

**REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE “RAFAEL RANGEL”
GERENCIA DE DOCENCIA E INVESTIGACIÓN
COORDINACIÓN DE POSTGRADO
ESPECIALIZACIÓN EN MICOLOGÍA MÉDICA**

**CANDIDIASIS VULVOVAGINAL EN PACIENTES AMBULATORIAS:
FRECUENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIFUNGICOS**

**AUTORA: OLGA BONILLA
TUTORA: VERA REVIKINA**

CARACAS, NOVIEMBRE 2012.

**República Bolivariana de Venezuela
Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”
Gerencia de Docencia e Investigación
Coordinación de Postgrado
Especialización en Micología Médica**

**CANDIDIASIS VULVOVAGINAL EN PACIENTES AMBULATORIAS:
FRECUENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIFUNGICOS**

**TRABAJO ESPECIAL DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARA
LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE ESPECIALISTA EN
MICOLOGÍA MÉDICA**

**AUTORA: OLGA BONILLA
TUTORA: VERA REVIKINA**

CARACAS, NOVIEMBRE 2012

CONSTANCIA

En mi carácter de Tutor del Trabajo Especial de Grado titulado **“Candidiasis vulvovaginal en pacientes ambulatorias: frecuencia y susceptibilidad a los antifúngicos”**, presentado por la ciudadana Olga Bonilla, para optar al Grado de Especialista en Micología Médica, considero que dicho trabajo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser evaluado por parte del jurado examinador que se designe.

En la ciudad de Caracas, a los 8 días del mes de octubre de 2012.

Vera Reviakina
C.I. 13.225.771

**República Bolivariana de Venezuela
Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"
Gerencia de Docencia e Investigación
Coordinación de Postgrado
Especialización en Micología Médica**

**CANDIDIASIS VULVOVAGINAL EN PACIENTES AMBULATORIAS:
FRECUENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIFUNGICOS**

Autora: Olga Bonilla

**TRABAJO ESPECIAL DE GRADO PRESENTADO COMO
REQUISITO PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE
ESPECIALISTA EN MICOLOGÍA MÉDICA**

Noviembre, 2012

APROBADO:

Mireya Mendoza

María L. Omaña

Vera Reviakina

ACEPTADO:

Gladys González

AGRADECIMIENTOS

A mis Docentes del postgrado de Especialización en Micología Médica, por transmitirnos sus conocimientos con paciencia y sabiduría.

A Dra. Vera Reviakina, por su apoyo y paciencia para lograr esta investigación.

A la Jefatura del laboratorio de la clínica El Ávila, por permitirme realizar este estudio y así lograr esta meta.

A mis compañeros y amigos del trabajo quienes comparten conmigo esta profesión y formaron parte en la realización de esta investigación.

A todas las personas involucradas de forma directa e indirecta en la realización de estudio.

DEDICATORIA

A Dios por permitirme culminar otra meta y conocer a estas personas que se dedican a transmitir sus conocimientos, con el fin de motivar a otras a desarrollar su potencia.

A mi tutora la Dra. Vera Reviakina, por su tiempo, dedicación y apoyo.

A mis compañeros del postgrado quienes permanecerán en mis recuerdos y de los cuales también he aprendido.

A mis padres Martha Echeverri y Luis Bonilla quienes siempre me han dado su apoyo para cumplir mis sueños, y son parte de mi impulso y motivación.

A mis compañeras de trabajo, especialmente mis amigas **Annakarina Cisnero y Jhenyfer Cote**, quienes siempre me han apoyado.

ÍNDICE GENERAL

	Página
Título, Autor, Tutor	i
Constancia de aprobación del tutor	ii
Aprobación por jurado	iii
Agradecimiento	iv
Dedicatoria	v
Índice General	vi
Índice de Tablas	vii
Índice de Figuras	viii
Resumen	ix
Summary	x
Introducción	1
Marco Teórico	3
Objetivos: General y Específicos	13
Metodología	14
Pacientes y muestras	14
Instrumentos y procedimiento	15
Análisis Estadístico	15
Limitaciones del estudio	
Resultados	18
Discusión de Resultados	39
Conclusiones	49
Recomendaciones	50
Referencias Bibliográficas	51

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas	
Tabla 1	Distribución de especies de Candida aisladas en las secreciones vaginales.	25
Tabla 2	a) Rango, moda, media geométrica, MIC50, MIC 90, de fluconazol y anfotericina B.	
Tabla 2	b) Perfil de susceptibilidad a fluconazol en secreciones vaginales de pacientes ambulatorias clínica el Avila enero 2011 – abril 2012.	26
Tabla 3	Distribución por grupo etario de las pacientes ambulatorias clínica Avila enero 2011- abril 2012 de acuerdo a la ubicación del servicio y resultado del examen directo.	27
Tabla 4	Distribución de la morfología fúngica y especie involucrada en la CVV.	28
Tabla 5	Distribución del diagnóstico clínico de acuerdo a la ubicación del servicio.	29

República Bolivariana de Venezuela
Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"
Gerencia de Docencia e Investigación
Coordinación de Postgrado
Especialización en Micología Médica

**CANDIDIASIS VULVOVAGINAL EN PACIENTES AMBULATORIAS:
FRECUENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIFUNGICOS**

Autora: Olga Bonilla. 2012

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue conocer la frecuencia y susceptibilidad a los antifúngicos de las especies de *Candida spp* aisladas en pacientes con candidiasis vulvovaginal (CVV) provenientes de la clínica El Ávila en el período enero 2011- abril 2012. Se realizó un estudio retrospectivo, de corte transversal y descriptivo de los archivos electrónicos y físicos de las muestras de secreciones vaginales. La evaluación estadística se realizó mediante medidas de tendencia central, para los antifúngicos fluconazol y anfotericina B se calcularon: MG, MODA, CMI50 Y CMI90. De 2273 secreciones vaginales 79 fueron positivas para *Candida spp*: 69 (87,3%) *C. albicans*, 5 (6%) *C. glabrata*, 3 (4%) *C. parapsilosis* y 2 (3%) *C. tropicalis*. Todas las cepas de *Candida spp* aisladas fueron sensibles a voriconazol y anfotericina B. Se detectaron 1 (1,5%) *C. albicans* resistente a fluconazol; 5 (100%) *C glabrata*, 1 (1,5%) *C.albicans* y 1 (1,5%) *C. parapsilosis* se encontraron en el rango susceptible dosis dependiente (SDD). Se observó 60% de concordancia del examen directo con el cultivo, facilitando el diagnóstico micológico y se evidenció baja sospecha del diagnóstico clínico de CVV en todas las consultas, Se concluye que *C. albicans* es el agente principal de CVV, Observándose patrones de resistencia a fluconazol.

Palabras Claves: Candidiasis vulvovaginal, Epidemiología, Susceptibilidad antifúngica.

**República Bolivariana de Venezuela
Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”
Gerencia de Docencia e Investigación
Coordinación de Postgrado
Especialización en Micología Médica**

**VULVOVAGINAL CANDIDIASIS IN AMBULATORY PATIENTS:
ANTIFUNGAL FREQUENCY AND SUSCEPTIBILIDAD**

Author: Olga Bonilla. 2012.

SUMMARY

The purpose of this research was to know the *Candida spp* frequency and susceptibility to antifungals in patients diagnosed with vulvovaginal candidiasis (VVC) coming from El Ávila clinic during the period between January 2011-April 2012. A retrospective study of a transversal and descriptive cut was conducted for all existing electronic and physical files on vaginal discharge isolates. Statistical evaluation was achieved using central measures. fluconazole and amphotericin B statical calculations considered: MG, MODA, MIC50 and MIC90. Out of 2,273 vaginal discharge isolates, 79 were tested positive for *Candida spp*: 69 *C. albicans* (87.3%), 5 *C. glabrata*, (6%) 3 *C. parapsilosis*, (4%) and 2 *C. tropicalis* (3%). All isolated *Candida spp* strains were sensitive to voriconazole and amphotericin B. 1 *C. albicans* isolate (1.5%) was found resistant to fluconazole drug; 5 *C. glabrata* isolates (100%), 1 *C. albicans* (1.5%) and 1 *C. parapsilosis* isolate (1.5%) were found within the susceptibility – dose dependent range (SDD). susceptible. 60% of concordance was observed between direct testing and cultures, facilitating mycological diagnosis and evidenced low suspicion for clinical diagnosed VVC for all medical appointments registered. It is concluded that *C. albicans* is the main agent of VVC, Observing resistance patterns to fluconazole.

