



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRÍA EN LABORATORIO CLÍNICO, COHORTE 2023

Tema: EVALUACIÓN DE LA CONFIABILIDAD DE LA METODOLOGÍA
MANUAL FRENTE A LA METODOLOGÍA AUTOMATIZADA EN LA
IDENTIFICACIÓN DE CÁNDIDA ALBICANS.

Trabajo de Titulación, previo a la obtención del Título de Cuarto Nivel de Magister en
Laboratorio Clínico mención Microbiología Clínica, Cohorte 2023, modalidad
presencial.

Modalidad del Trabajo de Titulación: Proyecto de Desarrollo

Autora: Licenciada Lissette Estefanía Torres Valdez

Director: Bioquímico Farmacéutico Víctor Hernán Guangasig Toapanta Magister

Ambato – Ecuador

2024

A la Unidad Académica de Titulación de la Facultad de Ciencias de la Salud

El Tribunal receptor del Trabajo de Titulación, presidido por: Doctor Elena Vicenta Hernández Navarro PhD., e integrado por los señores: Licenciada Gabriela Paola Valenzuela Sánchez Magister y Bioquímica Farmacéutica Ana Gabriela Pacha Jara Magister, designados por la Unidad Académica de Titulación de la Facultad Ciencias de la Salud de la Universidad Técnica de Ambato, para receptor el Trabajo de Titulación con el tema: “*Evaluación de la confiabilidad de la metodología manual frente a la metodología automatizada en la identificación de Cándida albicans*”, elaborado y presentado por la señora Licenciada Lisette Estefanía Torres Valdez, para optar por el Título de cuarto nivel de Magíster en Laboratorio Clínico mención Microbiología Clínica; una vez escuchada la defensa oral del Trabajo de Titulación, el Tribunal aprueba y remite el trabajo para uso y custodia en las bibliotecas de la UTA.



Dr. Elena Vicenta Hernández Navarro PhD.
Presidente y Miembro del Tribunal



Lcda. Gabriela Paola Valenzuela Sánchez Magister
Miembro del Tribunal



Bq.F. Ana Gabriela Pacha Jara Magister
Miembro del Tribunal

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

La responsabilidad de las opiniones, comentarios y críticas emitidas en el Trabajo de Titulación presentado con el tema: “Evaluación de la confiabilidad de la metodología manual frente a la metodología automatizada en la identificación de *Cándida albicans*”, le corresponde exclusivamente a: Licenciada Lissette Estefanía Torres Valdez, autora bajo la Dirección de Bioquímico Farmacéutico Víctor Hernán Guangasig Toapanta, Magister director del Trabajo de Titulación, y el patrimonio intelectual a la Universidad Técnica de Ambato.



Firmado electrónicamente por:
LISSETTE ESTEFANIA
TORRES VALDEZ

Licenciada Lissette Estefanía Torres Valdez
c.c.: 1804403291

AUTORA



Firmado electrónicamente por:
VICTOR HERNAN
GUANGASIG TOAPANTA

Bq.F. Víctor Hernán Guangasig Toapanta Magister
c.c.: 1803384385

DIRECTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que el Trabajo de Titulación, sirva como un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos de mi trabajo, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad.



Firmado electrónicamente por:
**LISSETTE ESTEFANIA
TORRES VALDEZ**

Licenciada Torres Valdez, Lissette Estefanía
c.c.: 1804403291

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO

Portada.....	i
A la Unidad Académica de Titulación de la Facultad de Ciencias de la Salud	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO.....	v
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	ix
AGRADECIMIENTO	x
DEDICATORIA	xi
RESUMEN EJECUTIVO	xii
EXECUTIVE SUMMARY	xiii
CAPÍTULO I.....	1
EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	1
1.1. INTRODUCCIÓN	1
1.2. JUSTIFICACIÓN	2
1.3. OBJETIVOS	4
1.3.1. GENERAL	4
1.3.2. ESPECÍFICOS	4
CAPITULO II	5
MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	5
2.2. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA.....	16
CAPITULO III.....	20
MARCO METODOLÓGICO.....	20
3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN	20
3.2. POBLACIÓN O MUESTRA.....	20
3.3. HIPÓTESIS.....	21
3.4. RECOLECCIÓN LA DE INFORMACIÓN.....	21
3.5. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	27

CAPITULO IV	28
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
4.1. RESULTADOS.....	28
4.2. DISCUSIÓN	40
CAPÍTULO V	44
CONCLUSIONES, RECOMENDACIONES, BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS	44
5.1. CONCLUSIONES	44
5.2. RECOMENDACIONES	45
5.3. BIBLIOGRAFÍA	47
5.4. ANEXOS	55
CAPÍTULO VI.....	66
PROPUESTA.....	66
1. OBJETIVO:	67
2. ALCANCE:.....	67
3. RESPONSABLES:	67
4. DEFINICIONES:	67
5. MATERIALES Y EQUIPOS:	68
6. PROCEDIMIENTO:	69
6.1. TUBO GERMINATIVO.....	69
6.2. MEDIO DE CULTIVO CHROMAGAR.....	70
6.3. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA:	71
6.4. IDENTIFICACIÓN AUTOMATIZADA CON VITEK.....	72
7. REFERENCIAS:.....	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica del género <i>Cándida</i>	17
Tabla 2 Características morfológicas de las principales especies de <i>Candida</i>	26
Tabla 3.- Género y edad de los pacientes del estudio atendidos en el Laboratorio Clínico Automatizado Zamora. Período junio 2023 – abril 2024.....	28
Tabla 4. Crecimiento en medio de cultivo Chromagar de las diferentes especies de <i>Candida</i> aisladas de muestras de pacientes atendidos en el Laboratorio Clínico Automatizado Zamora Período junio 2023 – abril 2024.....	33
Tabla 5. Identificación manual Vs automatizada de <i>Candida albicans</i> aisladas de muestras de pacientes atendidos en el Laboratorio Clínico Automatizado Zamora Período junio 2023 – abril 2024	35
Tabla 6. Tabla de contingencia CHROMagar x Vitek.....	36
Tabla 7. Prueba Chi cuadrado	37

ÍNDICE DE FIGURAS

ILUSTRACIÓN 1. GÉNERO Y ESPECIE EN PORCENTAJE.....	44
ILUSTRACIÓN 2. AISLAMIENTO DE CANDIDA.....	45
ILUSTRACIÓN 3. TIPO DE MUESTRA.....	47
ILUSTRACIÓN 4. TUBO GERMINATIVO.....	48
ILUSTRACIÓN 5. CRECIMIENTO EN MEDIO DE CULTIVO CHROMAGAR.	50
ILUSTRACIÓN 6. IDENTIFICACIÓN MANUAL VS AUTOMATIZADA DE CANDIDA ALBICANS	51
ILUSTRACIÓN 7. PRUEBA CHI CUADRADO.....	54

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1 CARTA DE INTERÉS HACIA LA INSTITUCIÓN	55
ANEXO 2 SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA USO DE LAS INSTALACIONES DEL UTA-LAB	56
ANEXO 3 CONSENTIMIENTO INFORMADO	57
ANEXO 4 PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO CROMOGÉNICO CHROMAGAR.....	61
ANEXO 5 SIEMBRA EN LOS MEDIOS DE CULTIVO CROMOGÉNICO CHROMAGAR.....	61
ANEXO 6 RESULTADOS POSITIVOS EN CULTIVO CROMOGÉNICO CHROMAGAR.....	63
ANEXO 7 PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA EL SISTEMA VITEK.....	64

AGRADECIMIENTO

A lo largo del desarrollo de esta tesis, he recibido el apoyo y la colaboración de muchas personas e instituciones, a quienes deseo expresar mi más sincero agradecimiento.

En primer lugar, quiero agradecer a mi asesor de tesis, el Dr. Víctor Guangasig, por su guía, paciencia y valiosos consejos. Su experiencia y dedicación fueron fundamentales para la realización de este trabajo.

Agradezco profundamente a mi esposo, David Guzmán, por su amor incondicional, apoyo emocional y por creer siempre en mí. Sin su constante ánimo y sacrificio, este logro no habría sido posible.

A mis amigos y compañeros de estudio, quienes me acompañaron en este camino con su camaradería y apoyo incondicional. Su motivación y confianza me ayudaron a superar los momentos difíciles y a celebrar cada pequeño logro.

Quiero también expresar mi gratitud al Laboratorio Clínico Automatizado “Zamora” por brindarme las instalaciones y recursos necesarios para llevar a cabo mis investigaciones.

Agradezco a todo el personal del laboratorio por su cooperación y asistencia técnica.

Finalmente, extendiendo mi agradecimiento a la Universidad Técnica de Ambato área de posgrados, por proporcionarme la plataforma educativa y las herramientas necesarias para mi formación académica.

A todos ustedes, gracias por ser parte de este viaje y por contribuir a la culminación de esta etapa tan importante en mi vida.

Lisette

DEDICATORIA

A Dios sobre todas las cosas.

A mi amado esposo, David Guzmán, cuya paciencia, amor y apoyo incondicional fueron una fuente constante de fortaleza y motivación durante todo este proceso. Gracias por estar a mi lado en cada paso de este viaje, por creer en mí cuando yo dudaba y por ser mi mayor fuente de inspiración. Esta tesis es tanto tuya como mía.

A mis queridos padres, Mary Valdez y Byron Torres (+) quienes han sido mi fuente de inspiración y fortaleza a lo largo de mi vida, a mi madre, por su amor incondicional, sus sacrificios y su constante apoyo, a mi padre, quien ya no está con nosotros, pero cuyo espíritu y enseñanzas viven en mi corazón. Gracias por tu amor y por inculcarme los valores del esfuerzo, la perseverancia y la integridad. Esta tesis es un homenaje a tu memoria y a todo lo que me enseñaste.

A mis amigos y familiares, quienes me acompañaron con su amistad, consejos y ánimo inquebrantable. Gracias por ser mi red de apoyo en los momentos más desafiantes.

A todos ustedes, con gratitud y amor, dedico este trabajo.

Lisette

RESUMEN EJECUTIVO

Candida albicans es la principal especie relacionada en la mayoría de infecciones superficiales y profundas causadas por levaduras, por ello es necesario contar con pruebas que sean rápidas y precisas para la identificación microbiológica oportuna mediante la confiabilidad tanto de metodologías manuales y metodologías automatizadas como el sistema VITEK y así establecer cuál es la mejor opción a utilizar en el laboratorio, El objetivo fue evaluar la confiabilidad de la metodología manual frente a la metodología automatizada en la identificación de *Candida albicans*. La metodología que se empleó fue un estudio analítico observacional de corte transversal, con enfoque cuantitativo ya que se utilizó la recolección de datos con base en la medición numérica y el análisis estadístico, es de tipo no experimental, según la cronología la investigación es prospectiva, se analizó los criterios de inclusión y de exclusión. Los resultados fueron los siguientes: a partir de 100 muestras microbiológicas de hongos donde el 82% (n=82) corresponde a aislados de la especie *albicans*, el 18% corresponde a otras especies, las cuales son: *tropicalis* (n=10), *glabrata* (n=5) y *parapsilosis* (n=3), se aisló en 82 muestras del microorganismo a identificar de los cuales se observa que el 73.17% fueron aislados de muestras de secreción vaginal, el 10.98% de secreciones cutáneas, el 8.54% de secreciones seminales, y un 3.66% de secreciones bucales e intestinales, se observa que del total de 82 muestras positivas para *Candida albicans*, el método convencional (CHROMagar) y el método automatizado (VITEK) dieron 70 identificaciones correctas de la levadura y una identificación incorrecta de ésta. Por otro lado, CHROMagar identificó 3 resultados positivos que VITEK no lo hizo y VITEK identificó 8 resultados positivo que CHROMagar no lo logró, la estadística Kappa (κ), $\kappa = 0.093$ nos indica que existe una leve concordancia entre los métodos CHROMagar y Vitek. Los resultados indican que no existe una concordancia estadísticamente significativa entre los métodos CHROMagar y VITEK para identificar *Candida albicans*. Los odds ratios sugieren cierto nivel de asociación, con base a la estadística Kappa se propone una concordancia entre aceptable y moderada entre los dos métodos.

