presencia de blastosporas, no superó el conteo de más de 10 leucocitos, excepto en uno de los casos donde se superó este rango

Tabla N° 5 Representación absoluta y porcentual del síntoma clínico prurito con las especies del género *Candida* de las muestras de secreción vaginal.

Especies	Prurito				Fa.	%
	Presente	%	Ausente	%		
<i>C. albicans</i>	10	62.5	6	37.5	16	100
<i>C. glabrata</i>	1	50	1	50	2	100
<i>C. tropicalis</i>	2	100	0	0	2	100
<i>C. krusei</i>	2	100	0	0	2	100
Mixta	1	100	0	0	1	100

Mixta: *C. albicans*, *C. krusei* Fa: Frecuencia absoluta.

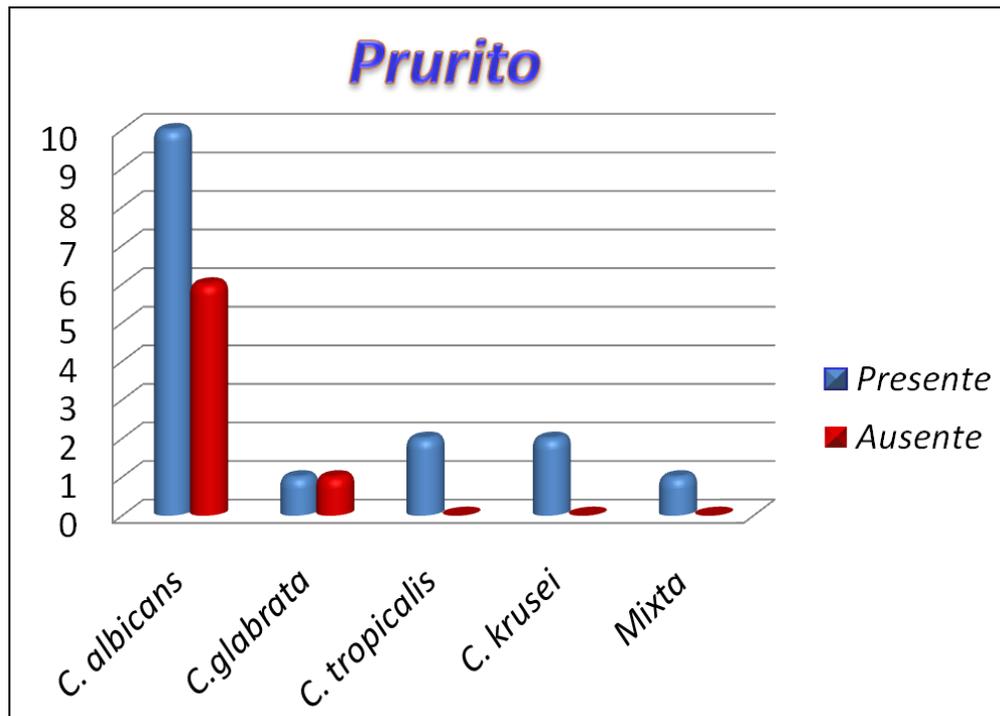


Gráfico N° 5: Representación absoluta y porcentual del síntoma clínico prurito con las especies del género *Candida* de las muestras de secreción vaginal.

Análisis: En los casos donde se demostró la presencia de la especie *C. glabrata* (2 casos) el 50 % de ellos estuvo presente el prurito. En los casos donde se aisló *C. krusei* se obtuvo el síntoma

prurito igual fue para *C. tropicalis* y *C. albicans* 62.5% de los casos estuvo relacionada con este síntoma.

Tabla N° 6 Representación absoluta y porcentual del síntoma clínico dispareunia con las especies del género *Candida* de las muestras de secreción vaginal.

Especies	Dispareunia				Fa.	%
	Presente	%	Ausente	%		
<i>C. albicans</i>	9	56.25	7	43.75	16	100
<i>C. glabrata</i>	2	100	0	0	2	100
<i>C. tropicalis</i>	2	100	0	0	2	100
<i>C. krusei</i>	1	50	1	50	2	100
Mixta	0	0	1	100	1	100

Mixta: *C. albicans*, *C. krusei* Fa: Frecuencia absoluta.

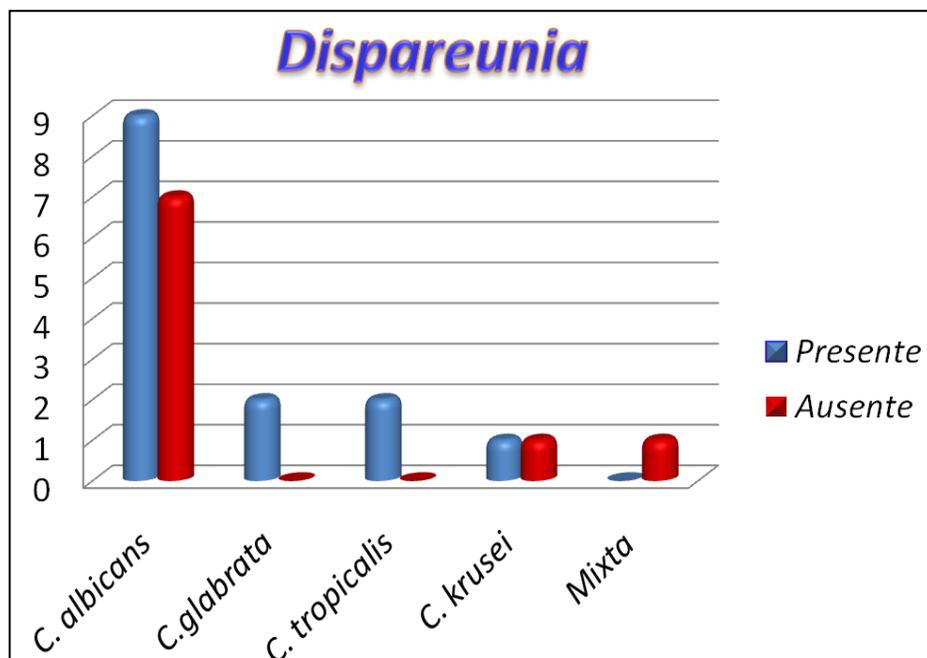


Gráfico N° 6: Representación absoluta y porcentual del síntoma clínico dispareunia con las especies del género *Candida* de las muestras de secreción vaginal.

Análisis: En lo que corresponde al síntoma dispareunia se observó que siempre estuvo presente cuando se aislaba las especies *C. glabrata* y *C.tropicalis*, para *C. albicans* solo se relacionaron un 56.25%, en *C. krusei* solo uno de los 2 casos se relacionaba con este síntoma.

Tabla N° 7 Representación absoluta y porcentual del síntoma clínico disuria con las especies del género *Candida* de las muestras de secreción vaginal.