Key words: Vulvovaginal Candidiasis, Epidemiology, antifungal susceptibility.

INTRODUCCION

La candidiasis vulvovaginal (CVV) es una micosis que pertenece a las formas clínicas mucocutáneas, de distribución mundial producida por levaduras del género *Candida*, hongo que forma parte de la microbiota habitual de la vagina hasta en el 25% de mujeres sanas. CVV ocurre cuando hay crecimiento desmedido de esta levadura, permitiendo su multiplicación, debido a la existencia de factores multifactoriales endógenos o exógenos que logran alterar el equilibrio existente entre el hospedero y el comensal [1-8].

La CVV afecta particularmente a las mujeres en la edad reproductiva, siendo una causa frecuente de consulta ginecológica. Se estima que alrededor de un 75% de las mujeres sexualmente activas sufren de CVV al menos una vez en la vida y entre el 5 a 10% de ellas padecen en forma recurrente [9]. Algunos autores aseguran que en países como Estados Unidos, México y Colombia, la CVV es la segunda causa más común de infección vaginal, principalmente en mujeres entre los 20 y los 40 años, mientras que en Europa es la primera causa [1,3,10-14]. En los últimos años, el tratamiento profiláctico de infecciones oportunistas con fluconazol llevó a la selección de *C. no albicans*, generando interés por conocer la prevalencia y el patrón de resistencia de estas cepas, involucradas en CVV [7,15-18].

Trabajos de investigación sostienen que los síntomas y características de la leucorrea no son buenos predictores de la CVV, concordando en la necesidad de realizar estudios microbiológicos que permitan conocer el agente causal de la infección. La ausencia del diagnóstico microbiológico ocasionaría el desconocimiento de otras entidades, como la vaginosis citolítica, la cual se manifiesta con una sintomatología similar a la CVV, vaginosis bacteriana y vaginitis específicas [6,28].

La candidiasis vulvovaginal se ha reportado entre las primeras causas de infección vaginal en Venezuela. Paradójicamente, no hay datos fidedignos de su prevalencia, debido principalmente a que no es de denuncia obligatoria, y no se realiza el diagnóstico micológico de rutina [16]. El presente trabajo se realizó en el laboratorio de microbiología de la clínica El Avila donde anualmente se reciben entre 1200 y 1614 muestras de secreciones vaginales provenientes de diferentes servicios, entre ellos de dos unidades de fertilidad humana, permitiendo por primera vez conocer en esta institución la frecuencia y el comportamiento de los patrones de susceptibilidad de *Candida* spp, como agente infeccioso a nivel de tracto vaginal de las pacientes ambulatorias, además de contribuir con la evaluación de las pruebas micológicas, llevadas a cabo para el diagnóstico de CVV en este centro de salud y la posible incorporación de otras.

MARCO TEORICO

La candidiasis vulvovaginal (CVV) se define cuando hay signos y síntomas de inflamación de la vulva y vagina debido al crecimiento excesivo e invasión a tejido por *Candida* spp en ausencia de otra etiología. La sintomatología está correlacionada con una alta carga del hongo (levaduras) en vagina. Esta micosis pertenece a las formas clínicas mucocutánea y suele ser muy común. Cuando no existe inmunosupresión o daño de la mucosa, y usualmente no está asociado con ningún signo de enfermedad, está referida como colonización y no como infección [1,2,10,32].

Clasificación

La candidiasis vulvovaginal puede clasificarse en casos complicados y no complicados. Los casos no complicados se caracterizan por eventos esporádicos o infrecuentes y puede ser una enfermedad leve a moderada causada por *Candida albicans* en mujeres inmunocompetentes. La vulvovaginitis complicada incluyen los casos de CVV con manifestaciones severas causadas por *C. no albicans*, asociadas con el embarazo, o por otras condiciones como diabetes mellitus no controlada u otras inmunosupresiones.

La candidiasis vulvovaginal recurrente (CVVR) se define como la verificación sintomática de 4 o más episodios de candidiasis vulvovaginal durante un año. No es considerada una infección crónica, pero si es una enfermedad con episodios recurrentes y de allí su nombre. La causa de estas

recurrencias son desconocidas en la mayoría de las mujeres que la padecen. Las terapias antifúngicas por largo tiempo, son requeridas para el control de esta etiología, observándose tasas de recurrencia de un 40 a un 50% después del cese de la terapia antifúngica [1,32].

Síntomas y signos clínicos

Entre los síntomas y signos más frecuentes de la vulvovaginitis por *Candida* se encuentran: inflamación vulvar y vaginal, presencia de un exudado blanquecino con grumos adherente a la mucosa, el olor de la leucorrea candidiásica no es característico, existe ardor, prurito, disuria, dispareunia, el pH vaginal se mantiene en 4,0-4,5. En la exploración médica, el cuello uterino es normal y al eritema de la mucosa vaginal se suma una secreción blanquecina adherente. De forma bastante típica, los síntomas se exacerban la semana anterior a la menstruación y durante el embarazo [1,2,10,22].

Factores de riesgo predisponentes:

- Susceptibilidad genética: se ha informado de diferencias genéticas en la respuesta inmune al microorganismo. Algunos estudios han encontrado un incremento en la incidencia de CVV en mujeres afroamericanas comparadas con mujeres blancas americanas. Además de encontrar incremento en la incidencia del fenotipo no secretor de grupos sanguíneos ABO-Lewis en mujeres con CVVR comparado con un grupo control [22,32].

- Embarazo: el incremento de las concentraciones de estrógeno permite el aumento del contenido de glucógeno en la vagina, lo cual proporciona una fuente de carbono a la *Candida*. El estrógeno también ayuda a la adherencia de esta levadura a las células del epitelio vaginal, lo cual permite la invasión al tejido vaginal [9-11,22,28,32,33].
- Anticonceptivos: el uso de anticonceptivos orales con alta dosis de estrógeno favorecen la incidencia de *Candida*. Esto debido al aumento de glucógeno en la vagina. Sin embargo, se ha demostrado que los anticonceptivos de bajas dosis, no suele dar este efecto [10,22,32].
- Diabetes mellitus: a pesar de que la diabetes no bien controlada predispone a la vaginitis sintomática, no es más frecuente la candidiasis en las diabéticas con buen control metabólico. Se ha observado que la CVV es más frecuente en mujeres diabéticas, que en las no diabéticas de edades semejantes [10,32].
- Antibioticoterapia: la CVV por lo general aparece después del uso de antibióticos vaginales o sistémicos, esto es debido a la erradicación o disminución de los *Lactobacillus*, microorganismos que forman en gran proporción, parte de la microbiota habitual de vagina. Estos bacilos Gram positivos actúan como barrera frente a *Candida* por tres mecanismos: produce bacteriocinas que impiden la germinación de los micelios, bloqueando los receptores epiteliales para las blastoporas, y compitiendo con *Candida* por los nutrientes. La frecuencia estimada

con la que se produce infección vulvovaginal, tras la toma de antibióticos es entre 28-33% [10,22,32].

- Comportamiento sexual: Puede ocurrir transmisión sexual de *Candida* durante el coito, y existe evidencia que sugiere que la frecuencia de las relaciones sexuales, pueden estar relacionadas con la vaginitis aguda. La evidencia sugiere que puede existir transmisión por el contacto ano-genital y, sobre todo oro-genital.
- Uso de ropa interior sintética: existen trabajos donde sugieren que el uso de este tipo de tejido puede permitir la proliferación de esta levadura [10,11,22,32,34].
- Uso de productos de limpieza íntima, que pueden modificar el pH de la vagina, favoreciendo la proliferación de *Candida*.
- Las alergias por contacto y locales, pueden de igual forma alterar el medio vaginal, facilitando la vaginitis sintomática.
- El uso de terapias con esteroides, quimioterapias, entre otros.