DESCRIPTORES: *CANDIDA ALBICANS, METODOLOGÍA, INFECCIONES URINARIAS, MICOSIS, REPRODUCIBILIDAD DE LOS RESULTADOS.*

EXECUTIVE SUMMARY

Candida albicans is the main species related to most superficial and deep infections caused by yeasts, therefore it is necessary to have tests that are fast and accurate for timely microbiological identification through the reliability of both manual methodologies and automated methodologies such as the VITEK system and thus establish which is the best option to use in the laboratory, THE objective was to evaluate the reliability of manual methodology versus automated methodology in the identification of *Candida albicans*. The methodology used was a cross-sectional observational analytical study, with a quantitative approach since data collection was used based on numerical measurement and statistical analysis, it is non-experimental, according to the chronology the research is prospective, the inclusion and exclusion criteria were analyzed. The results were as follows: from 100 microbiological samples of fungi where 82% (n=82) corresponds to isolates of the *albicans* species, 18% corresponds to other species, which are: *tropicalis* (n=10), *glabrata* (n=5) and *parapsilosis* (n=3), was isolated in 82 samples of the microorganism to be identified of which it is observed that 73. 17% were isolated from vaginal secretion samples, 10.98% from skin secretions, 8.54% from seminal secretions, and 3.66% from oral and intestinal secretions. Of the total of 82 positive samples for *Candida albicans*, the conventional method (CHROMagar) and the automated method (VITEK) gave 70 correct identifications of the yeast and one incorrect identification of the yeast. On the other hand, CHROMagar identified 3 positive results that VITEK did not and VITEK identified 8 positive results that CHROMagar failed, the Kappa statistic (κ), $\kappa = 0.093$ indicates that there is a slight concordance between the CHROMagar and VITEK methods. The results indicate that there is no statistically significant agreement between the CHROMagar and VITEK methods for identifying *Candida albicans*. The odds ratios suggest some level of association, based on the Kappa statistic, an acceptable to moderate agreement between the two methods is proposed..

KEYWORDS: *CANDIDA ALBICANS, METHODOLOGY, URINARY TRACT INFECTIONS, MYCOSIS, REPRODUCIBILITY OF RESULTS.*

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. INTRODUCCIÓN

Los hongos del género *Candida* son un grupo de levaduras ubicuas con características muy diversas, la especie más conocida es *Candida albicans*, ya que es la principal causa de infecciones por levaduras. (López y Col, 2005) Sin embargo, recientemente se ha observado un aumento en las infecciones causadas por otras especies de *Candida* como: *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, que anteriormente eran menos comunes pero que hoy en día han adquirido mayor importancia. (Saúl-García, 2015)

La correcta identificación de las levaduras del género *Candida* es uno de los mayores retos actuales, especialmente porque la identificación incorrecta puede retrasar la instauración de un tratamiento adecuado para el paciente, particularmente en el manejo de las infecciones fúngicas invasoras. Por lo tanto, es esencial disponer de pruebas rápidas y precisas para la identificación oportuna de levaduras de interés clínico. (Mendoza, 2015)

En tiempos recientes, se ha observado un aumento en las infecciones crónicas y recurrentes, esta tendencia se debe en parte al desarrollo de resistencias a los antimicóticos por algunas especies, lo que prolonga las molestias en los pacientes. Es crucial identificar y diferenciar entre las diversas especies de *Candida spp*, para lograr esto, se emplean varios métodos, incluyendo el uso de medios diferenciales cromogénicos, la formación de filamentos en tubos germinativos y métodos automatizados como el sistema VITEK (Arenas, 2020)

Se busca comparar la confiabilidad de los resultados obtenidos mediante métodos manuales, cuyo tiempo estimado de obtención de resultados oscila entre 24 y 48 horas; con los sistemas automatizados VITEK, que proporcionan resultados

confiables en un plazo de 3 a 4 horas, cuyo objetivo es determinar la mejor opción para el procesamiento de muestras. (Aranda y Colb, 2020)

Se elaboró una guía de procedimientos para complementar la investigación, dirigida al personal técnico del laboratorio clínico automatizado “Zamora”, con el objetivo de detallar paso a paso cada proceso, ya sea manual o sistemático, para la identificación de *Candida albicans*. Esta guía abarca la caracterización completa de este microorganismo.

Se desarrolló en seis capítulos. El primero estuvo relacionado con el problema de investigación, seguido de un segundo capítulo que ofreció una fundamentación teórica sobre el agente micótico objeto de estudio. El tercer acápite abordó el proceso metodológico empleado para evaluar la confiabilidad de los métodos manuales y sistemáticos. En la cuarta sección se presentaron los resultados obtenidos. El quinto capítulo realizó una discusión comparativa de las teorías de diversos autores. Finalmente, el sexto acápite propuso un manual de técnicas y procedimientos, ofreciendo una guía práctica y detallada para la implementación de los métodos estudiados.

1.2. JUSTIFICACIÓN

Las levaduras del género *Candida* son agentes oportunistas que, si bien suelen ser inofensivas en individuos sanos, pueden desencadenar infecciones superficiales y profundas en aquellos inmunocomprometidos (López y Col, 2005). *Candida albicans*, en particular, presenta características intrínsecas que facilitan su capacidad patogénica. Entre sus factores de virulencia se encuentran las adhesinas, la capacidad de cambiar morfológicamente de levadura a forma filamentosa, la secreción de enzimas como proteasas y fosfolipasas, y la habilidad para modular los mecanismos de defensa del huésped. (Aguiar, 2020). Otras especies de *Candida*, distintas a *C. albicans*, también son clínicamente relevantes, causando infecciones frecuentes en

áreas como el tracto gastrointestinal, vaginal y cutáneo-mucosas, siendo éstas últimas particularmente desafiantes de tratar. (Panizo, 2001)

Investigaciones previas han destacado la utilidad del sistema automatizado VITEK para la diferenciación e identificación preliminar de *Candida*, superando a los métodos convencionales (Vargas y colb, 2005). La capacidad de este sistema para proporcionar identificaciones rápidas y fiables de *C. albicans*, sin necesidad de pruebas adicionales, lo convierte en una herramienta valiosa para los laboratorios en busca de optimizar sus diagnósticos con un margen de error mínimo, reduciendo así los resultados ambiguos y aumentando la eficacia. (Aguilar y colb, 2020)

La presente investigación cuenta con el respaldo del laboratorio clínico automatizado "Zamora" y del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Técnica de Ambato. Este estudio es factible gracias al acceso a recursos económicos, información, documentación y bibliografía adecuados.

El objetivo de este estudio es evaluar el sistema Vitek en comparación con los métodos convencionales en términos de precisión y fiabilidad. Se procederá a aislar aproximadamente 100 cepas de *Candida* para comparar aquellas identificadas como *C. albicans* en agar Chromoagar con los resultados obtenidos mediante Vitek. Este análisis permitirá verificar la confiabilidad del sistema automatizado. En función de los resultados obtenidos, se diseñará un manual de procedimientos para la correcta implementación de técnicas manuales y automatizadas en el manejo de muestras de *Candida albicans*, específico para el laboratorio "Zamora".

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. GENERAL

Evaluar la confiabilidad de la metodología manual frente a la metodología automatizada en la identificación de *Candida albicans*.

1.3.2. ESPECÍFICOS

- Identificar *Candida albicans* por tubo germinativo, medio de cultivo Chromagar y el método sistemático automatizado VITEK.
- Detectar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre la metodología manual y la metodología automatizada en la identificación de *Candida albicans*.
- Elaborar un manual de procedimiento para la identificación de *Candida albicans*.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

María Ochiuzzi et al. (2014), en su estudio titulado “Evaluación del sistema Vitek 2 para la identificación de las principales especies de levaduras del género *Candida*”, mencionaron que el sistema Vitek había presentado una concordancia observada del 98,3%. En su investigación, evaluaron el desempeño de las tarjetas YST del sistema Vitek 2 para la identificación de levaduras del género *Candida*.

Los investigadores analizaron 168 aislamientos, cultivando cada cepa en agar cromogénico para levaduras y observando su micromorfología. Las cepas de *C. albicans* y *C. dubliniensis* fueron identificadas a través de pruebas bioquímicas y moleculares adicionales. Solo tres cepas no fueron identificadas correctamente por el sistema Vitek 2: una cepa de *C. tropicalis*, una de *C. krusei* y una de *C. parapsilosis*. Además, una de las cepas de *C. krusei* fue identificada de manera incompleta por el software del equipo.

El tiempo promedio de identificación con las tarjetas YST fue de 18,25 horas. Los investigadores concluyeron que el sistema Vitek 2 se presentaba como un método confiable, simple y efectivo para la identificación de las principales especies del género *Candida* (Ochiuzzi et al., 2014).

En el estudio titulado “Evaluation of CHROMagar *Candida*, VITEK2 YST and VITEK® MS for identification of *Candida* strains isolated from blood cultures”, realizado por Sariguzel et al. (2015), evaluaron el Agar CHROMagar *Candida*, la tarjeta VITEK2 YST totalmente automatizada y los sistemas VITEK® MS. Todos los aislamientos fueron comparados simultáneamente con métodos convencionales y análisis de secuenciación, este último utilizado como método de referencia.

Aislaron 54 cepas, identificadas entre ellas como *C. parapsilosis* (n=32), *C. albicans* (n=19), *C. glabrata* (n=1) y *C. tropicalis* (n=2). Con el Agar CHROMagar Candida, aislaron una cepa de *C. albicans* y una cepa de *C. glabrata*, que fue mal identificada como *C. parapsilosis*. En la morfología microscópica de las cepas estudiadas, *C. albicans* presentaba clamidosporas, blastosporas y pseudohifas, mientras que *C. glabrata* solo tenía blastosporas. En cambio, con el sistema automatizado VITEK2 YST, los aislamientos de *C. albicans* fueron identificados erróneamente; en la morfología microscópica de estas cepas, *C. parapsilosis* mostraba pseudohifas curvas y blastoconidios, mientras que *C. albicans* presentaba clamidosporas, blastosporas y pseudohifas.

Concluyeron que el medio de cultivo CHROMagar Candida y el sistema de tarjeta automatizado VITEK2 YST identificaron correctamente el 96,2% y el 90,7% de todas las cepas, respectivamente. En cambio, el sistema automatizado VITEK® MS identificó correctamente el 100% de las cepas (Fatma Mutlu Sariguzel, 2015).

Giusiano et al (2014), en su estudio: “Diferenciación e identificación presuntiva rápida de levaduras con el medio CHROMAGAR CANDIDA” realizado por Giusiano, G. y Mangiaterra, M. L., evaluaron métodos rápidos y de bajo costo para el aislamiento e identificación de levaduras de interés clínico, con ayuda del medio de cultivo Chromagar Candida.

Estudiaron un total de 546 cepas de levaduras obtenidas de diferentes muestras clínicas, examinaron entre las 48 y 72 horas a 28 y 37°C, en este medio de cultivo obtuvieron buen crecimiento, definición del color y textura de las colonias, identificaron 5 géneros y 10 especies, en el caso de las colonias de *Cándida albicans* el 100% fueron lisas y brillantes, desarrollándose un color verde esmeralda, que no se presentó en ninguna otra cepa.