Especies	Disuria				Fa.	%
	Presente	%	Ausente	%		
<i>C. albicans</i>	6	37.5	10	62.5	16	100
<i>C.glabrata</i>	0	0	2	100	2	100
<i>C. tropicalis</i>	2	100	0	0	2	100
<i>C. krusei</i>	1	50	1	50	2	100
Mixta	1	100	0	0	1	100

Mixta: *C.albicans*, *C. krusei* Fa: Frecuencia absoluta.

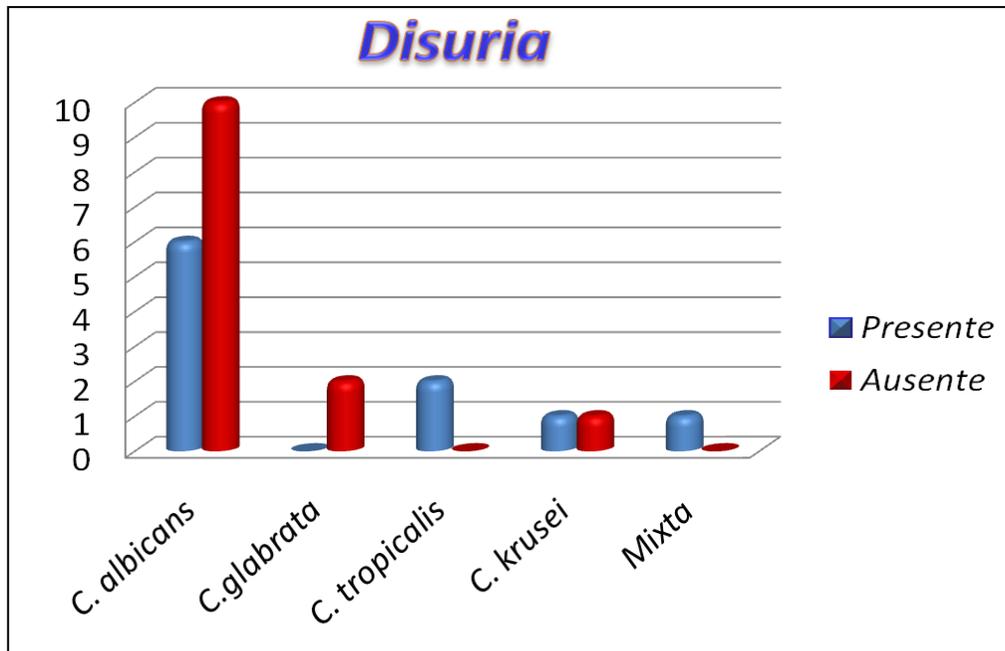


Gráfico N° 7: Representación absoluta y porcentual del síntoma clínico disuria con las especies del género *Candida* de las muestras de secreción vaginal.

Análisis: La especie de *C. glabrata* siempre estuvo ausente este síntoma, en el caso de *C. tropicalis* se obtuvo presencia en la totalidad de los casos que se relacionaban con el síntoma, para los casos de *C. albicans* la disuria se relaciono en un 37.5% y para *C. krusei* en la mitad de los casos para la presencia de disuria.

Tabla N° 8 Representación absoluta y porcentual del síntoma clínico ardor con las especies del género *Candida* de las muestras de secreción vaginal.

Especies	Ardor				Fa.	%
	Presente	%	Ausente	%		
<i>C. albicans</i>	9	56.25	7	43.75	16	100
<i>C. glabrata</i>	0	0	2	100	2	100
<i>C. tropicalis</i>	1	50	1	50	2	100
<i>C. krusei</i>	1	50	1	50	2	100
Mixta	0	0	1	100	1	100

Mixta: *C. albicans*, *C. krusei* Fa: Frecuencia absoluta.

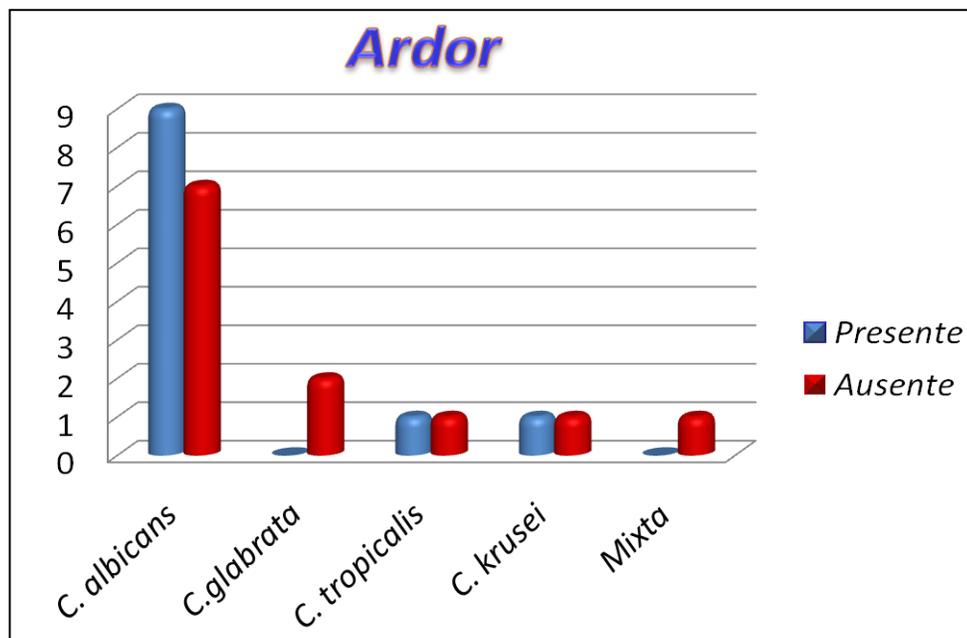


Gráfico N° 8: Representación absoluta y porcentual del síntoma clínico ardor con las especies del género *Candida* de las muestras de secreción vaginal.

Análisis: Respecto a la distribución del síntoma clínico ardor *C. albicans* estuvo presente en más del 50% cuando se relaciono con este síntoma. *C.tropicalis* y *C. krusei* mostraron igual distribución al respecto a su presencia asociada al ardor (50%). *C. glabrata* siempre estuvo ausente al relacionarla con este síntoma en las mujeres evaluadas.

Tabla N° 9 Representación absoluta y porcentual del grupo etario con las especies del género *Candida* de las muestras de secreción vaginal.

Grupo etario	<i>C.albicans</i>		<i>C. glabrata</i>		<i>C. krusei</i>		<i>C. tropicalis</i>		Mixta	
	Fa	%	Fa	%	Fa	%	Fa	%	Fa	%
15-29	8	50	1	50	1	50	0	0	1	100
30-44	7	43.75	1	50	1	50	2	100	0	0
45-60	1	6.25	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	16	100	2	100	2	100	2	100	1	100

Mixta: *C.albicans*, *C. krusei* Fa: Frecuencia absoluta.