Estos episodios de CVV pueden estar ocasionados por:

- 1- Reservorio gastrointestinal: A pesar de que el intestino grueso puede ser la fuente inicial de la colonización por *Candida*, existe cierta controversia acerca del papel que juega el tracto intestinal como fuente de re- infección en mujeres con CVVR.
- 2- Transmisión sexual: la colonización asintomática de los genitales masculinos de los compañeros sexuales de mujeres infectadas es

4 veces más frecuentes que aquellos de mujeres no infectadas. Las parejas infectadas frecuentemente tienen las mismas cepas [1,8,11,35].

Epidemiología:

La vulvovaginitis puede ser de origen infeccioso y no infeccioso. Alrededor del 90% están causadas por: vaginosis bacteriana, *Tricomonas* y Candidiasis, siendo ésta última causante del 17 al 39% de todas las vaginitis [1,2,4-7,22]. La CVV, es una infección cosmopolita, que afecta principalmente a mujeres sexualmente activas y es considerada, uno de los desordenes con mayor motivo de consulta ginecológica, obstetricia y dermatológica. Tanto en atención primaria como especializada, donde constituye el 25% de las consultas [25]. Por lo tanto, la vaginitis o inflamación vaginal es considerada como un problema común e importante en la clínica médica debido al gran número de pacientes atendidas tanto en consultorios y redes públicas como privadas. En Estados Unidos se calculan entre 10 a 13 millones los casos anuales de CVV [8,11,25].

Uno de los problemas más complejos es conocer la epidemiología de la CVV, esto se debe principalmente a que esta enfermedad, no tiene una notificación obligatoria y se ve enmascarada su incidencia, por errores en el diagnóstico y por estudios no representativos de la población en general, ya que la proporción de mujeres con CVV, es muy variable dependiendo del país, región, incluso de una institución clínica a otra. En tal sentido, a pesar

de los avances realizados en la creación de nuevos antifúngicos, la CVV continúa siendo un problema a nivel mundial, afectando a mujeres de todos los extractos sociales [1,10,22].

Debido a estudios llevados a cabo en los años 70 y 90, en países como Estados Unidos e Inglaterra, de los cuales se derivan los datos epidemiológicos hasta el presente, se estima que, alrededor de un 70-75% de las mujeres, al menos una vez en su vida padecerán de CVV, sobre todo en edad reproductiva y de éstas, alrededor de un 40 a 50% experimentarán una nueva recurrencia. La CVV afecta aproximadamente 20% de las mujeres cada año y entre un 5-8% de éstas tendrán una CVV recurrente [1,25,28,29,36-39,]. Algunos autores describen que esta levadura puede encontrarse alrededor del 10% o hasta un 25% en mujeres sanas (asintomáticas) formando parte de la flora comensal, durante su edad reproductiva y suele aumentar durante el embarazo hasta un 35%. Por lo tanto, representa una problemática en la mujer embarazada, ya que puede encontrarse incluso entre un 30-40% causando una infección particularmente severa en el primer trimestre [9,25,33].

Una de las fuentes que permite establecer el problema de CVV, es sin duda los registros de las Enfermedades de Transmisión sexual (ETS), estos estudios reflejan a *Candida* como agente aislado con una alta prevalencia en muestras de secreciones vaginales, sin embargo; hay que recordar que esto varía en cada país y que no implica, que esta levadura se encuentre como colonizante o como agente patógeno. En países como México y España,

manejan cifras que oscilan entre un 38,5%, (13,1% y 58,64%) respectivamente. En otro estudio realizado sobre ETS en España se determinó que de 399 infecciones vaginales 90 casos (23,80%) correspondieron a CVV [40-45].

Igual que en los países industrializados, en Latinoamérica es difícil conocer la prevalencia e incidencia de la CVV. En Argentina, el instituto de referencia INEI ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán en el año 1996, establecieron una red nacional de laboratorios de salud y en el año 2004, realizaron una encuesta a nivel nacional de diagnóstico micológico, donde el 60% de los laboratorios inscritos respondieron. En el 2007 se conoció que de 23.600 diagnósticos de micosis realizados, 10.079 eran candidiasis vaginal (42,7%). Sin embargo; en esta publicación no establecen cual es la especie predominante. En Venezuela, las cifras de Candidiasis manejada por el Ministerio de Salud y Desarrollo Social de la Inscripción de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) en los Servicios del país en el período correspondiente de 1998 al 2002 se aprecia un claro crecimiento de casos de 1687 a 90. [11,35,46].

La especie de *Candida*, que con mayor frecuencia ocasiona la CVV es *C. albicans*, siendo la causante entre un 80-92% de los casos. Esto no es de extrañarse ya que la mayoría de los episodios de candidiasis son ocasionados por esta especie, y puede considerarse históricamente como el agente etiológico de este padecimiento. Sin embargo, en los últimos años, el tratamiento profiláctico de infecciones oportunistas con fluconazol,

antifúngico de primera línea en el tratamiento de la CVV ha llevado a la reducción de *C. albicans* y a la selección de otras especies de *Candida*, principalmente el aislamiento de *C. glabrata*, causante entre 2- 10 %, *C. krusei* alrededor de 1 -3%, seguida de *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, en menor proporción. Otros estudios, aseguran que estas especies causan infección entre un 10 a 20% de los casos [8,9,13,25,28,47,48]. Esto resulta importante, porque son las especies de *C. no albicans* las causantes de las CVV recurrentes. En Turquía, se realizó un estudio en muestras vaginales, encontrándose tasas de CVV, tanto en la forma aguda como en la recurrente que oscilaron en un 37,3% y un 54,2% respectivamente, mientras que las tasas de *C. no albicans* fueron de 24,1% y 50,9% [1].

La CVV recurrente ocasiona en las pacientes problemas de salud física y emocional, disminuyendo su calidad de vida, afectando las relaciones con sus parejas, y originando implicaciones de carácter fóbico y trastornos de ansiedad. Además de generar pérdida de productividad debido a la inasistencia laboral [10,14,19,30,37].

Venezuela, no escapa de la realidad observada a nivel mundial. Se desconoce la incidencia real de la CVV en las mujeres venezolanas, de igual forma no existe el conocimiento del costo-pérdida que genera al estado el tratamiento de las CVV recurrente. Aunado a otras interrogantes como: está al alcance la terapia antifúngica, para las pacientes de menores ingresos económicos, cuál sería la tasa poblacional afectada por CVV. A pesar de ser pocos los trabajos publicados en Venezuela, estos demuestran que la

tendencia, hasta los momentos es el aislamiento de *C. albicans*, como especie predominante de CVV, seguida de otras especies. Observándose frecuencias de *C. albicans* entre 42,9% hasta 87,5% [43-45].

Identificación de levaduras y pruebas de susceptibilidad antifúngica:

El diagnóstico microbiológico de la CVV, puede llevarse a cabo mediante: observación microscópica directa, cultivo, métodos de detección de antígenos o anticuerpos y metabolitos. La determinación presuntiva de CVV, puede realizarse por el examen directo y esto se debe en gran medida al tamaño de las células fúngicas (blastocnidias, pseudohifas, hifas) las cuales son más grandes en comparación con las bacterianas. Para ello se puede utilizar KOH al 10%, que permite disolver los elementos celulares, y mantiene intacta la pared celular. Coloraciones como Gram o tinciones histológicas, permiten una mayor visibilidad de las estructuras fúngicas, evidencia la reacción tisular e invasión a tejido. El cultivo es el patrón de referencia, ya que permite la identificación del agente etiológico, y la realización del estudio de sensibilidad [2,6,10].