Llegaron a la conclusión que éste medio cromogénico es de gran utilidad para facilitar el aislamiento, diferenciación e identificación presuntiva rápida tanto de cepas puras como de cultivo mixtos o de especímenes clínicos. (G.E. Giusiano, 2013)

En una investigación realizada en el año 2013 por Pedro García y colaboradores con el tema: “Identificación de levaduras de interés clínico en el medio de cultivo CHROMagar Candida” evaluaron la utilidad del medio de cultivo CHROMagar Candida en la identificación presuntiva de levaduras, ensayaron 36 especies diferentes pertenecientes a nueve géneros, consideraron la coloración, textura y morfología de las colonias después de 72 horas, dando como resultado un espectro de colores muy variado: blanco, verde, azul, rosa, beige y lila, con variaciones de intensidad en algunos de estos colores.

Estos resultados compararon con los obtenidos mediante los métodos convencionales para la identificación de levaduras, la sensibilidad y especificidad de este medio cromogénico fueron superiores al 97%. Los investigadores llegaron a la conclusión que el medio CHROMagar Candida resultó de gran utilidad para el cultivo de muestras clínicas, y su empleo para la identificación de levaduras mostró un rendimiento del 97,5%, cercano al 100% de los métodos convencionales.

La principal ventaja de este medio es la detección de un patógeno determinado en una muestra y el reconocimiento de mezclas de microorganismos con características coloniales muy similares. (García Martos, 2013)

Así mismo en la investigación realizada en el año 2014 en la ciudad de Buenos Aires Argentina por María E. Ochiuzzi, Alicia Arechavala, Liliana Guelfand y colaboradores con el tema: “Evaluación de las tarjetas AST-YSO1 del sistema Vitek 2 para determinar la sensibilidad a antifúngicos de levaduras del género Candida”, evaluaron los resultados de sensibilidad a los antifúngicos de diversas especies de Candida utilizando el sistema automatizado Vitek 2 y lo compararon con los resultados obtenidos por el método de referencia.

Para confirmar la identidad y pureza del material recibido todas las cepas se sembraron en agar cromogénico para levaduras CHROMagar Candida, el sistema automatizado detectó correctamente el valor de CIM para diversas especies de Cándida y presentó una excelente concordancia con el método de referencia propuesto.

Para esta investigación el inóculo para el sistema Vitek 2 prepararon a partir de una suspensión de levaduras en 3 ml de solución fisiológica-agua destilada (1:1), hasta una turbidez equivalente a 1,8-2,2 de McFarland, el inóculo preparado se dispensó en la tarjeta AST YSO1 a través de un tubo de poliestireno estéril. Los cassettes fueron colocados en el instrumento Vitek 2; las tarjetas se llenaron e incubaron en el equipo y luego se leyeron por espectrofotometría. El tiempo de incubación varió de 11,7 a 26,5 h (promedio 15,5 h), en función de la tasa de crecimiento en el pocillo.

(María E. Ochiuzzi A. A., 2014)

Sánchez et al (2023) en “Diversidad de especies de *Cándida* recuperadas de la cavidad bucal de pacientes oncológicos en Barranquilla, Colombia”, emplearon un diseño de corte transversal. A través de un muestreo a conveniencia, se seleccionaron 60 pacientes oncológicos con candidiasis oral.

Las muestras recolectadas cultivaron en agar Sabouraud cloranfenicol, CHROMagar® *Candida*, y agar Sabouraud dextrosa, además utilizaron el sistema automatizado VITEK 2®. El análisis de los datos realizaron mediante estadística descriptiva, prueba de Chi cuadrado (X^2) y análisis bivariado con el programa Statgraphics Centurión XVII, calculando la razón de momios (OR) para la probabilidad de ocurrencia.

Identificaron 107 cepas de *Candida*, pertenecientes a 15 especies diferentes, siendo *Candida albicans* la más prevalente con un 23% (58 cepas). La identificación y la sensibilidad antifúngica se determinaron con el método automatizado VITEK 2® (Biomérieux), utilizando las tarjetas YST TEST KIT. Este sistema les permitió identificar simultáneamente las especies y evaluaron su sensibilidad a los antifúngicos. De los 58 cultivos obtenidos en los medios CHROMagar® *Candida* y VITEK 2®, el 66% (38/58) correspondieron a cultivos mixtos, mientras que el 34% (20/58) fueron cultivos puros. (Sanchez & Colaboradores, 2023)

Guo et al. (2020) en su estudio: “Evaluation and comparison of the performance of chromogenic medium Chromoagar *Candida* and automated system VITEK 2 for the

identification of *Candida* species, including *C. albicans*.” llevaron a cabo un estudio en donde evaluaron y compararon el desempeño del medio cromogénico Chromoagar *Candida* y el sistema automatizado VITEK 2 para la identificación de especies de *Candida*, incluyendo *Candida albicans*.

Recolectaron 295 aislamientos clínicos de *Cándida* de diversas fuentes, todos los aislamientos fueron sometidos a identificación mediante dos métodos: 1) Agar Chromoagar *Candida*, donde se observó el color de las colonias para presumir la especie, y 2) Sistema automatizado VITEK 2, utilizaron el panel de identificación de levaduras.

Los resultados mostraron una alta concordancia entre ambos métodos de identificación de *C. albicans*, el agar Chromoagar *Candida* tuvo una sensibilidad del 98.6% y una especificidad del 97.8%, mientras que el sistema VITEK 2 mostró una sensibilidad del 97.2% y una especificidad del 97.8%, la concordancia general entre CHROMagar *Candida* y VITEK 2 para la identificación de especies de *Cándida* fue del 97.6%. Estos hallazgos demuestran que tanto el agar cromogénico como el sistema automatizado VITEK 2 son métodos confiables y comparables para la identificación de *C. albicans* y otras especies de *Candida*. (Guo et al., 2020)

En un estudio realizado por Guinea et al. (2018) con el tema: “Performance of Chromoagar *Candida* and VITEK 2 for the identification of *Candida* species causing invasive candidiasis and candidaemia”. Compararon la precisión del medio cromogénico CHROMagar *Candida* y el sistema automatizado VITEK 2 para la identificación de *Candida albicans* y otras especies de *Candida*, Recolectaron 250 aislamientos clínicos de *Candida*.

Los resultados mostraron que el método cromogénico CHROMagar *Candida* tuvo una sensibilidad superior al 90% y una especificidad también mayor al 90% para la detección de *C. albicans*, en comparación con la identificación mediante el sistema automatizado VITEK 2.

Además, el agar cromogénico demostró una precisión general superior al 90% para la identificación correcta de las principales especies de *Candida*, incluyendo *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* y *C. parapsilosis*, en comparación con el sistema VITEK 2. Estos hallazgos indicaron que el método cromogénico CHROMagar *Candida* fue una alternativa confiable y precisa para la identificación de especies de *Candida*, con un desempeño superior al sistema automatizado VITEK 2 para este propósito. (Guinea et al., 2018)

Otro estudio realizado por Heel y Doern (2017) “*Candida auris*: On the Rise Globally as a Multidrug-Resistant Pathogen” realizaron una revisión exhaustiva de la evidencia disponible sobre el uso de medios cromogénicos, como CHROMagar *Candida*, en comparación con los sistemas automatizados para la identificación de especies de *Candida auris*.

Los autores analizaron múltiples estudios que evaluaron el desempeño de estos dos enfoques metodológicos para la detección e identificación de *Candida spp.* a partir de muestras clínicas, los hallazgos de la revisión indican que los medios cromogénicos, como CHROMagar *Candida*, proporcionan resultados rápidos y confiables para la identificación de las principales especies de *Cándida*, incluyendo *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* y *C. parapsilosis*, entre otras.

Además, determinaron que los métodos cromogénicos presentan una sensibilidad y especificidad superior al 90% en comparación con los sistemas automatizados de identificación, como VITEK 2. (Heel y Doern 2017)

Según Lata et al. (2021) en su investigación “Evaluation and comparison of the performance of conventional and automated identification methods for *Candida* species in clinical samples.” llevaron a cabo un estudio retrospectivo con el objetivo de evaluar y comparar el desempeño de métodos convencionales y automatizados para la identificación de especies del género *Candida* a partir de muestras clínicas, analizaron un total de 500 muestras sospechosas de candidiasis, las cuales fueron cultivadas en el medio

cromogénico Chromagar Candida y posteriormente identificadas mediante el sistema automatizado VITEK 2.

Los hallazgos del estudio revelaron que el sistema VITEK 2 presentó una precisión del 92.4% en la identificación de especies de Candida, superando el 88.2% obtenido por el medio cromogénico. Además, los autores reportaron una prevalencia del 67.8% de infecciones por especies de Candida no-albicans, siendo las más comunes *C. tropicalis*, *C. glabrata* y *C. krusei*.

Demostraron que el sistema automatizado VITEK 2 ofreció un mejor desempeño en comparación con el medio cromogénico para la identificación precisa de especies de Candida. Asimismo, resaltaron la creciente importancia de las especies no-albicans como agentes etiológicos de candidiasis en el contexto clínico analizado.

(Lata et al.,2021)

Sanchini et al. (2014) realizaron un estudio con el objetivo de comparar la efectividad del medio cromogénico CHROMagar Candida y el sistema automatizado VITEK 2 para la detección e identificación de especies del género Candida, evaluaron un total de 500 muestras clínicas sospechosas de candidiasis que fueron cultivadas en el medio cromogénico CHROMagar Candida y posteriormente identificadas mediante el sistema automatizado VITEK 2.

Los resultados del estudio mostraron que ambos métodos, tanto el CHROMagar Candida como el VITEK 2, tuvieron un desempeño confiable y comparable para la detección e identificación de las especies de Candida. El sistema VITEK 2 alcanzó una precisión del 92.4% en la identificación, mientras que el medio cromogénico CHROMagar Candida obtuvo un 88.2% de precisión, concluyeron que tanto el método convencional CHROMagar Candida como el sistema automatizado VITEK 2 son efectivos y confiables para la identificación de especies de Candida en muestras clínicas. (Sanchini et al., 2014)

Nasér et al. (2018) en su investigación: “Evaluation of the reliability of Chromoagar Agar versus VITEK in *Candida albicans*” realizaron un estudio con el objetivo de evaluar la precisión del medio cromogénico CHROMagar Candida en la identificación de *Candida albicans*. Para ello, analizaron un total de 400 muestras clínicas utilizando el método de CHROMagar Candida y pruebas bioquímicas convencionales como método de referencia.

Los resultados del estudio mostraron que el medio cromogénico CHROMagar Candida tuvo una sensibilidad del 92.3% y una especificidad del 97.4% para la identificación de *Candida albicans* en comparación con las pruebas bioquímicas convencionales. Los autores concluyeron que el CHROMagar Candida es un método confiable y preciso para la identificación de *Candida albicans* en muestras clínicas. (Nasér et al. 2018)

Según Panizo et al (2014) en su: “Estudio comparativo entre los sistemas automatizados Vitek YBC® y Microscan Walk Away RYID® con los métodos fenotípicos convencionales para la identificación de levaduras de interés clínico” detallaron que el sistema Vitek fue concordante en un 88,4% cuando se comparó con los métodos fenotípicos convencionales, utilizaron 193 aislamientos de levaduras provenientes de muestras clínicas y cinco cepas controles.