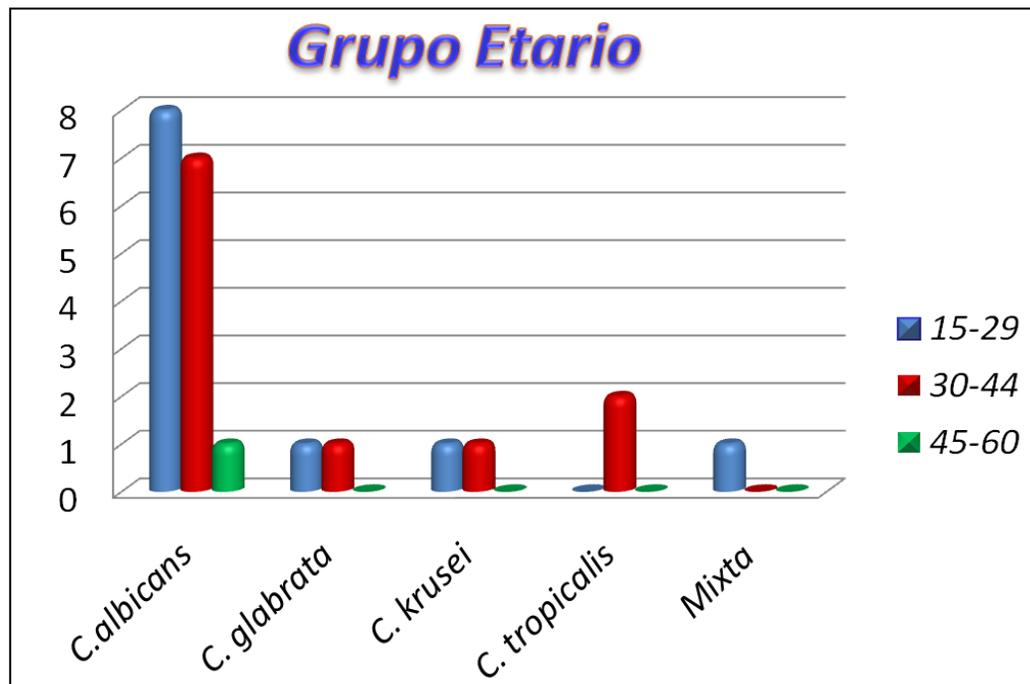


Gráfico N° 9: Representación absoluta y porcentual del grupo etario con las especies del género *Candida* de las muestras de secreción vaginal.

Análisis: La descripción con respecto a la edad mostró que el grupo de las evaluadas con edades comprendidas entre 15-44 años, la relación por género no fue vinculado con ninguna especie en particular y se observó que en el rango de 45-60 años de las edades evaluadas solo hubo un caso de *Candida albicans* en los cultivos.

Tabla N° 10 Representación absoluta y porcentual de la susceptibilidad “in vitro” a fluconazol según especies del género *Candida* de las muestras de secreción vaginal.

Especies	Antifungigrama a fluconazol			
	Casos	S	SDD	R
<i>C. albicans</i>	15	100	0	0
<i>C. glabrata</i>	2	50	50	0
<i>C. tropicalis</i>	2	0	100	0
<i>C. krusei</i>	2			100
Mixta	1	50		50

S: ≥ 19 mm, SDD: 15-18mm, R: ≤ 14 mm mixta: *C. albicans*, *C. krusei*

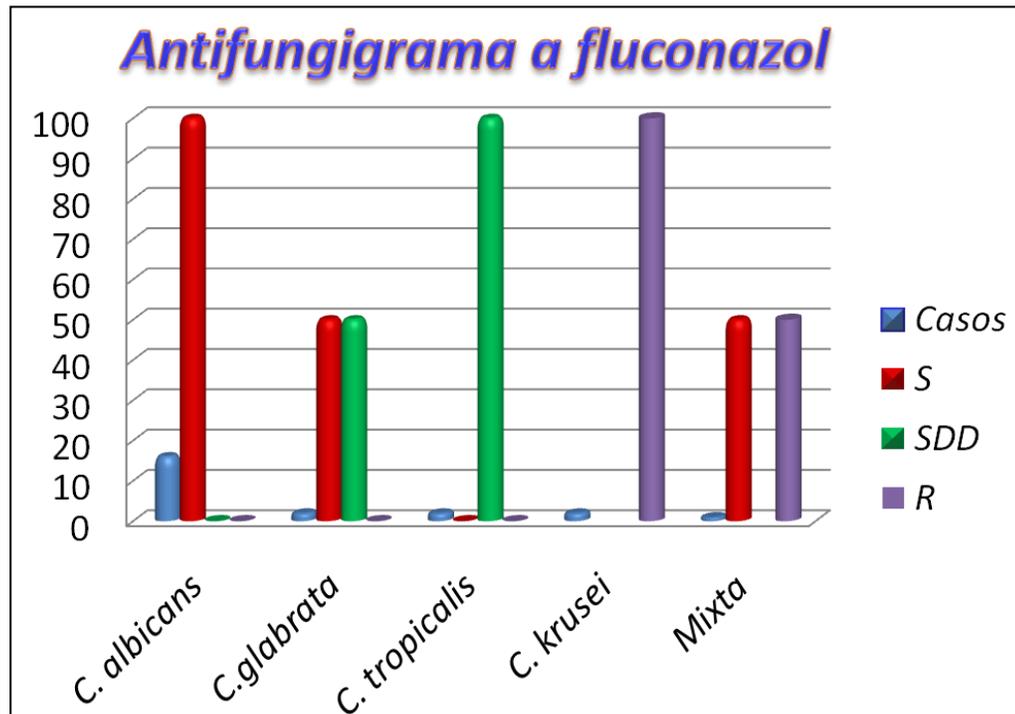


Gráfico N° 10: Representación absoluta y porcentual de la susceptibilidad *in vitro* a fluconazol según especies del género *Candida* de las muestras de secreción vaginal.

Análisis: Respecto a la respuesta de las levaduras frente al fluconazol se observó 100% de resistencia en la especie de *C. krusei*, todos los casos de *C. albicans* fueron sensibles frente a este azol. *C. tropicalis* se presentó en un 100% con respuesta al fluconazol sensible dosis dependiente. *C. glabrata* se mostró sensible en la mitad de los casos y en el restante 50% su susceptibilidad fue dosis dependiente.

DISCUSION

En el 27,06% de las muestras que presentaron aislamiento para levaduras, se reconoció un género único, *Candida*, en 22 de los 23 casos evaluados, se observó la presencia de una única levadura por paciente y en un solo caso se evidencio una asociación entre 2 especies del género. (*C.albicans* – *C.krusei*)

C.albicans fue la levadura responsable del 69.56% de las infecciones, seguida de *C.glabrata*, *C.tropicalis* y *C.krusei* con igual frecuencia todas (8.70%). La distribución según la frecuencia de las especies de las levaduras aisladas es similar a la referida por Buscemi y col 2004.

En los estudios consultados, la frecuencia de vulvovaginitis por *Candida* vario entre 15 y 30%, por lo tanto la incidencia observada en este estudio se encuentra dentro de este rango, al igual que otros autores (Cherubini y col 2003), aquí se comprobó que *C.albicans* (69,56%), fue la especie más frecuentemente aislada, seguida por *C.glabrata* (8.70%). La frecuencia de aislamiento de esta última especie resulta prácticamente dentro del rango 6 al 8%, referido en otros manuscritos. *Candida albicans* desarrolla factores de virulencia, cuando produce pseudohifas, consideradas como estructuras que incrementa la adherencia y penetración a los tejidos.