En el laboratorio de clínica El Avila, se llevó a cabo el diagnóstico de estas especies de *Candida*, a través de pruebas como: examen directo y cultivo. La identificación y susceptibilidad se realizó a través del método automatizado Vitek 2 (Gambaró). Este sistema tiene la capacidad de detectar el metabolismo fúngico e identificar las levaduras en sólo 18 h. Se

fundamenta en la fluorescencia, y se compone del análisis de 63 pocillos, permite la identificación de 51 especies diferentes [49]. Y al igual que los sistemas semiautomáticos, requiere pruebas adicionales (fundamentalmente morfológicas). En caso de baja discriminación, estas pruebas se verifican por los métodos convencionales: morfología macroscópica y microscópica en medios agar harina de maíz (Oxoid, Londres) diferenciación en medio **CHROMagar**, sensibilidad a cicloheximida en agar Mycosel (Difco).

El estudio de susceptibilidad *in vitro* se basa en la determinación de sensibilidad y/o resistencia de los microorganismos a los antifúngicos: fluconazol, voriconazol y anfotericina B [49]. Fluconazol y voriconazol son derivados triazólicos, sintéticos de amplio espectro que actúan interrumpiendo la síntesis del ergosterol, principal componente lipídico de la membrana celular fúngica, inhibiendo a la coenzima dependiente de la citocromo P-450-oxidasa 14- α -esterol-desmetilasa [50]. Mientras que anfotericina B es un macrólido poliénico que actúa a nivel de la membrana fúngica y parte del sistema endomembranoso, donde se adhieren al ergosterol, originando poros y espacios membranosos alterando de esta forma el intercambio iónico y por ende causando la lisis celular [51].

Entre los mecanismos de resistencia a fluconazol y voriconazol se encuentra la modificación o mutación del gen ERG1, lo cual conduce a la disminución de la afinidad de la enzima diana por el antifúngico. Además la sobreexpresión del gen genera la producción de altas concentraciones de la enzima diana, haciendo necesario concentraciones altas de fluconazol a nivel

intracelular y de esta manera poder inhibir a la enzima. También puede producirse de forma muy rara la mutación del gen ERG3 que ocasiona la desaturación del esteroles. Otro mecanismo es la salida activa del fluconazol fuera de la célula a través de la activación de dos tipos de transportadores codificados por los genes MDR (específico de fluconazol) y CDR, actuando de forma individual o secuencialmente con MDR, en la disminución de la susceptibilidad a múltiples azoles entre ellos a fluconazol y voriconazol [50].

El aumento de infecciones fúngicas, el entendimiento de los mecanismos de resistencia y la creación de nuevos antifúngicos son factores que influyen en la creación y desarrollo de pruebas de susceptibilidad, *in vitro*, las cuales se encuentran estandarizadas y son clínicamente relevantes con la finalidad de ser guías en las decisiones terapéuticas. Entre estas pruebas se encuentra la determinación de la concentración mínima inhibitoria de un fármaco, capaz de inhibir la multiplicación de los microorganismos, conocida por las iniciales como CMI [49,52]. Igualmente, existen otros métodos como son la difusión en agar con discos y E-test; además, se cuentan con sistemas automatizados, como el equipo Vitek 2, el cual al igual que la microdilución en caldo, permite conocer la CMI de los antifúngicos: fluconazol, voriconazol y anfotericina B, a través de unas tarjetas de susceptibilidad conocidas con el nombre de YS01 [49,53]. Cuando existe alguna discrepancia o se requiere verificar los patrones de susceptibilidad de de estos antifúngicos, se realizan las pruebas de susceptibilidad a través de E-test.

Es necesario recordar las razones por las cuales se deben realizar las pruebas de susceptibilidad *in vitro* en el laboratorio clínico, entre ellas están: proporcionar un resultado *in vitro* fiable de la actividad relativa de un antifúngico, para predecir la respuesta clínica más probable al tratamiento; monitorear el desarrollo de la resistencia entre poblaciones de organismos normalmente susceptibles, estableciendo la susceptibilidad a los antifúngicos de las cepas circulantes en cada centro de salud [52].

Tratamiento

Las especies de *Candida*, son las causas más usuales de infecciones fúngicas, entre ellas los trastornos mucocutáneos, que no hacen peligrar la vida, pero sí son causa de morbilidad. Para el tratamiento de la CVV, la guía de práctica clínica para el manejo de las candidiasis, de la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosa (IDSA) actualizada en el 2009, recomienda el uso de agentes tópicos y fluconazol en una sola dosis, de 150 mg para la CVV. Para CVVR se recomienda, de 10 a 14 días de terapia de inducción, el uso de azol tópico u oral seguido de fluconazol, 150 mg una vez por semana hasta por seis meses. Si la terapia con fluconazol no fuera viable, se recomienda el tratamiento con clotrimazol tópico (200 mg dos veces por semana) o clotrimazol supositorio vaginal de 500 mg, una vez por semana, u otro tratamiento tópico intermitente con un azol [55]. La gran mayoría de los estudios de CVV, refieren que *C. albicans*, es 100% sensible a fluconazol; observándose muy pocos casos de resistencia, y éstas se encuentran presentes en especies de *C. no albicans*. [9,11,34,39,56,].

OBJETIVO GENERAL

Conocer la frecuencia y susceptibilidad a los antifúngicos de las especies de *Candida* aisladas en pacientes ambulatorias de la clínica El Avila con candidiasis vulvovaginal en el período comprendido enero 2011- abril 2012.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Determinar la frecuencia de Candidiasis vulvovaginal en las pacientes ambulatorias de la clínica el Avila, durante el período enero 2011- abril 2012.
2. Identificar las especies de *Candida* que ocasionaron la vulvovaginitis en las pacientes ambulatorias durante ese período.
3. Conocer la susceptibilidad a fluconazol, voriconazol y anfotericina B de las especies de *Candida*, aisladas en las secreciones vaginales de este grupo de pacientes.
4. Establecer la frecuencia del examen directo positivo y negativo de acuerdo a la morfología fúngica.
5. Describir las características clínico-epidemiológicas de las pacientes con el estudio micológico realizado.

METODOLOGIA

Se diseñó un estudio retrospectivo, de carácter descriptivo y de corte transversal, para determinar la frecuencia de candidiasis vulvovaginal, y patrones de susceptibilidad antifúngica de especies de *Candida*, en muestras vaginales provenientes de pacientes ambulatorias, procesadas en el laboratorio de la clínica El Avila durante el período enero 2011 – abril 2012.

Pacientes y muestras:

Se revisaron 2273 registros, encontrándose 79 positivos para *Candida* spp en muestras de secreciones vaginales de las pacientes ambulatorias de la clínica El Avila durante el periodo del estudio.

Criterios de inclusión:

Todos los registros de secreción vaginal provenientes de mujeres en edad reproductiva que se realizaron un cultivo y fueron positivas para *Candida*.

Criterios de exclusión:

Registros de secreciones vaginales sin crecimiento de *Candida*

Instrumentos y procedimientos:

Se consultaron retrospectivamente los archivos electrónicos y físicos del laboratorio de la clínica El Avila provenientes de pacientes ambulatorias que se realizaron cultivos de secreción vaginal en el laboratorio durante el período Enero 2011 - Abril 2012.

Estos archivos incluyen el reporte con datos del paciente, como edad, ubicación o servicio, medico tratante, así como el resultado del examen directo, identificación y susceptibilidad antifúngica. De igual forma, se revisaron las boletas de solicitud emitida por el médico tratante y de esta manera, se conoció la impresión diagnóstica.

Para reunir esta información se utilizó el software utilizado por el equipo Vitek 2, el cual permitió realizar una lista avanzada, seleccionando cada uno de los datos requeridos para la investigación. La información que se obtuvo fue vaciada en una base datos en el software Excel para su posterior procesamiento.