Identificaron todas las levaduras por los métodos automatizados Vitek YBC®, Microscan Walk Away RYID® y los métodos fenotípicos convencionales de asimilación de carbohidratos, visualización de la morfología microscópica con agar harina de maíz y el uso de agar cromogénico, para evaluar las variables utilizaron tablas de contingencia de 2×2, Chi cuadrado de Mc Nemar, el índice Kappa, y calcularon los valores de concordancia, así como los errores mayores y menores de los métodos automatizados. Llegaron a la conclusión que los sistemas automatizados son una herramienta valiosa, sin embargo, la experiencia y el criterio del microbiólogo son una fortaleza importante para asegurar la calidad de los resultados. (Giuseppe, 2014)

Según Alastruey-Izquierdo et al. (2021) en su artículo: “Evaluation of CHROMagar Candida II medium for the identification of *Candida* species”, realizaron un estudio con

el objetivo de evaluar el rendimiento del medio CHROMagar Candida II para la identificación de especies de *Cándida*. Para ello, analizaron un total de 400 aislamientos clínicos de *Candida*, utilizando CHROMagar Candida II y métodos de referencia convencionales como pruebas bioquímicas y espectrometría de masas.

Los resultados del estudio mostraron que el medio CHROMagar Candida II tuvo una sensibilidad del 97.8% y una especificidad del 98.2% para la identificación de *Candida albicans* en comparación con los métodos de referencia. Además, el medio cromogénico demostró una precisión global del 97.5% en la identificación correcta de las especies de *Candida*. (Alastruey-Izquierdo et al. 2021)

En “Comparison of CHROMagar Candida and Vitek 2 systems for the identification of *Candida* species” realizada por: Castanheira et al. (2020) realizaron un estudio con el objetivo de comparar el rendimiento del medio cromogénico CHROMagar Candida y el sistema automatizado Vitek 2 para la identificación de especies de *Cándida*. Para ello, analizaron un total de 475 aislamientos clínicos de *Candida*, utilizando ambos métodos de identificación.

Los resultados del estudio mostraron que CHROMagar Candida tuvo una precisión del 96.5% en la identificación correcta de *Candida albicans*, en comparación con el sistema Vitek 2 como método de referencia. Además, el medio cromogénico presentó una sensibilidad del 98.1% y una especificidad del 97.7% para la detección de *C. albicans*.

Por otro lado, el sistema Vitek 2 obtuvo una precisión general del 93.3% en la identificación de las especies de *Candida* evaluadas. Los autores concluyeron que tanto CHROMagar Candida como el sistema Vitek 2 son métodos fiables y precisos para la identificación presuntiva de especies de *Candida*, incluyendo *C. albicans*, en muestras clínicas. (Castanheira et al. 2020)

Según Tsaltas et al. (2021), en su artículo investigativo sobre: “Evaluation of the accuracy of chromogenic medium CHROMagar Candida II for the identification of *Candida* specie” evaluaron la precisión del medio cromogénico CHROMagar Candida II para la

identificación de especies de *Candida*, analizaron un total de 250 aislamientos clínicos de *Candida*, utilizando CHROMagar *Candida* II y métodos de referencia convencionales, como pruebas bioquímicas y espectrometría de masas.

Los resultados del estudio demostraron que el medio CHROMagar *Candida* II tuvo una sensibilidad del 98.4% y una especificidad del 97.8% para la identificación de *Candida albicans*, en comparación con los métodos de referencia. Además, el medio cromogénico alcanzó una precisión general del 98% en la identificación correcta de las especies de *Candida* evaluadas.

Los autores concluyeron que CHROMagar *Candida* II es un método rápido, confiable y preciso para la identificación presuntiva de especies de *Candida*, incluida *C. albicans*, en muestras clínicas. Estos hallazgos respaldan el uso de este medio cromogénico como una herramienta de diagnóstico eficiente en la práctica clínica de laboratorio.

(Alastruey-Izquierdo et al. 2021)

Jiang et al. (2020) en su investigación: "Evaluation of the performance of germ tube test and VITEK 2 system for the identification of *Candida albicans*" llevaron a cabo un estudio para evaluar el rendimiento de la prueba del tubo germinativo y el sistema automatizado VITEK 2 en la identificación de *Candida albicans*, analizaron 273 aislamientos clínicos de *Candida*.

Los resultados mostraron que la prueba del tubo germinativo tuvo una sensibilidad del 97.7% y una especificidad del 98.2% para la detección de *C. albicans*, en comparación con los métodos de referencia. Por su parte, el sistema VITEK 2 obtuvo una precisión del 95.2% en la identificación correcta de las especies de *Candida*, concluyeron que tanto la prueba del tubo germinativo como el sistema VITEK 2 son métodos confiables y precisos para la identificación presuntiva de *C. albicans* en muestras clínicas.

(Jiang et al. 2020)

Según Wang et al. (2021) en su investigación: "Evaluation and comparison of the performance of germ tube test and VITEK 2 system for the identification of *Candida*

albicans" evaluaron y compararon el rendimiento de la prueba del tubo germinativo y el sistema VITEK 2 en la identificación de *Candida albicans*, analizaron un total de 328 aislamientos de *Candida*.

Los resultados indicaron que la prueba del tubo germinativo tuvo una sensibilidad del 99.1% y una especificidad del 97.5% para la detección de *C. albicans*, en comparación con los métodos de referencia. Por otro lado, el sistema VITEK 2 presentó una precisión del 94.8% en la identificación correcta de las especies de *Candida*, lo que indica que la prueba del tubo germinativo es un método rápido y altamente confiable para la identificación presuntiva de *C. albicans*, mientras que el sistema VITEK 2 también mostró un rendimiento aceptable. (Wang et al. 2021)

Según Ramos et al. (2019) en su estudio "Comparison of the performance of four different methods for the identification of *Candida* species" evaluaron y compararon el desempeño de cuatro métodos diferentes (prueba del tubo germinativo, CHROMagar *Candida*, VITEK 2 y MALDI-TOF MS) en la identificación de especies de *Candida*, incluyendo *Candida albicans*.

La prueba del tubo germinativo y la espectrometría de masas MALDI-TOF MS mostraron la mayor precisión en la identificación de *Candida albicans*, con tasas de precisión del 97.1% y 98.5% respectivamente, el sistema VITEK 2 presentó una tasa de precisión del 92.6% y el medio CHROMagar *Candida* del 88.2% en la identificación de *C. albicans*.

El análisis estadístico reveló diferencias significativas ($p < 0.05$) en el rendimiento de los cuatro métodos evaluados para la identificación de especies de *Candida*, las técnicas que demostraron una mayor concordancia con los métodos de referencia fueron la prueba del tubo germinativo y MALDI-TOF MS. (Ramos et al. 2019)

Dede et al. (2021) en su investigación: "Performance of the germ tube test and VITEK 2 yeast identification system in the diagnosis of *Candida albicans*" compararon el

rendimiento de la prueba del tubo germinativo y el sistema VITEK 2 en la identificación de *Candida albicans*.

Los resultados mostraron que la prueba del tubo germinativo presentó una sensibilidad del 97.2% y una especificidad del 92.3% para la identificación de *C. albicans*. Por otro lado, el sistema VITEK 2 obtuvo una sensibilidad del 94.4% y una especificidad del 96.2% en la identificación de esta especie de Cándida. (Dede et al. 2021)

2.2. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA

CANDIDIASIS

Es una infección primaria o secundaria, causada por levaduras del género *Candida*, con manifestaciones clínicas extremadamente variables de evolución aguda, subaguda, crónica o episódica, en las cuales el hongo puede causar lesiones cutáneas, mucho-cutáneas, profundas o diseminadas. (Biasoli, 2020)

Estas infecciones generalmente están producidas por *C. albicans* siguiendo en frecuencia *C. glabrata*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*. (Pascual, 2012)

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Teniendo en cuenta la reproducción sexuada de las levaduras se las incluye en las subdivisiones Ascomycotina, Basidiomycotina y Deuteromycotina (cuando no se conoce la reproducción sexuada).

Tabla 1. Clasificación taxonómica del género *Cándida*.

NIVEL		NOMBRE
DOMINIO	➔	Eucarya.
REINO	➔	Fungi
DIVISIÓN	➔	Eumycota
SUBDIVISIÓN	➔	Deuteromycota
CLASE	➔	Blastomycetes
FAMILIA	➔	Cryptococcaceae
GÉNERO	➔	Candida
ESPECIES	➔	<i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> , etc.

Elaboración: Lcda. Lissette Torres

CANDIDIASIS VAGINAL

Se trata de una infección micótica en la región vaginal, también conocida como vulvovaginitis candidiásica, que es causada por varios tipos de hongos del género *Candida*. El más común es *Candida albicans*, un hongo que suele estar presente de manera normal en la flora vaginal de la mujer, pero que puede causar infección cuando se reproduce de manera excesiva.

Esta infección es muy común en mujeres en edad reproductiva y se caracteriza por síntomas como picazón y ardor en la zona genital, enrojecimiento de la vulva, molestias al orinar, dolor o molestias durante las relaciones sexuales, y la presencia de un flujo vaginal de aspecto blanquecino, similar al yogur. (Eugenia, 2020)

CAUSAS

Las causas que pueden provocar un crecimiento excesivo de Candida en la vagina incluyen:

- Cambios en el pH vaginal que lo vuelven menos ácido.
- Cambios hormonales, como los que ocurren durante el embarazo, el uso de anticonceptivos hormonales o la menopausia.
- Alteraciones en la flora bacteriana, especialmente después de tomar antibióticos.
- Debilitamiento del sistema inmunitario en personas con VIH, cáncer, diabetes u obesidad. (Eugenia, 2020)

TRANSMISIÓN

La candidiasis no se clasifica como una enfermedad de transmisión sexual, ya que puede desarrollarse sin necesidad de mantener relaciones sexuales. Sin embargo, si una mujer tiene una infección por Candida, puede transmitirla al hombre a través del sexo oral o vaginal. En este escenario, el hombre infectado podría, a su vez, transmitir la infección a otra persona a través de relaciones sexuales orales o vaginales.

(Eugenia, 2020)

DIAGNÓSTICO

Para su diagnóstico, la mayoría de las veces es suficiente con los síntomas y una exploración ginecológica, aunque si se desea un diagnóstico de confirmación se pueden examinar muestras de flujo vaginal al microscopio directamente o tomar una muestra con cultivo posterior en el medio adecuado. (Eugenia, 2020)

CANDIDIASIS ESOFÁGICA-GASTROINTESTINAL

Involucra el esófago, estómago e intestino. La afección esofágica puede ser parte del afta que se inicia en la boca. Puede aparecer en pacientes tratados con antibióticos, corticoides, radiaciones, con diabetes, HIV (+). (Biasoli, 2020)

Los síntomas clínicos más frecuentes son odinofagia, disfagia, dolor retroesternal, hemorragia, náuseas, vómitos, aunque el cuadro puede ser asintomático. Por endoscopia se observan lesiones similares a las aftas y se clasifican en diferentes grados:

- I: solo unas pocas placas de 1 mm
- II: placas blancas o eritematosas de mayor tamaño
- III: placas nodulares y elevadas, ulceración franca
- IV: ídem que tipo III + estrechamiento del lumen

El estómago es el segundo sitio más frecuentemente atacado, están predispuestos los pacientes con cáncer o tratamientos prolongados con depresores del pH. La infección gástrica puede manifestarse como un afta, pero más frecuentemente se produce una úlcera en la mucosa. La mayoría de estos casos son diagnosticados por autopsia. La enteritis por *Candida* es una afección rara. Es más frecuente en pacientes con enfermedades malignas avanzadas, pacientes SIDA o con inmunosupresión severa, el diagnóstico es muy difícil de establecer ya que requiere de la demostración de invasión de la mucosa intestinal por *Candida* o el aislamiento repetido del microorganismo de lesiones ulcerativas. (Biasoli, 2020)

Candidiasis cutáneo-mucosas

Las manifestaciones habituales son intertrigo en pliegues o región perineal y onicomicosis. Debe tratarse con fluconazol o itraconazol. (Pascual, 2012)

Se relaciona con diversos factores de riesgo, como el tratamiento con antibióticos sistémicos, corticoides o radioterapia y sequedad de mucosas en relación con enfermedades sistémicas o fármacos, se manifiesta por placas blanquecinas en la orofaringe, mucosa oral y paladar, también aparece en la lengua, pero cuando hay lesiones aisladas en ésta debe hacer pensar en otras entidades como la leucoplaquia. (Pascual, 2012)

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación adopta un enfoque cuantitativo, utilizando la recolección de datos para poner a prueba hipótesis mediante mediciones numéricas y análisis estadístico. Se trata de un estudio de tipo no experimental, ya que las variables se observaron tal como ocurrieron en su contexto sin ser manipuladas o controladas.