En el caso de *Candida glabrata* a pesar de que el conocimiento de los marcadores de virulencia en esta especie son escasos, algunas investigaciones han demostrado que produce proteinasas y que la hidrofobicidad de su superficie celular es similar a la de *C.albicans*, lo que asegura su capacidad de adherencia a las células del hospedero, contribuyendo al desarrollo de las infecciones por esta especie, como por ejemplo la disminución en los niveles de IgA secretora vaginal y una menos respuesta inflamatoria (Torres, 2005).

Sin embargo, otras especies (*C.tropicalis* y *C.krusei*) también han sido involucradas con los procesos de vulvovaginitis como los encontrados en este estudio, este hecho demuestra que es fundamental identificar las diferentes especies de levadura, aun cuando esta práctica no se realiza de rutina en muchos laboratorios, ya que generalmente cada una de éstas muestran resistencia variables a los antifúngicos azólicos (Reife, 1996). Igualmente, se observó un 4.34% de candidiasis mixta por *C.albicans* – *C.krusei*; esto fue posible gracias al empleo del medio cromógeno que resultó útil para demostrar infecciones mixtas.

Son numerosos los factores que influyen en el deterioro de la función inmunológica que se asocian a candidiasis en las mucosas oral, gastrointestinal y vaginal (Panizo, 2001) y pueden variar desde la deficiencia fisiológica de la inmunidad celular hasta el embarazo, uso de anticonceptivos, stress y aspectos nutricionales. Estos aspectos inmunológicos se deben correlacionar con los hallazgos epidemiológicos referidos a la variabilidad de la distribución de especies de *Candida* entre diferentes regiones.

Se ha determinado que la colonización e invasión de las especies de *Candida*, en especial *C.albicans*, está relacionada con la patogenicidad y virulencia de las cepas, así como de aspectos epidemiológicos, y en la patogénesis de candidiasis vaginal es multifactorial, y depende tanto de factores inherente al paciente como de características particulares de la cepa fúngica infectante (Cherubini, 2003)

Dentro de los signos clínicos evaluados la característica grumosa y secreción fétida resultaron estar presentes en más del 50% de los casos. Estas características así como el pH vaginal entre los valores de $4.0 \pm 0.7 - 7$ resultan parámetros asociados a vulvovaginitis por *Candida* (Pimentel 2007), sobre todo cuando existe variación en los mecanismos de regulación en el ecosistema vaginal normal a expensas de la acidogénesis (pH 3.8 - 4-5) depende este de estrógenos, producción de H_2O_2 por lactobacilos e interferencia bacteriana. (Panizo, 2002).

De las pacientes evaluadas el 100% presentó leucorrea, el 72.94% resultó con un agente etiológico negativo de origen fúngico.

En los casos de *Candida* de secreción fue blanca, cuajada y con olor a humedad, en el estudio microscópico se observó levaduras e hifas en gran aumento en las preparaciones con solución salina, KOH y Gram.

Los signos del proceso resultaron ser prurito, dispareunia y eritema de los genitales (Silva, 2002).

En estudios realizados por Geiger y Foxman (1996) y Azzam (2002), demostraron que el flujo vaginal, prurito vulvar y eritema de la mucosa vaginal, constituyen la sintomatología más frecuente en vulvovaginitis por *Candida spp*, coincidiendo con los resultados en este estudio.

La relación con las levaduras y los polimorfonucleares se reconoce en el flujo cérvico vaginal, como leucocitosis vaginal, cuando hay presencia de 9 o más polimorfonucleares en por campo microscópico observado en 40X.

Candida spp se asocia estadísticamente con leucocitos con recuento entre 10-12 x Campo. En este estudio esta frecuencia de recuento se observó en la especie *C. albicans*, en al menos un caso la presencia de pseudohifas y blastosconidias, en ese tipo de secreciones conforman juntos los elementos microscópicos que consolidan microbiológicamente la fase de patogenicidad activa de las levaduras.

En relación a la coloración de Gram la especie de *C.albicans* se mostró en forma de blastospora gemante, *C.tropicalis* evidenciaron células redondeadas únicas, con poca gemación y *C.glabrata* se observó con características ovoides, en cadenas y en gemación multilateral. *C.krusei* con predominio de conidios alargados.

Cuando se habla de resistencia a los antifúngicos suelen mezclarse dos conceptos diferentes; por un lado, la ausencia de una respuesta clínica a las dosis terapéuticas del fármaco y, por el otro, la presencia una concentración inhibitoria (o fungicida) mínima (CMI) elevada para el antifúngico. En el primer caso, la falta de respuesta terapéutica suele estar asociada al estado de inmunosupresión del enfermo o a una biodisponibilidad insuficiente del fármaco. En el segundo caso la resistencia puede ser primaria (innata) o bien secundaria (adquirida) al antifúngico

administrado. Los resultados de las CMI pueden variar según el método utilizado para su determinación. En la actualidad, la gran mayoría de los laboratorios utilizan referencia de antifungigrama la propuesta del CLSI en el documento M44-A que ofrece un método normatizado y unos valores de referencia para interpretar los resultados. La sensibilidad de *Candida albicans* a fluconazol sigue siendo buena, a diferencia de *C.glabrata* que por ser una levadura haploide, condiciona y favorece el desarrollo de resistencias secundarias

El fluconazol sigue siendo la droga de elección en casos de vaginitis por *Candida albicans*; pero no para algunos casos de vaginitis por especies no *albicans*, el hecho que estas especies están aumentando su frecuencia en esta patología y que el fluconazol sea ampliamente utilizado en estos casos podría ser la causa del fracaso terapéutico a repetición observado en esta entidad sobre todo teniendo en cuenta el uso de dosis únicas, que si bien pueden mejorar los síntomas no son capaces de producir una curación clínica (Panizo, 2002).

Es conocida la resistencia natural a fluconazol en *C. krusei*, tanto esta especie como la *C. glabrata* se asocian al uso generalizada de drogas azolicas, *C. albicans* presenta sensibilidad a fluconazol, mientras que *C. glabrata* puede adquirir resistencia a los azoles con o sin previa exposición a drogas. (Garcia, 2006). A pesar que todos los aislados de *C. albicans* fueron sensibles *in vitro* a fluconazol, esta desconocido el desarrollo de resistencia en esta especie. En nuestro caso media cepa de *C. glabrata* presento sensibilidad dosis dependiente.

Dado los porcentajes de susceptibilidad encontrados en este estudio para fluconazol en las cepas de *Candida* no *albicans*, su uso no sería aconsejable en presencia de tales agentes etiológicos, aunque aun puede ser útil en caso de *Candida albicans*. De lo anterior se deduce la importancia de conocer la especie de *Candida* involucrada en la candidiasis vaginal, a manera de seleccionar el esquema terapéutico más adecuado en cada caso.