El estudio micológico de cada una de las secreciones vaginales se realizó a través del examen directo con solución salina estéril, el cual proporcionó la visualización de células fúngicas, (blastoconidias, pseudohifas e hifas); de igual forma, se realizó cultivó en medios como: agar Sabouraud (Difco), Sabouraud más Cloranfenicol (Difco), CHROMagar (Oxoid), agar harina de maíz (Difco). Este último permitió la verificación microscópica de las especies de *Candida*. Los cultivos positivos con un crecimiento abundante (de 3 a 4 cuadrantes de la placa), se les realizó la identificación

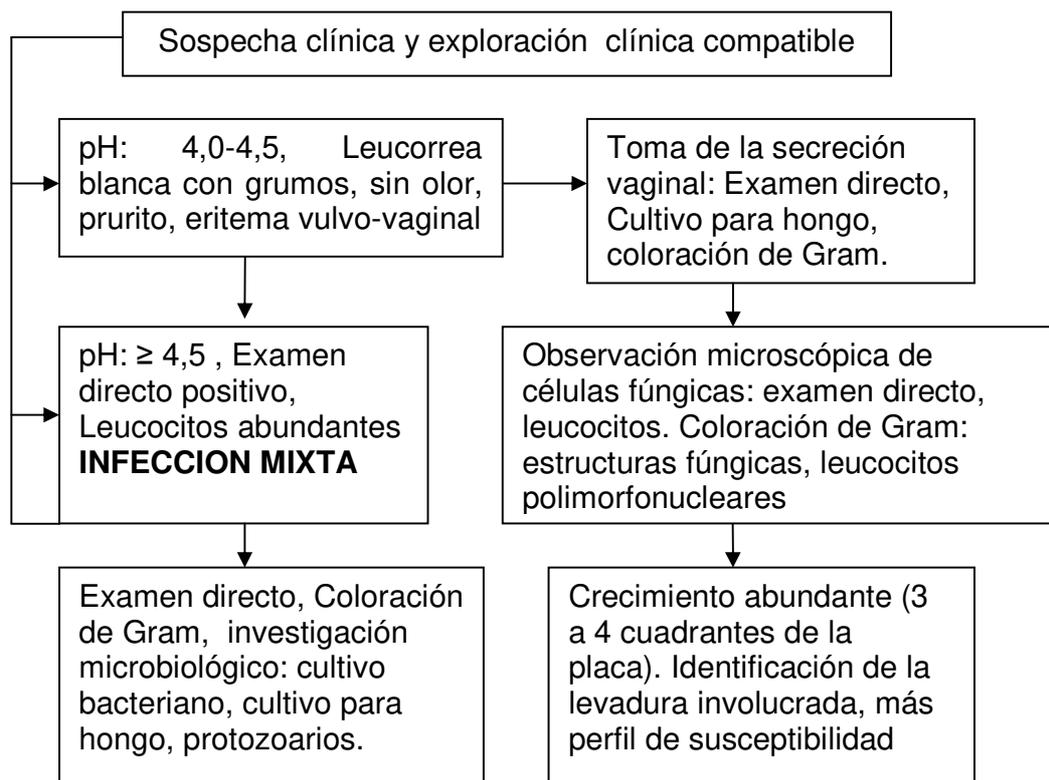
de la levadura y su perfil de susceptibilidad a fluconazol, voriconazol y anfotericina B por CMI obtenidas a través de las tarjetas de identificación YST y de sensibilidad YS01 del equipo automatizado Vitek 2 (bioMérieux, Francia).

La CMI se determina a partir del valor más bajo de concentración en la que se produce inhibición del crecimiento. Entonces, se puede asignar un criterio de interpretación (sensible, intermedio o resistente) a los resultados de la CMI, para facilitar la orientación terapéutica. Las tarjetas YS01 son básicamente una versión miniaturizada y abreviada de la técnica de dilución doble para las CMI, determinadas mediante el método de microdilución. Para ello, es preciso que la suspensión del organismo esté diluida a una concentración normalizada de 1.8 a 2.2 (densidad óptica), en solución salina al 0,45% antes de utilizarse para rehidratar el medio antimicrobiano en la tarjeta. A continuación, la tarjeta se inocula, se sella y se coloca en el incubador/lector del Vitek 2, el cual controla el crecimiento de cada pocillo de la tarjeta, durante un período de 18 y hasta 36 horas para las levaduras. Luego el sistema evalúa el patrón de crecimiento de cada organismo en presencia del antimicrobiano, en relación con el crecimiento registrado en el pocillo control [49].

Para proporcionar datos adecuados para los cálculos de CMI, se utilizan varios parámetros en función de las características de crecimiento observadas. El resultado de la CMI, debe estar vinculado a una identificación del microorganismo, con el fin de determinar una interpretación de

susceptibilidad. La interpretación de la categoría junto con una CMI, es comunicada según las interpretaciones definidas por Food and Drug Administration (FDA), CLSI o comité de l' Antibiogramme de la Société Francaise de Microbiologie (CASFM), o según una adaptación de los parámetros globales de acuerdo con otras normas locales [49].

Algoritmo en la identificación de Candidiasis Vulvovaginal



Para determinar la susceptibilidad de *Candida* spp frente a fluconazol y voriconazol se utilizaron los criterios de CLSI para los puntos de cortes de CMI en µg/ml publicados en el 2010.

Levadura	Fluconazol ug/ml			Voriconazol ug/ml		
	S	SDD	R	S	I	R
<i>C. albicans</i>						
<i>C. tropicalis</i>	≤ 2	4	≥ 8	≤ 0,125	0,25-0,5	≥ 1
<i>C. parapsilosis</i>						
<i>C. glabrata</i>	-	≤32	≥64	≤ 0,5	1	≥ 2
Otras especies de <i>Candida</i>	≤ 8	≤ 32	≥ 64	≤ 0,5	1	≥ 2

S: sensible, **SDD:** sensible a dosis dependiente, **I:** Intermedio , **R:** resistente ug/ml= microgramo por mililitro[50].

Análisis estadístico de los datos:

- Se describieron las variables mediante medidas de tendencia central, tales como frecuencia, promedio y porcentaje para analizar grupo etario, distribución por servicio, examen directo y morfología fúngica, epidemiología de las especies de *Candida*, así como : Media Geométrica (MG), MODA, Concentración Mínima Inhibitoria 50

- (CMI50) y Concentración Mínima Inhibitoria 90 (CMI90) de los antifúngicos: fluconazol y anfotericina B.

Limitaciones del estudio:

Durante el transcurso de esta investigación no se presentó ninguna limitación, permitiendo la realización de la misma en el tiempo estipulado.

RESULTADOS

1. Frecuencia de *Candida* en muestras de secreciones vaginales.

Un total de 2273 secreciones vaginales fueron procesadas en el laboratorio de la clínica El Avila durante el período enero 2011- abril 2012, sólo 79 (3,5%) fueron positivas para *Candida spp.*

2. Distribución de especies de *Candida* aisladas en las secreciones vaginales.

De los 79 cultivos vaginales positivos se aisló 69 cepas (87%) de *C. albicans* y 10 aislados (13%) de especies de *C. no albicans*. Ver tabla 1.

3. MG, Moda, Rango, CMI 50, CMI 90 de fluconazol, anfotericina B y perfil de susceptibilidad de las especies de *Candida* a Fluconazol, Voriconazol y Anfotericina B.

Estos valores se presentan en la tabla 2. Se encontraron concentraciones de sensibilidad, sensibilidad a dosis dependientes (SDD) y resistencia para fluconazol. Se observó 100% sensibilidad para voriconazol. Para este antifúngico se encontró un valor constante en la CMI (0.12 µg/ml) en las 79 cepas y para anfotericina B se observaron valores menores a 1 µg/ml.

4. Distribución por grupo etario, ubicación por servicio y examen directo.

El rango etario estuvo comprendido entre 17 y 56 años, la edad promedio fue de 33,8 años con una desviación estándar de $\pm 8,6$. El mayor número de muestras vaginales provinieron de los consultorios ginecológicos de la clínica, con un 60% de positividad para el examen directo. Tabla 3.

5. Tipos de morfología fúngica observada en el examen directo y especie involucrada.

Las blastoconidias se observaron en mayor proporción que pseudomicelio. Tabla 4.

6. Distribución del diagnóstico clínico de acuerdo a la ubicación del servicio.

Sólo en 11 de las 79 solicitudes se indicó la impresión diagnóstica y a su vez en 6 de ellas solicitaron investigación de *Streptococcus grupo B* y en 5-investigación de candidiasis. 7 solicitudes correspondieron a los consultorios ginecológicos de la clínica El Avila y 4 a las unidades de fertilidad, observándose una baja presunción clínica de candidiasis. Se detectaron 2 muestras con infección mixta por *Candida* y *Streptococcus* grupo B. Tabla 5.