En cuanto al diseño, se clasifica como analítico, ya que se compararán dos metodologías para la detección de *Candida*: la metodología manual (tubo germinativo y Chromagar *Candida*) y la metodología sistemática automatizada VITEK. Este estudio se enmarca en un diseño observacional de corte transversal, puesto que la investigación se llevará a cabo durante un período específico, desde el año 2023 hasta el 2024.

Desde una perspectiva cronológica, la investigación se considera prospectiva, ya que se establecerá la causa para entender la consecuencia. Se analizarán los criterios de inclusión y exclusión, y se seleccionarán diversas variables para su estudio e identificación.

3.2. POBLACIÓN O MUESTRA

Para la investigación, se estudió el universo de todos los pacientes que acudieron al Laboratorio Automatizado “Zamora”, ubicado en la ciudad de Ambato, este universo incluyó tanto a hombres como a mujeres mayores de edad, la población validada consistió en aquellos que dieron positivo para *Candida spp.*

Para la selección de las muestras que se compararon entre la metodología manual y la automatizada, se tomaron únicamente las muestras positivas para *Candida albicans* en Agar Cromogénico CHROM-agar. Adicionalmente, todos los pacientes debieron cumplir con los criterios de inclusión y exclusión.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Hombres y mujeres mayores de edad.
- Pacientes que acuden al Laboratorio Automatizado “Zamora”
- Pacientes que firmen el consentimiento informado para participar en el estudio
- Pacientes con exámen en fresco para levaduras positivos
- Pacientes con test de aminas positivo
- Mujeres que presentan Vaginitis
- Pacientes que presentan Candidiasis orofaríngeas
- Pacientes que presentan Candidiasis cutáneo-mucosas

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Hombres y mujeres menores de edad.
- Pacientes que revoquen el consentimiento informado para participar en el estudio
- Pacientes que estén con tratamiento con antibióticos
- Paciente que estén con tratamiento antifúngico

3.3. HIPÓTESIS

HIPÓTESIS NULA (H₀)

No existe concordancia en la identificación de *Candida albicans* a través de los métodos de identificación manuales y el método automatizado VITEK en pacientes que acuden al laboratorio clínico automatizado “Zamora”.

HIPÓTESIS ALTERNA (H_A)

Existe concordancia en la identificación de *Candida albicans* a través de los métodos de identificación manuales y el método automatizado VITEK en pacientes que acuden al laboratorio clínico automatizado “Zamora”.

3.4. RECOLECCIÓN LA DE INFORMACIÓN

RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Las muestras se recolectaron de 100 pacientes que acudieron al Laboratorio Automatizado “Zamora”, únicamente ingresaron al estudio las muestras que dieron positivo para *Candida albicans*. Una vez seleccionadas las muestras, cada una fue apropiadamente rotulada con el nombre, edad y sexo del paciente, las muestras fueron aisladas inmediatamente después de la recolección.

PROCESAMIENTO DE LABORATORIO

EXÁMEN EN FRESCO

FUNDAMENTO

El exámen en fresco es uno de los procedimientos más fáciles de realizar y nos permite observar el movimiento, así como la morfología de las estructuras presentes en la secreción. (Bernard, 2005)

PROCEDIMIENTO

1. Verificar que las muestras estén identificadas correctamente.
2. Colocar 0.5 mL de solución salina en el tubo con los hisopos de la muestra.
3. Homogenizar
4. Colocar una gota de la solución entre porta y cubreobjetos.
5. Observar al microscopio
6. Reportar:

Células epiteliales: de + a +++

Leucocitos: de + a +++

Bacterias: + a +++

Hematíes: + a +++

Si hay presencia de levaduras o hifas de hongos

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:

El análisis en fresco permite observar estructuras y microorganismos presentes en la secreción vaginal. (Bernard, 2005)

PRUEBA DEL TUBO GERMINAL

FUNDAMENTO:

Es un método para identificar levaduras, es considerada como una prueba específica para diferenciar *Candida albicans* del tipo “no albicans”. Un tubo germinal es una extensión filamentosas de una levadura similares a hifas que generalmente no presentan estrechamiento en su punto de origen. Pueden tener una longitud de tres a cuatro veces el diámetro de la célula madre y la mitad de su ancho. (Betty A. Forbes, 2007) y (Koneman E, 2008)

PROCEDIMIENTO:

1. Rotular los tubos a utilizarse para una correcta identificación.
2. Trasvasar de 0.5-1 mL de suero o plasma de conejo o humano en un tubo de ensayo.
3. Esterilizar el asa a utilizarse
4. Suspender en el tubo con suero o plasma una porción pequeña de una colonia aislada de levadura.
5. Incubar el tubo a 35-37°C por 2 horas como máximo.
6. Colocar una gota de la suspensión entre porta y cubre objetos
7. Examinar al microscopio buscando la presencia de tubos germinales.
8. Esta prueba es invalida si el exámen se realiza luego de transcurridas las 2 horas (Koneman E, 2008)

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:

- PRUEBA NEGATIVA: no forma tubos germinales por lo tanto es *Candida* de tipo “no albicans”
- PRUEBA POSITIVA: formación de tubos germinales por lo que es *Candida* de tipo albicans. (Koneman E, 2008)

MEDIO CROMOGÉNICO CHROMAGAR-CÁNDIDA

Es un medio utilizado para aislar e identificar las principales especies de *Candida* entre ellas: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata* y *Candida krusei* a partir de muestras clínicas. Este agar inhibe el crecimiento de las bacterias, por sus propiedades puede ser utilizado como medio de aislamiento selectivo para otras especies de levaduras y para hongos filamentosos. (Dickinson, 2017)

COMPOSICIÓN REACTIVOS

Formula* por litro de agua purificada

Cromopeptona.....	10.0 g
Glucosa.....	20.0 g
Mezcla cromógena.....	2.0 g
Cloranfenicol.....	0.5 g
Agar.....	15.0 g
pH 6.0 ± 0.3	

* Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento (Dickinson, 2017)

FUNDAMENTO:

Es un medio selectivo y de diferenciación para el aislamiento de hongos. Con la inclusión de sustratos cromógenos en el medio, colonias de *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata* y *Candida krusei* producen colores diferentes, permitiendo la detección directa de las especies de levadura en la placa de aislamiento. Las colonias de *Candida albicans* presentan un color de verde claro a mediano, *Cándida tropicalis* aparecen como azul verdoso a azul metálico, *Candida glabrata* aparecen de un color malva a malva oscuro o en forma ocasional pueden ser de color crema y las colonias de *Candida krusei* se presentan de color rosado con borde blancuzco. (Dickinson, 2017)

PREPARACIÓN:

1. Suspender 47.7 gramos del medio deshidratado en un litro de agua destilada y mezclar muy bien.
2. Calentar con agitación frecuente y hervir durante 1 minuto para disolver completamente el polvo.
3. Enfriar a 50° y verter en las placas Petri dejando solidificar por unos minutos.
4. Refrigerar para una correcta conservación. (Dickinson, 2017)

SIEMBRA EN MEDIO CHROM-AGAR CANDIDA

Aislamiento por técnica de agotamiento:

1. Rotular los medios cromogénicos según corresponda.
2. Tomar una colonia aislada con el asa esterilizada y fría.
3. Estriar en forma de zig-zag la primera porción del agar arrastrando de la inoculación primaria de la placa.
4. Girar la placa 90° y estriar nuevamente sin repasar la sección del medio que ya hemos sembrado.
5. Volver a girar 90° y terminar el estriado en el último cuadrante con una elegante cola de ratón.
6. Sellar el medio con papel Petrifilm (Betty A. Forbes, 2007)

INCUBAR:

- ✓ Incubar el medio sembrado en una estufa a 35-37° de temperatura.
- ✓ Realizar la lectura a las 24, 48 y 72 horas para dar un resultado positivo o negativo según corresponda. (Betty A. Forbes, 2007)

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:

Observar las características morfológicas de las colonias y su color que determinan la especie presente en la muestra:

Tabla 2 Características morfológicas de las principales especies de *Candida*.

ESPECIE	COLOR	ASPECTO
<i>Candida albicans</i>	Colonias de color verde claro a verde mediano.	Lisas y brillantes
<i>Candida glabrata</i>	Colonias color malva oscuro y en forma ocasional de color crema.	Lisas y brillantes
<i>Candida tropicalis</i>	Colonias de color azul verdoso o azul metálico.	Lisas con borde micelial
<i>Candida krusei</i>	Colonias color rosado con borde blancuzco.	Secas, opacas y rugosas.

Elaboración: Lcda. Lissette Torres

SISTEMA AUTOMATIZADO VITEK

Es un equipo sistémico automatizado que utiliza tarjetas bioquímicas individuales listas para su uso que ofrecen un menú integral de pruebas disponibles, ofrece automáticamente la validación de cada resultado de un test de susceptibilidad en tan sólo 5 horas. Señaliza cuando sus resultados están listos, ahorrando tiempo y aportándole un perfil fenotípico de los mecanismos de resistencia a las bacterias para cada aislado testado, con indicadores fáciles de leer con códigos de color. (Sanders, 2001)

FUNCIONAMIENTO:

Después del aislamiento primario del organismo, se minimiza el manejo en un sencillo inóculo estandarizado, se coloca el inóculo en el casete de VITEK, en el SMART Carrier,

donde se vinculan virtualmente la tarjeta de VITEK y la muestra. Una vez que se carga el casete, el sistema gestiona la incubación y la lectura de cada tarjeta sin su intervención. (Rommler, 2006).

TARJETAS BIOQUÍMICAS VITEK

Consiste en una tarjeta plástica descartable con 30 pocillos que contienen pruebas bioquímicas convencionales y controles negativos, se lo utiliza con el sistema automatizado Vitek que en muchos laboratorios se usa para la identificación bacteriana y las pruebas de sensibilidad, pero también se utiliza para la identificación de levaduras. Para identificación rápida y precisa de levaduras patógenas utilizamos las tarjetas bioquímicas de identificación YST que identifica hasta 50 levaduras. (Rommler, 2006)

ELIMINACIÓN DE MUESTRAS

Una vez finalizados los análisis, las muestras fueron eliminadas siguiendo los protocolos establecidos para el manejo de residuos biológicos:

1. Los cultivos en CHROMagar se colocaron con la tapa abierta en una bolsa irrompible y resistente al calor, la cual se selló con un nudo.
2. No se retiró el material contaminado una vez que ha sido colocado en los recipientes destinados a su recolección.
3. Se autoclavó durante una hora la funda con los cultivos en una autoclave destinada solo para desechos.
4. Por último se destapo y dejó que se enfrié y se desechó la funda de cultivos en el recipiente de desechos infecciosos.