CAPITULO V

CONCLUSIONES

- El 27.06% resulto positivo para vulvovaginitis por *Candida*, siendo *C. albicans* la más frecuente.
- La implantación del agar cromogénico para el cultivo de secreción vaginal es de utilidad para casos de infecciones mixtas por más de una especie de *Candida*.
- Los síntomas dispareunia y prurito resultaron los más frecuentes, sensación de quemazón y disuria fueron menos notorios en todas las muestras evaluadas.
- Todas las *C. albicans* resultaron sensibles a fluconazol, *C. glabrata* y *C. tropicalis* mostraron sensibilidad dosis dependiente a fluconazol y *C. krusei* fue resistente a fluconazol.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda añadir medios cromógenos en caso de que se observe la presencia de pseudohifas y blastoconidias en el examen microscópico directo.
- Evaluar mediante especuloscopia el canal vaginal para observar el tipo de leucorrea y el grado de inflamación de la vagina.
- Implementar la solicitud de estudio microbiológico de las secreciones vaginales y la realización del antifungigrama para el estudio de la sensibilidad, debido a la importancia terapéutica, ya que cada vez surge un mayor número de cepas resistentes a los antifúngicos.

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA.

ALLER, J. y PAGES, G. (1999). Obstetricia Moderna. 3era. Edición. Editorial McGraw Hill Interamericana. pp 426.

ACOG (American College of Obstetricians and Gynecologists) Vaginitis. 2006. Washington (DC): American College of Obstetricians and Gynecologists. (ACOG practice bulletin; no. 72).

ARENAS, R. (1993). Micología Médica Ilustrada. Nueva editorial Interamericana, S.A. México. pp 223-233.

AZZAM, M. y col. (2002). Vulvaginitis por *Candida spp* y *Trichomonas vaginalis* en mujeres sexualmente activas. Invest. Clin. 43(1): 3-13.

BALESTRINI, M. (2002). ¿Cómo se elabora el proyecto de investigación? Caracas: BL consultores y asociados servicio editorial.

BASTARDO. C. y col. (1996). Temas de Micología Médica. Editado por MSAS (Ministerio de Sanidad y Asistencia Social) Caracas. pp. 65-77

CASAS, G. (1994). Micología General. Universidad Central de Venezuela. Ediciones de la biblioteca de Caracas. pp. 241-249.

CHERUBINI, B y col. (2003). Candidiasis vaginal en mujeres sexualmente activas habitantes de una zona rural del Edo., Venezuela. Rev. Soc. Microbiología Vol 23 N°1.

CLSI (NCCLS) (Clinical Laboratory Standards Institute). (2004). Method for Antifungal disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeast: Approved Guideline M44-A. National Committee for Clinical Laboratory Standard, Wayne, Pa.

COWEN, L. y col. (2002). Evolución de la Resistencia Antibiótica de *Candida albicans*. Annual Review of Microbiology 56:139-165.

DE LA PARTE, M. y col. (2006). Identificación de especies de levaduras del género *Candida* provenientes de pacientes con vulvovaginitis. Academia Biomedical Digital. N° 27.

GARCÍA, M. y col. (2006). Prevalencia de candidiasis vaginal en embarazadas. Identificación de levaduras y sensibilidad a los antifúngicos. Rev. Arg. de Mic. 38: 9-12.

GARCÍA, M. y col. (1998). Identificación de Levaduras de Interés Clínico en el Medio de Cultivo CHROMagar *Candida*. Rev Iber Mic. 15: 131-135. 1998

GEIGER, A. y FOXMAN B. (1996). Risk factors for vulvovaginal candidiasis. Epidemiology; 7:182-187.

GOODE, M. y cols. (1994). Infectious Vaginitis. Selecting Therapy and Preventing Recurrence. (Abs.). Postgrad. Med. 96(6): 85-88, 91-98.

HUCCER, G. J. and H. J. Coon. 1923. Methods of Gram staining. Tech. Bull. N.Y. ST. Agric. Exp. 5^{ta}., 93:1-37.

JHONSON, E. and cols. (1984). *In Vitro* Resistant to Imidazole Antifungal in *Candida albicans*. J. Antimicrob. Chemother. 13: 547-558.

KERRIDGE, D. (1966). Mode of action in clicically important antifungal drug. Adv. Microb. Physiol. 27: 1-72.

KAUFMAN, E. y cols. (1994). Bening Disease of the Vulva and Vagina. 4th edi. Pp: 321-337.

KONEMAN, E. y cols. (1992) Diagnóstico Microbiológico. 3era edición. Editorial Panamericana. Pp: 909.

- LLOVERA V. (2004). Identificación de levaduras de exudados vaginales: características clínicas asociadas a la candidiasis. *Rev Cub de Med Tropical*; 56 (1):21-5.
- McGINNIS, M. (1980). *Laboratory Handbook of Medical Mycology*. New York-USA: Academic Press INC.
- MAHA, W. y col. (2002) Vulvovaginitis por *Candida* spp. y *Trichomonas vaginalis* en mujeres sexualmente activas. *Invest Clin* 43(1): 3-13.
- MARD, P. (1991). The Vaginal Ecosystem. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 165(4): 1163-1167
- MEDINA, R., y col. (1999) Prevalencia de vaginitis y vaginosis bacteriana en pacientes con flujo vaginal anormal en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza. *Rev Med Hered*, , vol.10, no.4, p.144-150.
- NYIR, J., y col. (1994) “Cronic Fungal vaginitis: the value of cultureres”. *Am. J. Obstet Gynecol.* 173 (3) part 1:820-823.
- ODDS, F. (1996). Resistance of Clinically Important Yeast to Antifungal Agents. *Inter. J. Antimicrob. Agent.* 6: 145-147.
- OMBRELLA, A. (2009). Factores de patogenicidad de *Candida albicans* provenientes de secreciones vaginales con PH mayor a 4,5. Pág. 2.
- OWEN, M. CLENNEY, T. (2008). Management of vaginitis. *Am Fam Physician* 70(11):2125-2140.
- PANIZO, M y REVIKINA, V. (2001). *Candida albicans* y su efecto patógeno sobre las mucosas. *Rev. Soc. Microbiol.* 21:38-45.
- PIMENTEL, B. y col. (2007) Candidiasis Vaginal. *Rev Paceaña Med Fam*; 4(6): 121-127.

PUMAROLA, A. (2005). Microbiología y Parasitología Médica. 2da edición. Masson, C.A. Pág. 779.

PLAZAS, D. (2008). Importancia del cultivo para búsqueda de *Candida* spp en secreción vaginal. Grupo de Investigación BIOINESMI, Departamento de Medicina Interna, Facultad Ciencias de la Salud. Universidad del Cauca.

PASTOR, F. (2005). “Actividad in vitro de las Equinocandinas. ¿Cómo Debe Evaluarse?.” Revista Iberoamericana de Micología. 22:133-140, 2005.

REIFE, C. (1996). Office gynecology for the primary care physician. Part I. Med. Clin. North Am. 80:299-319.