Tabla 1. Distribución de especies de *Candida* aisladas en las secreciones vaginales de pacientes ambulatorias clínica El Avila enero 2011- abril 2012.

Especie aislada	Total de muestras	Porcentaje
<i>C. albicans</i>	69	87%
<i>C. glabrata</i>	5	6%
<i>C. parapsilosis</i>	3	4%
<i>C. tropicalis</i>	2	3%
Total general	79	100%

Tabla 2 a. Rango, moda, media geométrica, MIC50, MIC 90, de fluconazol y anfotericina B.

LEVADURAS	ANTF	RANGO	MODA	MG	MIC 50	MIC 90
<i>C. albicans</i>	FZL	1-8*	1	1.13	1	1
	ANF B	0.25-0.5*	0.5	0.48	0.5	0.5
<i>C. glabrata</i>	FLZ	4-16*	4	6.96	4	8
	ANF B	0.5-1*	0.5	0.57	0.5	0.5
<i>C. parapsilosis</i>	FZL	1-4*	1	1.59	1	1
	ANF B	0.25-0.5*	0.5	0.4	0.5	0.5
<i>C. tropicalis</i>	FZL	1-2*	NA	1.41	1.5	1.9
	ANF B	0.25-0.5*	NA	0.35	0.38	0.48

FZL=Fluconazol, ANF B=Anfotericina B *= $\mu\text{g/ml}$ NA= No aplica

Tabla 2 b. Perfil de susceptibilidad a fluconazol en secreciones vaginales de pacientes ambulatorias clínica El Avila enero 2011- abril 2012

ESPECIES	S	SDD	R
	n / %	n / %	n / %
<i>C. albicans</i>	67 (97)	1 (1.5)	1 (1.5)
<i>C. glabrata</i>	-	5 (100)	-
<i>C. parapsilosis</i>	2 (100)	1 (1.5)	-
<i>C. tropicalis</i>	2 (100)	-	-

S= Sensible, **SDD**= Susceptible a Dosis Dependiente **R**=Resistente

Tabla 3. Distribución por grupo etario de las pacientes ambulatorias clínica El Avila enero 2011- abril 2012 de acuerdo a la ubicación del servicio y resultado del examen directo.

Grupo etario	N°aislados	Ubicación por servicio			Examen directo	
		CONS.	UF	EXT	NEG.	POS
≤ 20 años	2	2	0	0	2	0
21-30 años	26	10	10	6	10	15
31-40 años	38	20	12	6	14	26
41- 50 años	8	6	0	1	2	5
≥50 años	5	1	1	3	3	2
Total	79	40	23	16	31	48

CONS: Consultorios, **UF:** Unidad de fertilidad, **EXT:** muestras externas
NEG: Negativo, **POS:** Positivo

Tabla 4. Distribución de la morfología fúngica observada en el examen directo y especie involucrada en la CVV.

Morfología	Total	Porcentaje	Especie de Candida
Pseudohifas	8	17%	<i>C. albicans</i>
Blastoconidias	38	79%	<i>C. albicans</i>
Blastoconidias + pseudohifas	2	4%	<i>C. albicans</i>

Tabla 5. Distribución del diagnóstico clínico de acuerdo a la ubicación del servicio.

UBICACIÓN DEL SERVICIO	TOTAL DE CEPAS	N° MICROORGANISMO	
		<i>Candida spp/</i>	<i>Candida spp + S. grupo B*</i>
CONSULTORIOS UNIDADES DE FERTILIDAD MUESTRAS EXTERNAS	7 4 0	5 3 -	2 1 -

*S. grupo B**= *Streptococcus* grupo B

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Después de la vaginosis bacteriana, *Candida* spp, constituye uno de los agentes que se aíslan con mayor frecuencia en las vaginitis infecciosas [16,24,27,57]. Uno de los datos obtenidos en esta investigación fue la identificación de 79 casos positivos para *Candida*, de 2273 secreciones vaginales, representando el 3,5% de positividad. Además, se observó un claro predominio de *C. albicans* sobre las demás especies, (69 casos Vs. 13) representando una proporción del 87%. Esto coincide con los datos obtenidos por investigadores de Estados Unidos y de Latinoamérica que demuestran que la frecuencia de esta especie de *Candida* oscila entre un 60 y un 94% convirtiéndola en la principal especie causante de CVV [9,11, 26, 34,39].

De igual forma, este resultado es similar a los estudios realizados en Venezuela, donde reflejan una frecuencia de aislamientos para *C. albicans* del 52 al 87% de los casos [16,17,57]. Sin embargo, estos resultados difieren de otra investigación local, donde encontraron que las especies distintas a *C.albicans*, fueron el grupo predominante correspondiendo al 57% de los aislamientos. Esto podría deberse al grupo elevado de pacientes que referían una CVV recurrente y una exposición previa a antifúngicos [18].

C. albicans ha sido históricamente el agente principal de la CVV. Sin embargo, en los últimos años, el tratamiento profiláctico de infecciones oportunistas con fluconazol, ha permitido la selección de cepas, lo cual se ha traducido en el aislamiento de otras especies, que por lo general son resistentes naturales a fluconazol, como lo es *C. krusei*; o adquirida como es el caso de *C. glabrata*. Por ende, el hallazgo de estas especies ocasionando CVV puede inferir un fracaso en la terapia antifúngica o el padecimiento de una CVV recurrente. En esta investigación se encontró que la segunda especie aislada después de *C. albicans* es *C. glabrata*, representando el 6% de los aislamientos. Esta proporción es similar a los estudios realizados por Moreira et al. (6%) en Brasil [39], García y col. (6,3%) en Argentina [9], y es inferior al valor hallado en las investigaciones de Lopes et al. (25,7%) en Brasil [34], Richter et al. (18,9%) en Estados Unidos [26], Azzam y col. (10,4%) en Venezuela [57].

. . Debido a que, no todas las cepas de *C. albicans* fueron sensibles a fluconazol, ya que se encontraron dos aislamientos con CMI de 4 y 8 ug/ml, Interpretándose como sensible a dosis dependiente y resistente respectivamente. Este hallazgo difiere de otras investigaciones donde encontraron 100% de sensibilidad para este antifúngico [9,11,26]. Esta diferencia se debió principalmente a los cambios ocurridos recientemente en los puntos de cortes para este azol, los cuales fueron modificados dependiendo de las especies de *Candida*. Estos cambios se basaron

principalmente en la disminución de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de este antifúngico, ya que los puntos de cortes anteriores para este azol, eran iguales para todas las especies, interpretándose de manera susceptible cuando la CMI era $\leq 8 \mu\text{g/ml}$. Este estudio arrojó un aislado de *C. albicans* resistente para fluconazol y 7 cepas en el rango de SDD en diferentes especies de *Candida*: (5) *C. glabrata*, (1) *C. albicans* y (1) *C. parapsilosis*. Se observó que todas las *C. glabrata* aisladas se encuentran en la categoría de DSS precisamente porque no existen puntos de corte para la interpretación de sensible, pese a esto, esta especie ya era encontrada por otros autores como la segunda especie en aislarse y la primera en encontrarse en este perfil de susceptibilidad [9,26,34,39,57]. Por lo tanto queda claro la importancia del seguimiento clínico y la vigilancia epidemiológica, para esta especie ya que el aumento de las CMI estaría a un paso de la categoría de resistencia. En esta investigación no se encontró resistencia para voriconazol, hallándose un valor de CMI constante en las 79 cepas positivas. A pesar de que no existe punto de corte clínico para anfotericina B, se encontraron en todos los aislados valores inferiores a $1 \mu\text{g/ml}$, hallándose dentro de los puntos de corte epidemiológico para este antifúngico [56].