3.5. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el procesamiento de la información, se utilizó un registro en Excel con todos los datos de los pacientes que ingresaron al estudio. Se usó el programa estadístico SPSS V25, aplicando la prueba chi-cuadrado para mostrar los resultados positivos y negativos de ambos métodos. También se realizó la prueba de McNemar para determinar si existió una diferencia significativa entre los dos métodos según los datos proporcionados.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

Los resultados siguientes expuestos corresponden al tema investigado sobre: “Evaluación de la confiabilidad de la metodología manual frente a la metodología automatizada en la identificación de *Candida albicans*”.

PRIMER OBJETIVO:

Identificar *Candida albicans* por tubo germinativo, medio de cultivo Chromagar y el método sistemático automatizado VITEK.

En la **Tabla 3** se presenta la distribución de los 82 pacientes cuyas muestras resultaron positivas para *Candida albicans* en el estudio. De este total, 67 eran de género femenino y 15 de género masculino. En términos de edad, 16 participantes tenían entre 18 y 26 años, 59 se encontraban en el rango de 27 a 64 años, y 7 pertenecían al grupo de 65 a 89 años.

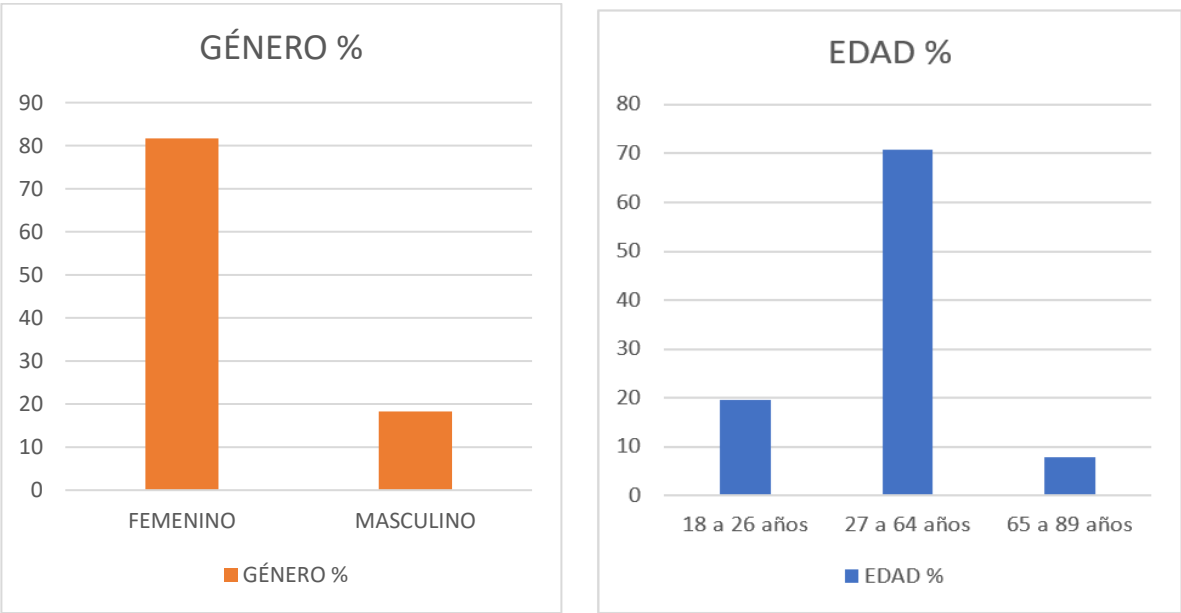
Tabla 3.- Género y edad de los pacientes del estudio atendidos en el Laboratorio Clínico Automatizado Zamora. Período junio 2023 – abril 2024.

Muestra de <i>Candida albicans</i>			
GÉNERO		EDAD	
FEMENINO	67	18 a 26	16
MASCULINO	15	27 a 64	59
		65 a 89	7
TOTAL	82	TOTAL	82

Autor: Lcda. Lissette Torres

En la **Ilustración 1** se puede apreciar la distribución del género y la edad de los pacientes. Se destaca que el 81.71% (67 de 82) de las muestras corresponde a pacientes de género femenino, mientras que el 18.29% (15 de 82) pertenece a pacientes de género masculino. En cuanto a las edades, el 19.5% de los participantes tiene entre 18 y 26 años, el 70.73% se encuentra en el rango de 27 a 64 años, y el 8% tiene entre 65 y 89 años.

Ilustración 1. Género y edad en porcentajes



Elaboración: Lcda.. Lissette Torres

Para la identificación de *Candida albicans*, un patógeno de aislamiento frecuente, se utilizó metodología manual que se comparó con el sistema automatizado VITEK. Se sembraron las 100 muestras recibidas al inicio de la investigación en agar CHROMagar, de estas, 82 resultaron positivas para *Candida albicans*, 5 para *Candida glabrata*, 10 para *Candida tropicalis* y 3 para *Candida parapsilosis*, como se detalla en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Especies de *Cándida* aisladas de muestras de pacientes atendidos en el Laboratorio Clínico Automatizado Zamora Período junio 2023 – abril 2024.

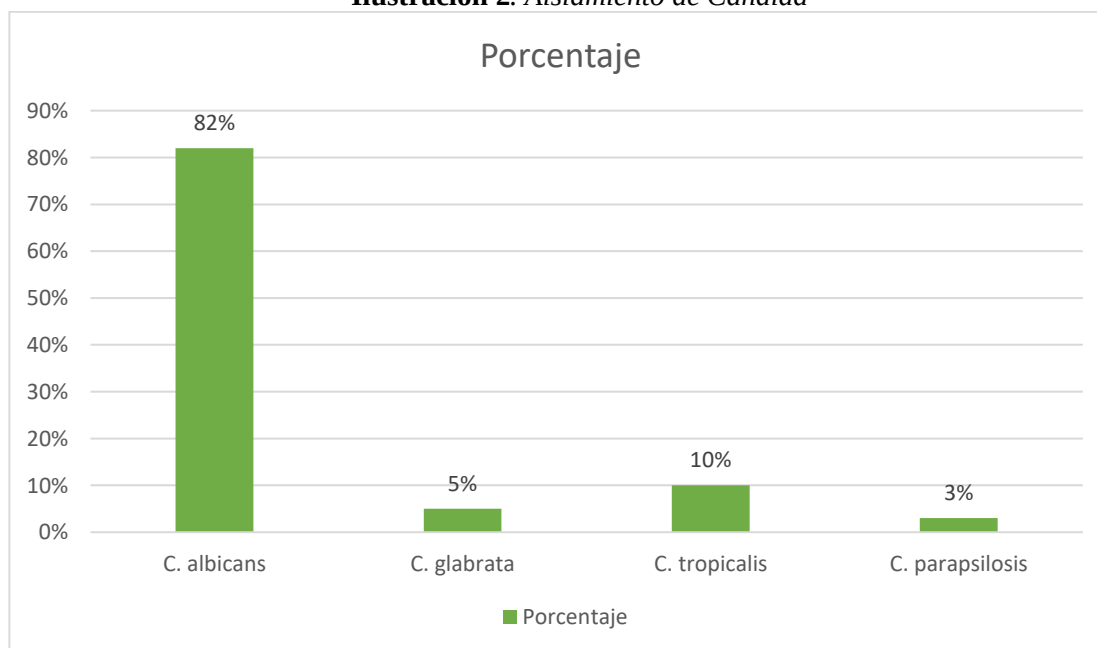
Especie de <i>Candida</i>	Número de especies	Porcentaje (%)
<i>albicans</i>	82	82

<i>glabrata</i>	5	5
<i>tropicalis</i>	10	10
<i>parapsilosis</i>	3	3
TOTAL	100	100

Autor: Lcda. Lissette Torres

En la **Ilustración 2** se presenta el porcentaje de las 100 muestras recibidas al inicio de la investigación. De estas, el 82% correspondió a 82 pacientes que dieron positivo para *Candida albicans*. Además, el 5% estuvo asociado a 5 pacientes con resultados positivos para *Candida glabrata*, el 10% a 10 pacientes con *Candida tropicalis*, y el 3% a 3 pacientes con *Candida parapsilosis*.

Ilustración 2. Aislamiento de *Cándida*



Elaboración: Lcda. Lissette Torres

Para enriquecer la investigación, se identificó el origen de cada una de las muestras recolectadas. De un total de 100 muestras, 69 (69%) correspondieron a secreciones vaginales, 14 (14%) a secreciones cutáneas, 7 (7%) a secreciones seminales, 3 (3%) a secreciones orofaríngeas y 7 (7%) a secreciones mucoides de heces líquidas, tal como se detalla en la **Tabla 5**.

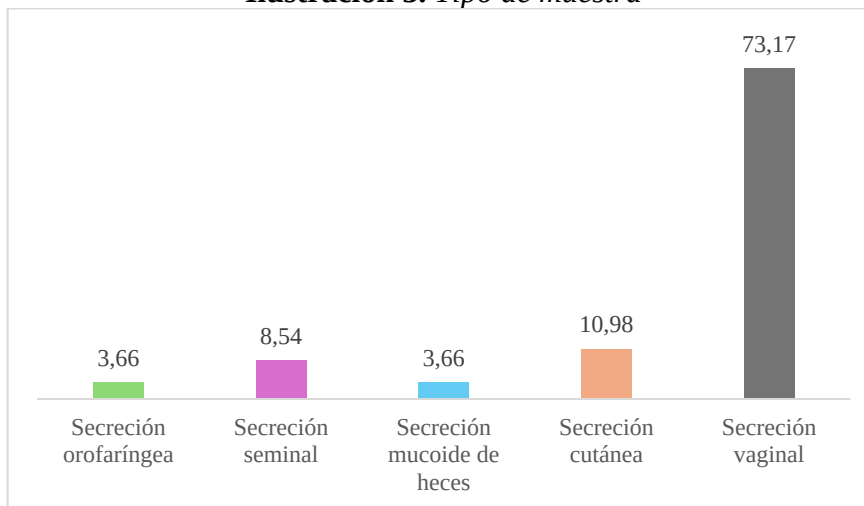
Tabla 5. Aislamientos de *Candida* de muestras de pacientes atendidos en el Laboratorio Clínico Automatizado Zamora Período junio 2023 – abril 2024.

Sitio de aislamiento	Número de aislamiento para <i>Cándida</i>	Porcentaje (%)
Secreción vaginal	69	69
Secreciones cutáneas	14	14
Secreciones seminales	7	7
Secreciones orofaríngeas	3	3
Secreciones mucoides de heces líquidas	7	7
TOTAL	100	

Autor: Lcda. Lissette Torres

En la **Ilustración 3** se presenta un análisis detallado de los 82 aislados identificados como *Candida albicans*. De estos, se observa que el 73.17% fueron obtenidos de muestras de secreción vaginal, lo que indica una prevalencia significativa en esta fuente. Además, el 10.98% de los aislados provino de secreciones cutáneas, el 8.54% de secreciones seminales, y el 3.66% correspondió tanto a secreciones orofaríngeas como a secreciones mucoides de heces líquidas. Esta distribución resalta la importancia de diferentes tipos de muestras en la identificación del patógeno.

Ilustración 3. Tipo de muestra



Elaboración: Lcda. Lissette Torres

Se llevó a cabo la prueba de tubo germinativo como método de referencia, dado que es una técnica sencilla y rápida, con una sensibilidad del 87.1% y una especificidad del 100%. Esta prueba permitió la identificación del 100% de las 82 muestras de *Candida albicans*. En contraste, los resultados para *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* y *Candida parapsilosis* fueron negativos, ya que ninguna de estas especies es capaz de producir tubos germinativos, como se detalla en la **Tabla 6**.