REX, J. y cols. (1995). Resistance of *Candida albican*. Especies to Fluconazole. . Antimicrob. Agent. Chemother. 39(1): 1-8.

RIVERO M. (2003). Frecuencia de especies de *Candida* aisladas en pacientes embarazadas con vulvovaginitis. Rev Soc Ven Microbiol Caracas. 23.

RODRÍGUEZ, G. (1996) Microbiología Médica. Vol. II Mc Graw Hill. Pág. 273.

ROMERO, H. (1999). Metodología de la investigación en salud. México: Mc Graw Hill.

RYAN, K. (2005) Microbiología Medica una introducción a las enfermedades infecciosas. 4ta edición. Editorial McGraw Hill Interamericana. Pág. 421-435

SALAS, N. y col. (2009). Prevalencia de microorganismos asociados a infecciones vaginales en 230 mujeres gestantes y no gestantes sintomáticas del Centro de Salud La Milagrosa en el Municipio Armenia (Colombia), Rev. Col. De Obst. y Gin. Vol. 60. Nº 2. 135-142.

SAN BLAS, G. (1991). Antibióticos Antifúngicos: Hacia la Búsqueda de antibióticos selectivos. Rev. Iberoam. Micol. 8: 24-34.

SANDUEV, P. (2000). Epidemiology of candidemia. Rev. Iberoam. Micol. 17:73-81.

SILVA, T. y col. (2002). Leucorrea como motivo de consulta en el Ambulatorio Urbano Tipo I de Tucani, Mérida, Venezuela. Rev. Facul. Farmacia Vol 43

SOBEL, J. (1990). Infecciones Vaginales en Adultas. Clin. Med. North Am. 74(6): 1637-1648.

SOBEL, J. (2007). Candidiasis vulvovaginal. Revista de Revistas. Lancet , 369: 1961-71.

TORRES, J. *Candida glabrata*: un patógeno emergente. Control de calidad SEMC. <http://seimc.org/control/revimico/cglabrata.htm> (accedido 01 febrero de 2011)

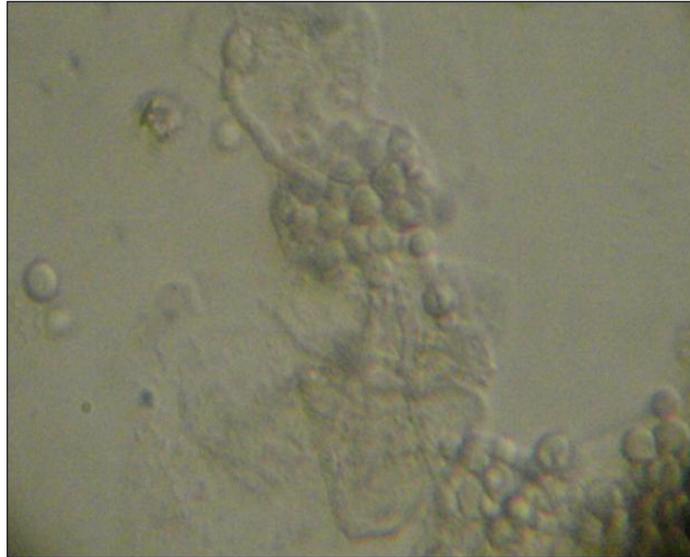
ANEXOS

Figura 1. Preparado microscópico directo muestra blastosporas aisladas y en acúmulos e hifas tortuosas, gruesas. Microscopia de iluminación contraste de fases x 400.

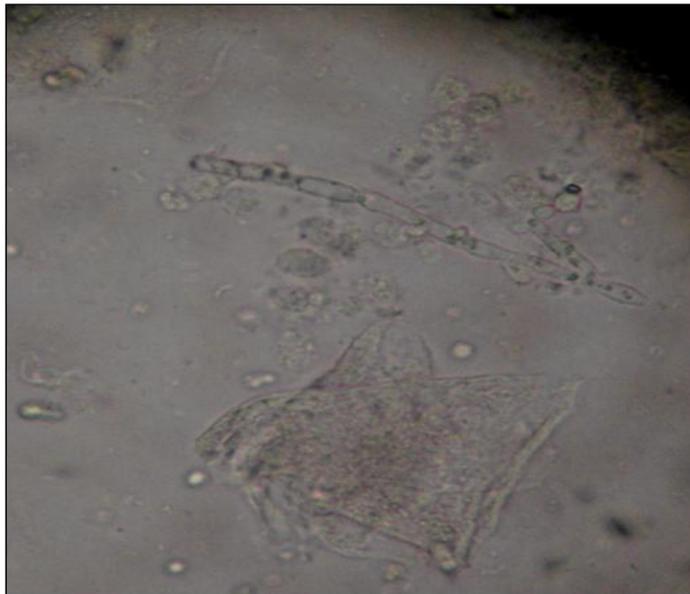


Figura 2. Hifas largas tortuosas, blastosporas y células del epitelio vaginal x 400.



Figura 3. Muestra hifa ramificada con blastocónidios producidos en los verticilos de los tabiques, preparado en KOH 10% y azul de metileno x 400.

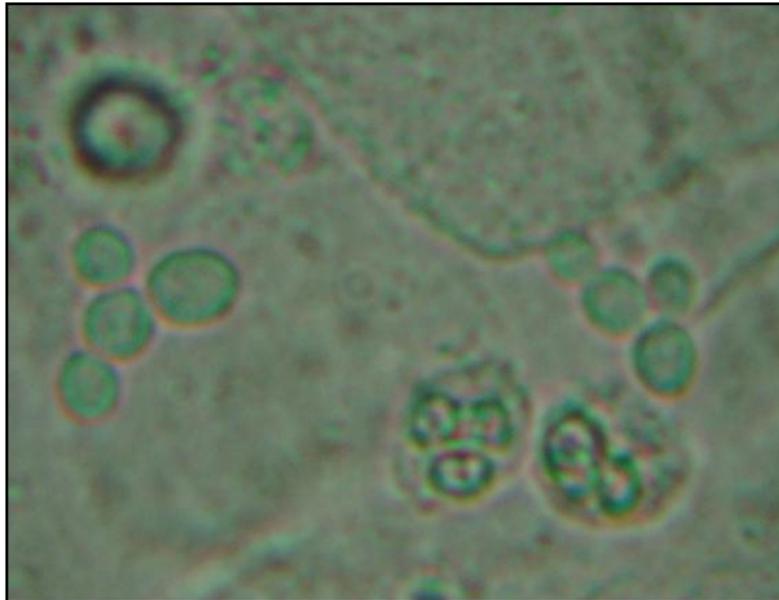


Figura 4. Células del epitelio vaginal, leucocitos polimorfos y blastosporas x 400.



Figura 6. Coloración de Gram, obsérvese la presencia de blastosporas en cadenas, ovoides, con gemación multilateral de *Candida glabrata* adheridas a la célula del epitelio vaginal.