Al analizar la distribución etaria se observó que el grupo de mayor porcentaje (48%), fue el comprendido entre 31 y 40 años, siendo la edad promedio de 33,8 años, con una desviación estándar de $\pm 8,6$. Este mismo

grupo fue hallado en Martínez y col. en México [27], con una frecuencia del 38,5%, y una edad promedio de 31,5 años. En cuanto a la edad promedio, ésta varió de un autor a otro, como en García y col. llevado a cabo en Argentina [9], donde obtuvieron un promedio de 25 años, en México por Buitrón y col. [25], encontraron una media de 35,9 años, mientras que 24 años fue la edad promedio en un estudio realizado en Colombia por Duque y col. [11]. A pesar que la edad promedio varió de un autor a otro, debido al grupo de mujeres en estudio, se puede apreciar que la CVV afecta principalmente a mujeres en edad reproductiva, y se relaciona con los cambios que pueden ocurrir durante esta etapa, como el embarazo, el uso de anticonceptivos orales, el abuso de jabones íntimos, cambios endógenos que pueden ocasionar algún tipo de desequilibrio que permita la proliferación de *Candida*.

En cuanto a la frecuencia del examen directo realizado a cada uno de las secreciones vaginales se obtuvo la observación microscópica del 61% de estructuras fúngicas, donde la principal morfología fueron blastoconidias, seguido de pseudohifas y en menor frecuencia blastoconidias más pseudohifas

A pesar de encontrarse un mayor número de levaduras aisladas y gemantes, todas las 79 muestras tuvieron un crecimiento en placa entre el tercer y cuarto cuadrante, por lo tanto todos estos elementos fúngicos estuvieron asociados a un número relativamente elevado de colonias en el

medio de cultivo. Sin embargo, la visualización de pseudohifas es un factor importante para el diagnóstico de CVV, ya que la presencia de ellas es considerada un factor de virulencia, permitiéndole una mejor adherencia al epitelio, por lo tanto su observación orienta en la presunción clínica de CVV. García y col [9], en su trabajo de investigación encontró elementos levaduriformes y/o pseudomicelio en 75 de 94 exudados vaginales con *Candida spp.* Mientras que otro estudio realizado por Buitrón y col. [25], señalan que sólo las formas de pseudohifas o blastoconidias más pseudohifas deben ser consideradas como indicio de infección, siendo la excepción *C. glabrata* la cual no genera este tipo de estructura, encontrando un 95,5% de blastoconidias y un 52,7% a pseudohifas.

A pesar que este estudio tuvo un 39% de examen directo negativo, hubo crecimiento de *Candida spp.* en el tercer y cuarto cuadrante de la placa. Por tal razón se hace necesaria la realización de otras pruebas que complementen el examen directo, como sería la coloración de Gram. De igual forma es importante conocer las características de la secreción vaginal como: aspecto, color y pH, información valiosa para la orientación micológica.

Aunque no se contó con todos los diagnósticos presuntivos o sospecha clínica, así como de las características de las secreciones vaginales, factores de predisposición para CVV, se considera importante la realización de este trabajo, ya que aporta datos epidemiológicos locales de *Candida* como agente de la CVV, sobre todo si se toma en cuenta que 53,1% corresponde a

pacientes que asisten a consulta ginecológica en la clínica El Avila y 35,4% corresponde a pacientes de las dos unidades de fertilidad ubicadas en la misma institución y solo un 11,3% son pacientes externas a las consultas

CONCLUSIONES

- 1- *C. albicans* es la especie predominante en todas las pacientes ambulatorias.
- 2- Se encontró 1,5% de *C. albicans* resistente a fluconazol, sin resistencia a voriconazol y anfotericina B.
- 3- Se observó 60% de correspondencia del examen directo con el cultivo, facilitando el diagnóstico micológico.
- 4- Se evidenció baja sospecha del diagnóstico clínico de CVV en todas las consultas.

RECOMENDACIONES

- 1- Desarrollar e implementar una hoja de datos que incluya los factores de riesgo y/o predisposición a CVV y las características de la secreción vaginal.
- 2- Implementar pruebas complementarias que permitan un mejor diagnóstico de CVV, como coloración de Gram y Ph de secreción vaginal.
- 3- Realizar revisiones epidemiológicas de CVV anualmente incluyendo la vigilancia de resistencia a los antifúngicos.
- 4- Implementar un plan de educación continua tanto del personal a cargo de las pacientes, así como del personal que realiza el diagnóstico micológico.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- Ilkit M, Baro A. The epidemiology, pathogenesis and diagnosis of vulvovaginal candidosis: a mycological perspective. Crit Rev Microbiol. 2011; 37(3): 250-61.
- 2- Ramírez A, Pereiro M, Toribio J. Vulvovaginitis de repetición. Valoración diagnóstica y manejo terapéutico. Actas Dermosifiliogr.2008;99:190-8.
- 3- González E, Olmos O, Sancho B. Cuaderno Multidisciplinares de micosis. SANED. Madrid 2008
- 4- Ibarrola M, Benito S, Azcona B, Zubeldia N. Patología infecciosa: vulvovaginitis, enfermedades de transmisión sexual, enfermedad inflamatoria pélvica, abscesos tubo-ováricos. An Sist Sanit Navar. 2009; 32(1): 29-38
- 5- Pernias J, Martin E, Rubio MC. Guía práctica de identificación y diagnóstico clínico en micología clínica [en línea].Bilbao. Asociación Española de Micología; 2007 [accesado 2 sep 2012]. Disponible en: <http://www.guia.reviberoammicol.com/>
- 6- Fernández C, Vásquez F, Otero L, Sadrzadeh G, Junquera M, Varela J. Habilidades técnicas en la consulta para el diagnóstico de la vaginitis infecciosas. SERMERGEN.2008;7:341-53.

- 7- González D, Pereira M. Candidiasis mucocutánea. Rev Piel 2008; 8:460-70
- 8- Mitchell H. ABC of sexually transmitted infections vaginal discharge, causes, diagnosis and treatment. **BMJ**.2004; 328:1306-8.
- 9- García M, García S, Copollillo E, Cora M, Barata A, Vay C, de Torres C, y col. Prevalencia de candidiasis vaginal en embarazadas. Identificación de levaduras y sensibilidad a los antifúngicos. Rev Argent Microbiol. 2006; 38: 9-12.
- 10-Sobel J. Vulvovaginal candidosis. Lancet 2007; 369: 1961-71.
- 11-Duque C, Uribe O, Soto A, Alarcón J. Candidiasis vulvovaginal en un grupo mujeres gestantes de Medellín. Rev Infect. 2009; 1: 14-20.
- 12-Sánchez J, Rivero J. Incidencia de *Candida albicans* en pacientes estudiadas en la ciudad de Puebla México. Acta científica estudiantil.2009;7(3): 191-5.
- 13-Babic M, Hukic M. *Candida albicans* and *non –albicans* species as etiological agent of vaginitis in prenamt and non-pregnamt women. Bosn J **of Basic Med Sci**.2010; 10(1):89-97.
- 14-Barrenetxea G. Vulvovaginitis candidiásica. Rev Iberoam Micol. 2002;19:22-4.

- 15-Rivero M, Díaz J. Frecuencia de especies de *Candida* aisladas en pacientes embarazadas con vulvovaginitis. Rev Soc Ven Microbiol 2003; 23(2): 25-34.
- 16-Mendoza M, González I, Bellorin E, Salazar W, Mendoza L. y col. Aislamiento, identificación y serotipificación de levaduras obtenidas del flujo vaginal en pacientes con clínica de vaginitis. Invest Clin. 1999; 40(1):25-36.
- 17- De la Parte M, Mendoza M, Brito M. Identificación de especies de levaduras del género *Candida* provenientes de pacientes con vulvovaginitis. [en línea]. Caracas: VITAE; 2006 [accesado 21 oct 2011]. Disponible en: <http://vitae.ucv.ve/?module=articulo&rv=7&n=87>
- 18-Llovera V. Prevalencia y sensibilidad de *Candida* spp a fluconazol en la clínica de la Sociedad Anticancerosa de Maracay Venezuela. [en línea]. Maracay: VITAE; 2010 [accesado 14 feb 2012]. Disponible en: <http://vitae.ucv.ve/?module=articulo&n=4265>
- 19-Pirotta M, Garland S. Genital *Candida species* detected in samples from women in Melbourne Australia, before and after treatment with antibiotics. J Clin Microbiol. 2006; 44: 3213-7.
- 20-Eckert L. M. Acute vulvovaginitis. N Engl J Med 2006; 355:1244-52.