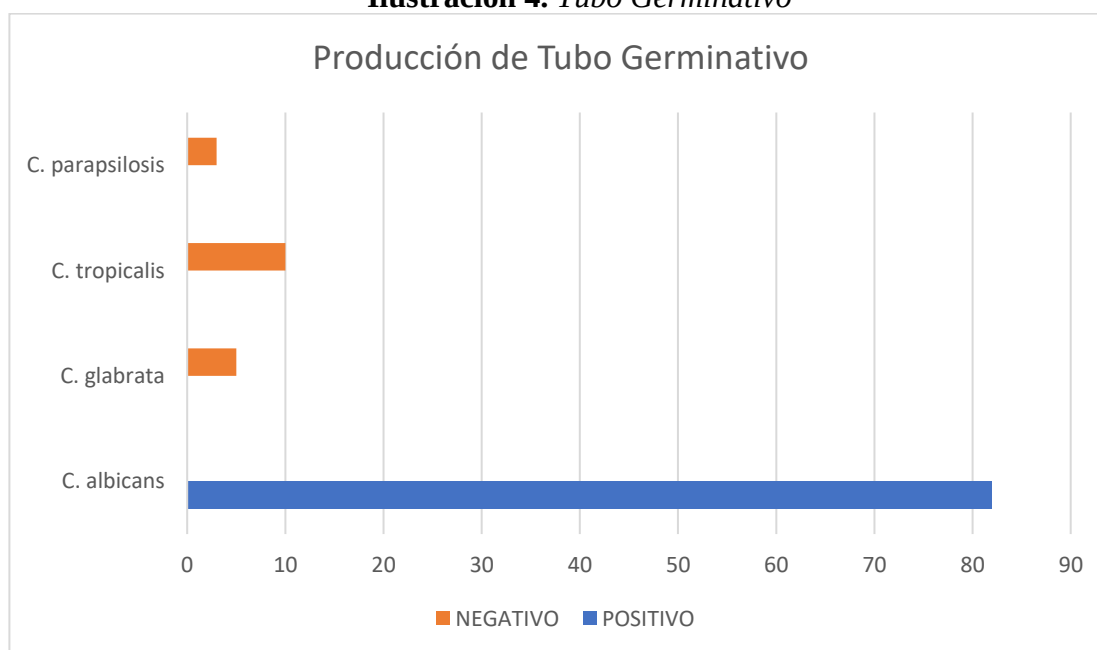
Tabla 6. Producción de tubo germinativo de las diferentes especies de *Candida* aisladas de muestras de pacientes atendidos en el Laboratorio Clínico Automatizado Zamora Período junio 2023 – abril 2024.

Espece de Cándida	Tubo germinativo	Resultado	Porcentaje (%)
<i>albicans</i>	(+)	82	100
	(-)	0	0
<i>glabrata</i>	(+)	0	0
	(-)	5	100
<i>tropicalis</i>	(+)	0	0
	(-)	10	100
<i>parapsilosis</i>	(+)	0	0
	(-)	3	100

Autor: Lcda. Lissette Torres

En la **Ilustración 4**, se presentan los resultados positivos para las 82 muestras de *Candida albicans*, las cuales fueron negativas para las demás especies. Este hallazgo se atribuye a que la prueba de tubo germinativo se utiliza principalmente para la identificación de esta especie, que tiene la capacidad de formar excreciones en forma de tubo a partir de sus células.

Ilustración 4. Tubo Germinativo



Autor: Lcda. Lissette Torres

Al utilizar este método como referencia, es posible evaluar la confiabilidad entre el medio de cultivo Chromagar y el sistema automatizado VITEK. En la comparación entre la identificación manual y la automatizada, la **Tabla 7** revela que el método manual logró identificar el 89.02% de las muestras, realizando la prueba una sola vez para 73 de ellas y repitiendo 9 muestras de *Candida albicans*. Es relevante destacar que de un total de 10 muestras de *Candida tropicalis*, se repitieron 5.

Tabla 4. Crecimiento en medio de cultivo Chromagar de las diferentes especies de *Candida* aisladas de muestras de pacientes atendidos en el Laboratorio Clínico Automatizado Zamora Período junio 2023 – abril 2024.

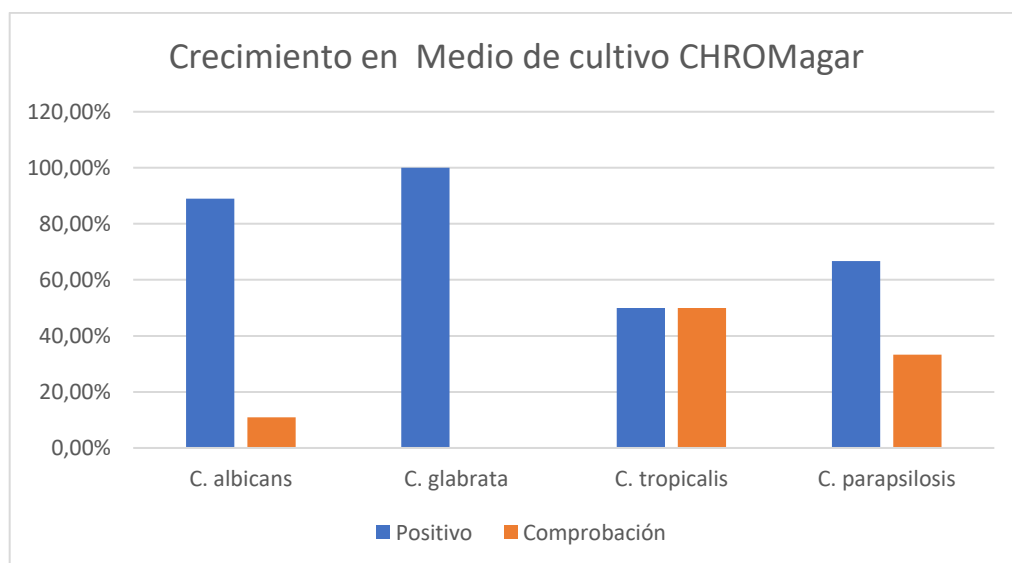
Especie de <i>Candida</i>	Crecimiento	Resultado	Porcentaje (%)	Observaciones
<i>albicans</i>	(+)	73	89.02	Colonias verdes claro
	(-)	9	10.98	Nivel bajo de crecimiento de la levadura (repetición)

<i>glabrata</i>	(+)	5	100	Colonias color malva
	(-)	0	0	-
<i>tropicalis</i>	(+)	5	50	Colonias azul verde metálico
	(-)	5	50	-
<i>parapsilosis</i>	(+)	2	66.67	Colonias blancas
	(-)	1	33.33	Colonias blancas con tonalidad rosada pálida

Autor: Lcda. Lissette Torres

En la **Ilustración 5**, el aislamiento de *Cándida albicans* en CHROMagar *Candida* muestra que de un total de 82 muestras un 89.02% se aislaron en el medio observándose un cultivo puro con gran número de colonias de color verde claro diferenciadas, por otro lado, un 10.98% no se detectó debido a los niveles bajos de crecimiento de esta levadura. No obstante, para confirmar si se trata o no de *Candida albicans* se repitió el aislamiento para descartar falsos negativos. Esto se debe a que normalmente la sensibilidad y especificidad del medio cuando se trabaja con datos clínicos son 96.6% y 97.9%, respectivamente.

Ilustración 5. Crecimiento en medio de cultivo Chromagar



Autor: Lcda. Lissette Torres

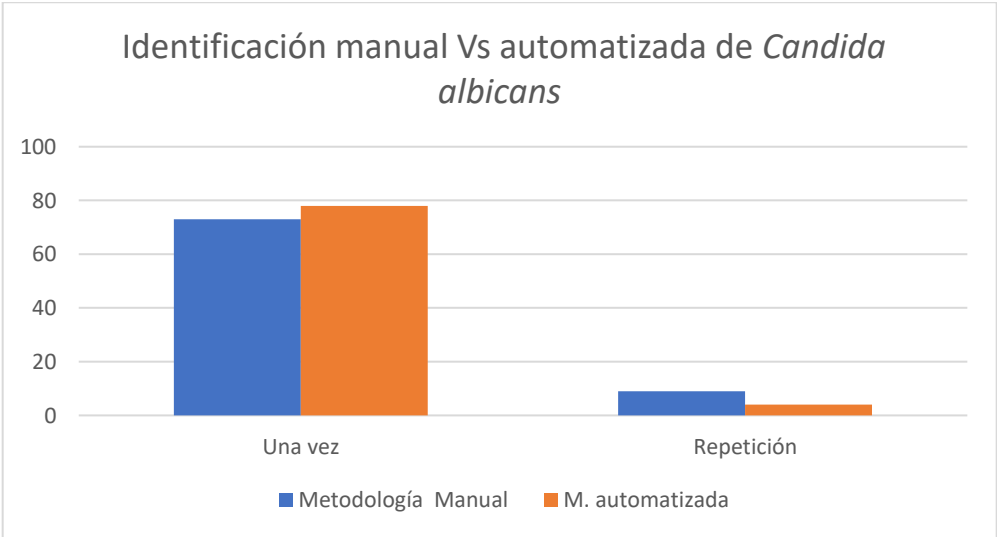
La **Tabla 8** y la **Ilustración 6** comparan la identificación de *Candida albicans* utilizando la metodología manual y el sistema automatizado. En la metodología manual, se identificaron 73 muestras (89.02%) en una sola prueba, con 9 muestras (10.98%) que requirieron repetición, alcanzando un total de 82 muestras (100%). Por otro lado, en la metodología automatizada, se identificaron 78 muestras (95.12%) en una sola prueba, y se repitieron 4 muestras (4.88%), también totalizando 82 muestras (100%).

Tabla 5. *Identificación manual Vs automatizada de Candida albicans aisladas de muestras de pacientes atendidos en el Laboratorio Clínico Automatizado Zamora Período junio 2023 – abril 2024*

<i>Candida albicans</i>	Metodología manual		Metodología automatizada	
	Número	Porcentaje (%)	Número	Porcentaje (%)
<i>Una vez</i>	73	89.02	78	95.12
<i>Repetición</i>	9	10.98	4	4.88
<i>Total</i>	82	100%	82	100%

Autor: Lic. Lissette Torres

Ilustración 6.- *Identificación manual Vs automatizada de Candida albicans*



Autor: Lcda. Lissette Torres

SEGUNDO OBJETIVO:

Detectar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre la metodología manual y la metodología automatizada en la identificación de *Candida albicans*.

En cumplimiento al segundo objetivo específico para detectar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre la metodología manual y la metodología automatizada en la identificación de *Candida albicans*, se llevó a cabo un análisis estadístico descriptivo.

Para ello se construyó una tabla de contingencia 2x2 (**Tabla 9**) en el programa estadístico SPSS V25, donde se muestran los resultados positivos y negativos arrojados por ambos métodos, como resultados positivos se consideran aquellos para los que no fue necesaria realizar una repetición de la técnica con el fin de corroborar la identificación realizada y resultados negativos aquellos donde se necesitó repetir la técnica en ambos métodos.

De esta forma se observa que del total de 82 muestras positivas para *Candida albicans*, el método convencional (CHROMagar) y el método automatizado (VITEK) dieron 70 identificaciones correctas de la levadura y una identificación incorrecta de ésta. Por otro lado, CHROMagar identificó 3 resultados positivos que VITEK no lo hizo y VITEK identificó 8 resultados positivo que CHROMagar no lo logró.