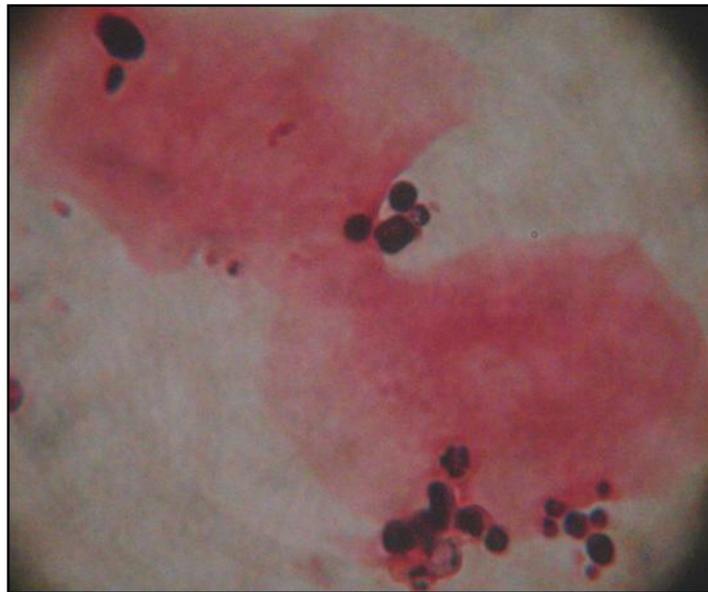


Figura 7. Tinción de Gram, frotis vaginal muestra blastosporas gemantes de *Candida albicans* adheridas sobre la superficie del epitelio vaginal. (aceite 100x)

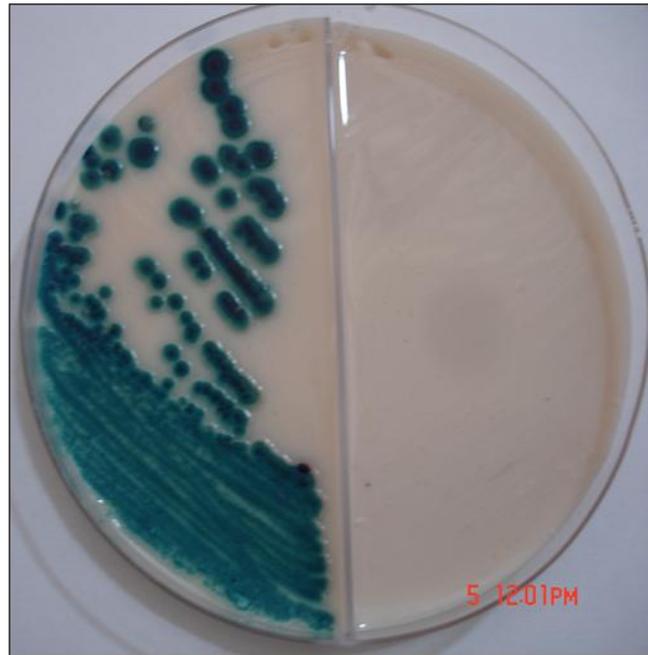


Figura 7. *Candida tropicalis* en agar Chromogenico



Figura 8. *Candida albicans* en agar Chromogenico

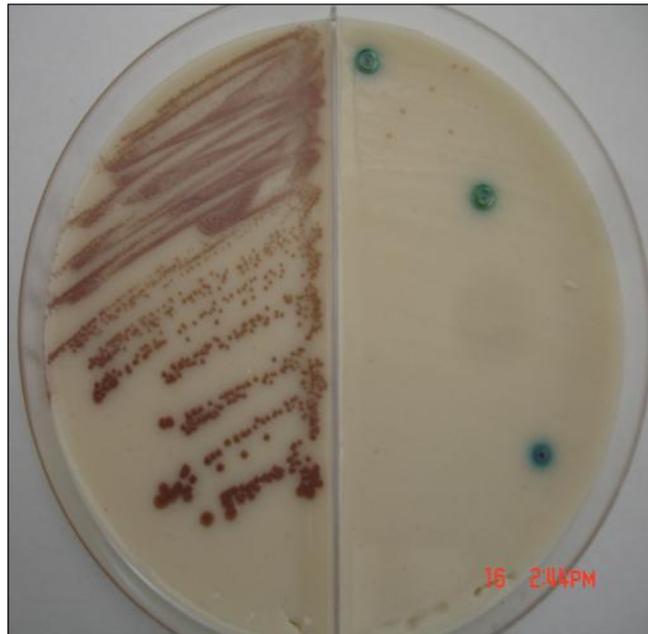


Figura 9. *Candida glabrata* en agar Chromogenico

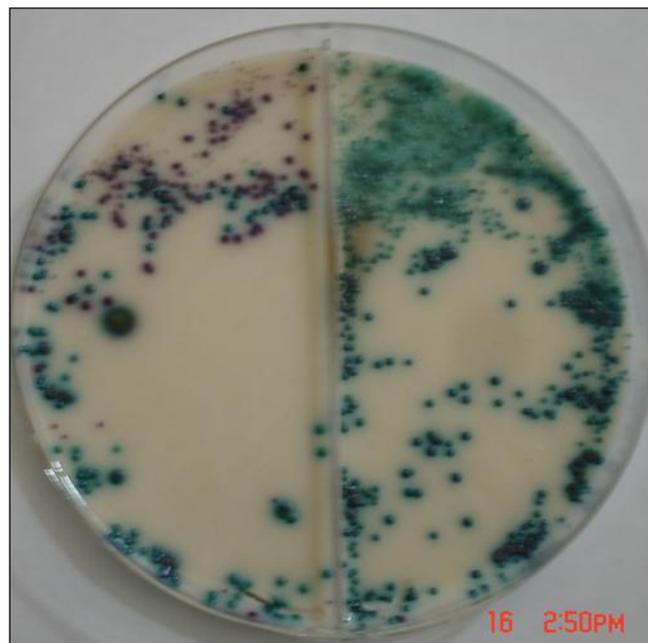


Figura 10. A la izquierda se observa colonias de *Candida albicans* y *Candida krusei*. A la derecha crecimiento puro de *Candida albicans* en agar Cromogenico

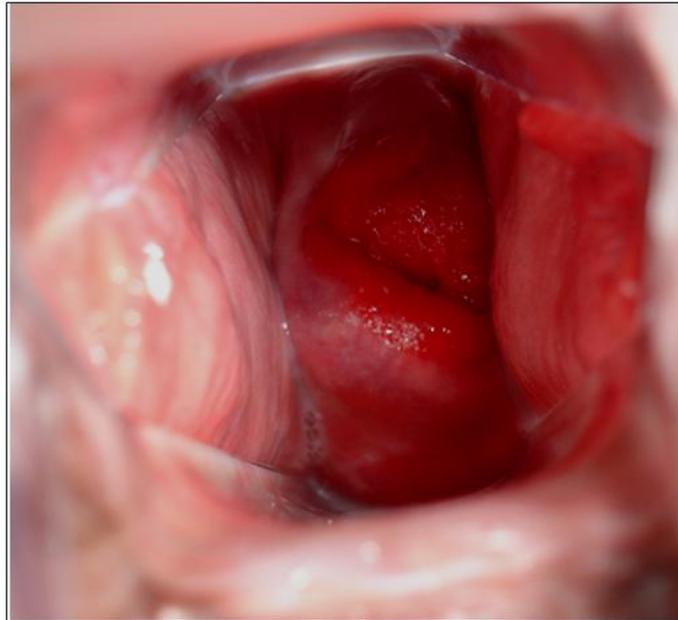


Figura 11. Exocervix eritematoso, en zona de transformación con capa blanquecina en pared vaginal y resto del cuello, asociado a *C. albicans*