- 21-Caballero R, Batista R, Cué M, Ortega L, Rodríguez M. Vaginosis bacteriana. RESUMED. 2000; 2:63-75.
- 22-Acevedo L, Arroyo G. Incidencia y Etiología de vaginitis infecciosa en mujeres guatemaltecas. Revista Científica.(Guatemala) 2009; 5: 91-4.
- 23-Braun H, Vera C, Belmar C, Carvajal J. Consecuencias perinatales de la infección intrauterina por *Candida*. Rev Chil- Obst- Ginecol 2003; 68(4): 343-48.
- 24-Fosch S, Fogolin N, Azzaroni E, Pairetil N, D Ana L, Minacori y col. Vulvovaginitis: correlación con factores predisponentes, aspectos clínicos y estudios microbiológicos. Rev Argent Microbiol. 2006; 38:202-5.
- 25-Buitrom R, Bonifaz A, chassin O, Basurto E, Aranza J, Romero R. Correlación Clínico-micológico de la Candidiasis vulvovaginal. Rev. Ginecol Obstet Mex. 2007; 75:68-72.
- 26-Richter S, Galask R, Messer S, Hollus R, Dueken D. PfallerM. Antifungal susceptibilities of *Candida* species causing vulvovaginitis and epidemiology of recurrent cases. J Clin Microbiol. 2005; 43(5):2155-62.
- 27-Martínez M, Saldaña Miguel. Criterios para el diagnóstico de cervicovaginitis aplicados en el primer nivel de atención correlación con la norma oficial mexicana. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2007; 45(3): 249-54.

- 28-Fuenmayor A, Paz A, Fuenmayor A, Acosta N. Diagnóstico clínico presuntivo versus diagnóstico microbiológico en mujeres con leucorrea. Rev Soc Ven Microbiol. 2009; 29-33.
- 29-Issler J. infecciones del tracto genital inferior. Rev. De posgrado de la cátedra VI a Medicina (Venezuela) .2001; 103:21-38.
- 30-Cassone A, De Bernardis F, Santoni G. Anticandidal Immunity and vaginitis: Novel opportunities for Immune Intervention. Infect Immun. 2007;75(10):4675-86
- 31-Villaruel P, Santa Cruz A. Identificación de especies de levaduras del género *Candida* aislada de exudados vaginales de pacientes en el Hospital Materno Germán Urquidí. Gac Med Bol.(Bolivia) 2011; 34(2):84-86.
- 32-Achkar J, Fries B. *Candida* Infections of the genitourinary tract. Clin Microbiol. 2010; 23:253-73
- 33-Ferrer J. Vaginal candidosis: epidemiological and etiological factors. Int J Gynaecol Obstet. 2000;71:S21-7.
- 34-Lopes M, Albertoni T, Shize C, Mazcheli J, peralta R, Estivalet T. Correlation of *Candida* species and symptoms among patients with vulvovaginal candidiasis in Paraná Brazil. Rev Iberoam Micol. 2004, 21:202-5
- 35-Dawel G, Canteros C. Situación de las micosis en la República de Argentina. Rev Argent Microbiol. 2007;39:28-33.

- 36-Yano J, Lilly E, Barousse M, Fidel P. epithelial Cell-Derived S100 Calcium-binding proteins as key mediators in the Hallmark acute neutrophil response during *Candida* vaginitis. *Infect Immun.*2010; 78(12): 5126-37
- 37-Zhou X, Westman R, Hickey R, Hansmann A. Kennedy C, Osborn T, Forney J. Vaginal Microbiota of women with frequent vulvovaginal candidiasis. *Infect Immun.* 2009; 77(9): 4130-35
- 38-Linhares I, Witkin S, Miranda S, Fonseca A, Pinotti J, Ledger W. Differentiation between women with vulvovaginal symptoms who are positive or negative for *Candida* species by culture. *Infect Des Obstet Gynecol.* 2001; 9:221-5.
- 39-Moreira D, Paula C.R. Vulvovaginal candidiasis. *Int J Gynaecol Obstet.*2006; 92: 266-7
- 40-Perea J. Infecciones del aparato genital femenino. Vaginitis, Vaginosis y cervicitis. *Medicine.* 2010;10(57):3910-4
- 41- Vásquez F, Otero L, Ordos J, Junquera M y Varela J. Actualización en Infecciones de Transmisión Sexual. Epidemiología, diagnóstico y tratamiento. *Enf Inf Microbiol Clin.* 2004; 22(7): 392-4
- 42-Valdez J, Abad Mara, Vallejos E. Prevalencia y Características clínicas de enfermedades de Transmisión sexual en mujeres atendidas en el Hospital Universitario de Puebla 2008. *Enf. Inf Microbiol.* 2010. 30(1):19-24.

- 43-Diez M, Díaz A. Sexually Transmitted infections. Epidemiology and control. Rev Esp Sanid Penit. 2011; 13:58-66.
- 44-López J. Infecciones vaginalis y lesiones celulares cervicales parte Características de la sexualidad. Clin Invest Gin Obst. 2011; 11:65-70
- 45-Santander E, Salvo A, Fich F, Pacheco G, Mendoza M, Garcés C y col. Normas de manejo y tratamiento de las infecciones de transmisión sexual (ITS). Rev Chil Infect. 2009; 26(2):174-90.
- 46-Potenziani J. Infecciones de Transmisión sexual en población adolescente y adultos jóvenes un problema de todos. [en línea]. Venezuela: hu-berlin.; 2011 [accesado 4 Ene 2012]. Disponible en: <http://www2.hu-berlin.de/sexology/BIB/PotITS.htm>
- 47-Mendling W, Seebacher C. Guideline vulvovaginal candidosis: Guideline of the German Speaking Micological Society and the working Group for infections and infectimmunology of the German Society for Gynecology and Obstetrics. Mycoses 2003; 46:365-9.
- 48-Soong D, Einarson A. Vaginal yeast infections during pregnancy. Can Fam Physician. 2009; (55):255-6

- 49- Información del producto Vitek 2 Systems: información del producto de sensibilidad 7 [programa de ordenador]. Versión 1. Marcy l' Etoile (Lyon): BioMérieux; 2009.
- 50- Phaller M, Andes D, Diekema D, Espinel-Ingroff A, Sheehan D, The CLSI subcommittee for Antifungal Susceptibility Testing. Wild-type MIC distributions, epidemiological cutoff values and species –specific clinical breakpoints for fluconazole and *Candida*: time for harmonization of CLSI and EUCAST broth microdilution methods. Drug Resistance Updates. 2010; 13:180-195.
- 51- Bonifaz A. Micología médica básica. 3 ed. México (DF): McGRAW-HILL; 2010.
- 52- Reyes H. Susceptibilidad de *Candida* spp. a Fluconazol, Voriconazol y Caspofungina por el método de difusión con disco [Trabajo Especial de grado para optar a título de especialista en Micología Médica]. Caracas: INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE RAFAEL RANGEL; 2008.
- 53-. Tapia C. Actualización en prueba de susceptibilidad antifúngica. Rev Chil Infect. 2009; 26(2):144-50.
- 54-. Pappas P, Kauffman C, Andes D, Benjamin D, Thierry Jr, Calandra T y col. Guías de práctica Clínica para el manejo de la candidiasis: actualización del 2009, de la Infections Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2009;48:T1-35.

- 55- Andrioli J, Andrade G, Souza C, Lima Z, Haun M, Cazorla I, et al. Frecuencia de levaduras em fluido vaginal de mulheres com e sem suspeita clínica de candidíase vulvovaginal. Rev Bras Ginecol Obstet. 2009; 31(6):300-4
- 56- Ellis D. Amphotericin B: spectrum and resistance. JAC. 2002; 49(1): 7-10.
- 57- Azzam M, Cermeño J, Orellán Y, Penna S. Vulvovaginitis por *Candida* spp. y *Trichomonas vaginalis* en mujeres sexualmente activas. Invest clín 2002; 43(1):26-31.