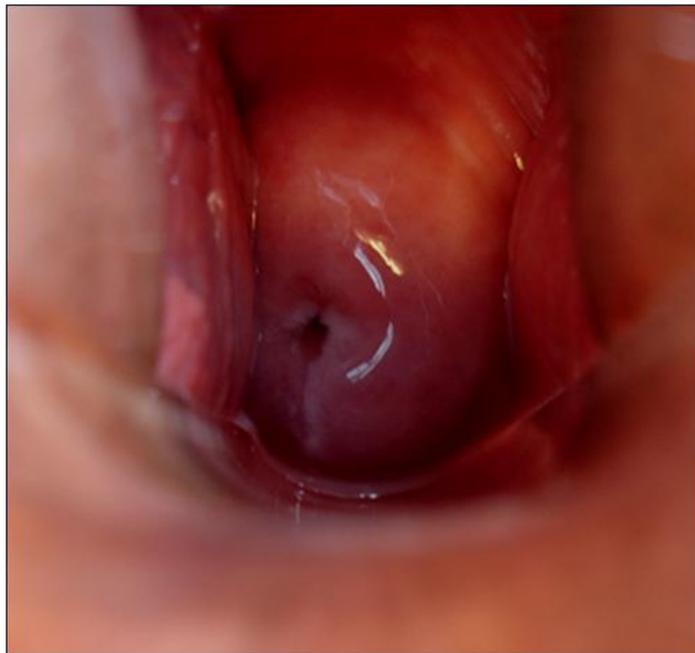


Figura 12. Exocervix eritematosa, con descarga de secreción blanquecina por *Candida glabrata*

APENDICES N°1 CONSENTIMIENTO INFORMADO

En el laboratorio del Grupo de Investigación de Micología (GIM), del estado Anzoátegui, se está realizando el proyecto de investigación titulado “Identificación de especies de *Candida* causantes de vulvovaginitis y su susceptibilidad *in Vitro*”, con el objeto de valorar la susceptibilidades *in vitro* de las cepas de levaduras aisladas de muestras de secreción vaginal de pacientes que acuden a la consulta de ginecología y obstetricia, frente a antifúngicos como fluconazol. Este estudio ayudará al conocimiento y descripción de la epidemiología de las especies de levaduras.

Yo, _____ C.I: _____ de nacionalidad _____, estado civil _____, domiciliado en: _____,

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

1.- Haber sido informado de manera objetiva, clara y sencilla, por parte del grupo de investigadores), del Grupo de Investigación de Micología (GIM), de todos los aspectos relacionados al proyecto de investigación titulado: “Identificación de especies de *Candida* causantes de vulvovaginitis y su susceptibilidad *in Vitro*”.

2.- Tener conocimiento claro de que los objetivos del trabajo antes señalado son: “Identificación de especies de *Candida* causantes de vulvovaginitis y su susceptibilidad *in Vitro* en pacientes que acuden a la consulta de Ginecología y Obstetricia.

3.- Conocer bien las opciones del protocolo experimental, expuesto por el investigador, en el cual se establece que mi participación en el trabajo consiste en donar muestras de secreción vaginal.

4.- Que la (s) muestra (s) biológica que acepto donar, así como la información que suministre al equipo de investigadores del GIM-Anzoátegui será utilizada única y exclusivamente para lograr los objetivos planteados en esta investigación, garantizando la confidencialidad relacionada tanto de mi identidad, como de cualquier información relativa a mi persona, a la cual tengan acceso por concepto de mi participación en el proyecto antes mencionado.

5.- Que me han indicado que mi participación (o la de mi representado legal) en dicho estudio no implica riesgo alguno para mi salud.

6.- Se me ha informado, que cualquier inquietud que tenga en relación con este estudio, será atendido oportunamente por parte del equipo de investigadores, pudiéndome comunicar por el teléfono 0281-2623316 al 17, con el Dr. Jorge Sánchez (Médico Microbiólogo) o en su defecto con la MsC. Druvic Lemus Espinoza.

7.- Entiendo que los resultados de las pruebas serán entregadas oportunamente.

8.- Que bajo ningún concepto yo podré restringir el uso, para fines académicos, de los resultados obtenidos en el presente estudio.

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

Declaración del Voluntario:

Luego de haber leído, comprendido y recibido las respuestas a mis preguntas con respecto a este formato de consentimiento y por cuanto mi participación en este estudio es totalmente voluntaria acuerdo:

- 1.- Aceptar las condiciones estipuladas en el mismo y a la vez autorizar al equipo de investigadores del Grupo de Investigación de Micología (GIM), del estado Anzoátegui, a realizar el referido estudio.
- 2.- Reservarme el derecho de revocar esta autorización y donación secreciones vaginales, en cualquier momento, sin que ello conlleve algún tipo de consecuencia negativa para mi persona.

Firma del Voluntario: _____ Firma del Investigador: _____
 Nombre y Apellido: _____ Nombre y Apellido: _____
 C.I.: _____ C.I.: _____
 Lugar y Fecha: _____ Lugar y Fecha: _____

Declaración del Investigador:

Luego de haber explicado detalladamente al voluntario (y a su representante legal, si lo tuviere) la naturaleza del protocolo mencionado, certifico mediante la presente que, a mi leal saber, la persona que firma este formulario de consentimiento comprende la naturaleza, requerimientos, riesgos y beneficios de la participación en este estudio. Ningún problema de índole médica, de idioma o de instrucción han impedido al paciente tener una clara comprensión de su compromiso con este estudio.

Por el Grupo de Investigación de Micología (GIM,): _____
 Lugar y Fecha: _____

APENDICE N°2 RECOLECCIÓN DE DATOS

Fecha: / / .

N°:

Nombre y Apellido:

Edad:

C.I.:

ANTECEDENTES PERSONALES

Tratamiento con antibióticos: si ____ no ____ Nombre del antibiótico: _____ tiempo de exposición al fármaco: _____.

Glicemia: _____

Uso de DIU: si ____ no ____

Anticonceptivos orales: si ____ no ____

Uso de Inmunosupresores: si ____ no ____ cual: _____

Colocación de Ducha vaginales: si ____ no ____

SINTOMAS CLINICOS

Leucorrea: si ____ no ____ descripción: _____

Prurito: si ____ no ____

Sensación de quemadura: si ____ no ____

Dispareunia: si ____ no ____

Disuria: si ____ no ____

Paredes vaginales inflamadas: si ____ no ____

Ph: _____