Tabla 6. Tabla de contingencia CHROMagar x Vitek

Método convencional	Método Automatizado		TOTAL
	Positivo	Negativo	
Positivo	70	3	73
Negativo	8	1	9
TOTAL	78	4	82

Elaboración: Lcda. Lissette Torres

En base a la tabla de contingencia se calculó la prueba de chi cuadrado de McNemar, este chi cuadrado se utiliza para determinar si existen diferencias significativas en una variable dependiente dicotómica entre dos grupos relacionados.

En este estudio, los resultados de la prueba de McNemar se presentaron en la Tabla 10, donde se observó un valor p de 0.227. Este valor fue relevante, ya que indicaba que la diferencia observada entre los dos métodos analizados era mayor que el nivel alfa convencional de $\alpha=0.05$. Como resultado, se rechazó la hipótesis nula, lo que sugirió que no había una diferencia significativa entre los métodos evaluados.

Este hallazgo implicó que ambos métodos ofrecían resultados comparables y que la variabilidad observada no fue estadísticamente relevante. Estos resultados fueron importantes para considerar la eficacia y la confiabilidad de ambos enfoques en la identificación de *Candida albicans*.

Tabla 7. Prueba Chi cuadrado

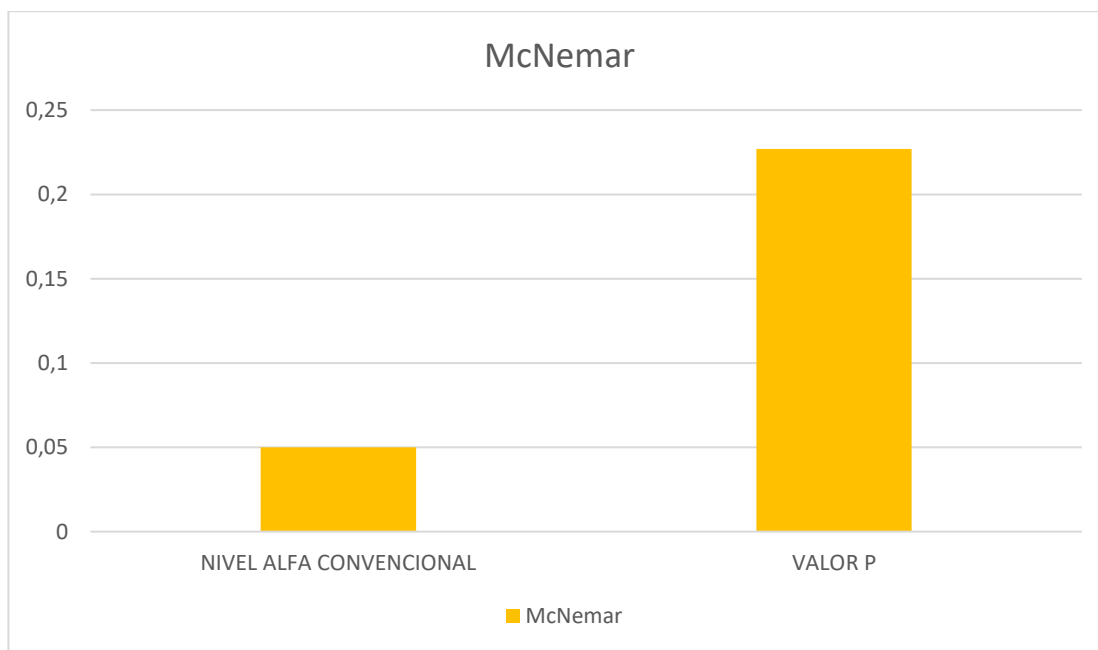
	Valor	Significancia exacta (bilateral)
Test de McNemar		.227 ^a
N de casos válidos	82	

a. Distribución binomial utilizada; la nota indica que se utilizó la distribución binomial para calcular el valor p exacto para la prueba de McNemar. Esto se hace a menudo cuando se trabaja con muestras de tamaño pequeño o cuando no se cumplen los supuestos de la distribución de chi-cuadrado.

Elaboración: Lcda. Lisette Torres

En la **Ilustración 7** se muestra que el valor p es de 0.227, este valor indica que la diferencia observada es mayor que el nivel alfa convencional de $\alpha=0.05$, rechazamos la hipótesis nula. Esto sugiere que no hay una diferencia significativa entre los dos métodos, según los datos proporcionados.

Ilustración 7.- Prueba de chi cuadrado



Elaboración: Lcda. Lissette Torres

TERCER OBJETIVO:

Elaborar un manual de procedimiento para la identificación de *Candida albicans*.

Se ha desarrollado un manual de procedimientos específicamente diseñado para la identificación de *Candida albicans*. Este manual será proporcionado al Laboratorio Clínico “Zamora” y estará disponible para otros laboratorios interesados. El contenido se enfoca en el uso de medios de cultivo y técnicas automatizadas para la detección del patógeno. Es fundamental considerar que los procedimientos detallados pueden variar de un laboratorio a otro, dependiendo de los recursos y equipos disponibles. El objetivo principal de este manual es describir métodos efectivos y estandarizados para identificar *Candida albicans* en muestras clínicas mediante el uso de estas herramientas.

Además, se proporcionará una copia del manual a los tres miembros del jurado que evaluarán la defensa de la tesis, cumpliendo así con el tercer objetivo establecido

Figura 4. Manual de Procedimientos para *Candida albicans*



Elaboración: Lcda. Lissette Torres

4.2. DISCUSIÓN

En la investigación del manejo de infecciones por *Candida albicans*, es crucial la selección de una metodología de diagnóstico precisa. Los métodos manuales, como el tubo germinativo y CHROMagar Candida, han sido ampliamente utilizados debido a su accesibilidad y bajo costo, el tubo germinativo es conocido por su sencillez y rapidez, lo que lo convierte en una opción popular en muchos laboratorios, esta técnica permite una identificación rápida del patógeno mediante la observación de estructuras características, lo que facilita la toma de decisiones clínicas en un corto periodo de tiempo.

Según Arenas et al. (2020) en su estudio "Rendimiento de la prueba del tubo germinativo con albúmina de huevo en la identificación de *Candida albicans*", se determinó que el tubo germinativo tiene una especificidad elevada, aunque su sensibilidad puede variar dependiendo de la experiencia del operador y las condiciones del laboratorio. En el presente estudio, se utilizó esta técnica como método de referencia debido a su simplicidad y exactitud como indica la Tabla 6 y la Ilustración 4. Los resultados obtenidos son consistentes con los de Arenas et al. (2020), mostrando una sensibilidad del 87.1% y una especificidad del 100%. Esta prueba se realizó en las 100 muestras recibidas al inicio de la investigación, de las cuales 82 resultaron positivas para *Candida albicans*.

Al utilizar este método como referencia, es posible evaluar la confiabilidad entre el medio de cultivo Chromagar y el método sistemático automatizado VITEK detallado en la Tabla 8. Munin (2007) en "Estudio de la formación del tubo germinal por *Candida albicans* después de la quimioterapia antimicrobiana fotodinámica (PACT)." determinó que el uso del tubo germinativo como método de referencia no solo proporciona una base sólida para la identificación precisa de *Candida albicans*, sino que también permite comparar y validar otros métodos diagnósticos utilizados. En nuestro estudio, se encontró que la especificidad del 100% del tubo germinativo indica

que este método es altamente fiable para confirmar la presencia del patógeno. Sin embargo, la sensibilidad del 87.1% sugiere que, aunque eficaz, podría haber casos en los que la infección no sea detectada, destacando así la importancia de la pericia del operador y las condiciones del laboratorio.

El medio Cromogénico CHROMagar Candida, aunque más costoso que el tubo germinativo, ofrece una alternativa diferencial para la identificación de especies de *Candida*. Bernaerts, R. (1994) en: "CHROMagar Candida, un nuevo medio de aislamiento diferencial para la identificación presuntiva de especies de *Candida* clínicamente importantes" señala que este medio permite distinguir visualmente distintas especies de *Candida* mediante la coloración específica de las colonias. Esta investigación confirma dichas observaciones, destacando que el CHROMagar Candida no solo facilita y agiliza el proceso de identificación, sino que también acorta significativamente el tiempo necesario para obtener resultados precisos. A pesar de su mayor costo inicial, la eficiencia y la simplicidad de estos métodos manuales los convierten en una opción valiosa para entornos con recursos limitados, donde el acceso a tecnología avanzada puede estar restringido.

Por otro lado, la adopción de metodologías automatizadas como el sistema VITEK ha sido ampliamente respaldada debido a su eficiencia y reproducibilidad. Aguilar y colaboradores (2020), en su estudio "Identificación y perfil de sensibilidad de *Candida spp.* aisladas de hemocultivos en hospitales de Paraguay", resaltan que el sistema VITEK entrega resultados rápidos y consistentes. Este sistema minimiza los errores humanos y acelera el proceso de toma de decisiones clínicas, características reafirmadas por esta investigación, que subraya la precisión y fiabilidad mejoradas en el diagnóstico. Además, Pierantoni, D. y colaboradores (2019) en su trabajo "Aislamiento de *Candida palmiroleophila* en Italia a partir de dos casos de infección sistémica, después de una identificación errónea del sistema CHROMagar y VITEK como *C.albicans*", señalan que estos sistemas pueden procesar múltiples muestras simultáneamente, reduciendo aún más el error humano y entregando resultados más

rápida. La integración de estos métodos automatizados en la práctica clínica ha revolucionado la capacidad de los laboratorios para manejar grandes volúmenes de muestras, aumentando la exactitud en la identificación de infecciones por *Candida albicans*.

A pesar de las ventajas de los métodos automatizados, los métodos manuales siguen siendo una parte integral del diagnóstico microbiológico debido a su probada eficacia y costo-efectividad. La combinación de ambos enfoques en un protocolo de diagnóstico integral puede maximizar los beneficios, asegurando que se utilicen los recursos más adecuados para cada situación específica. Así, la selección de la metodología de diagnóstico en la investigación y manejo de infecciones por *Candida albicans* debe considerar no solo la precisión y velocidad de los resultados, sino también la disponibilidad de recursos y la experiencia del personal de laboratorio.

Sin embargo, Castillo (2023) en su tesis " Determinación del costo del cultivo y antibiograma del urocultivo en el laboratorio de análisis bioquímicos y bacteriológicos" argumentan que los costos asociados con los sistemas automatizados pueden ser prohibitivos para laboratorios en regiones menos desarrolladas, donde las metodologías manuales siguen siendo una opción preferente debido a su bajo costo inicial y facilidad de implementación.

A pesar de las ventajas inherentes a la automatización, tales como la precisión mejorada y la capacidad de manejar grandes volúmenes de muestras de manera eficiente, la adopción global de estos sistemas enfrenta desafíos significativos. Estos desafíos incluyen costos elevados de implementación y mantenimiento, necesidad de formación técnica especializada y una infraestructura de soporte técnico adecuada, que no siempre están disponibles en todos los entornos clínicos, especialmente en regiones con recursos limitados.

En contraste, Aranda-Torales y Cabrera-Galeano (2020) en su estudio "Análisis de la utilidad diagnóstica de los medios cromógenos para el crecimiento del género *Cándida*" sugieren una combinación de métodos manuales y automatizados para maximizar la eficacia diagnóstica. Ellos argumentan que mientras los sistemas automatizados como VITEK ofrecen una precisión y reproducibilidad superiores, los métodos manuales aportan flexibilidad y adaptabilidad esenciales en diferentes entornos clínicos. Esta sinergia entre ambos enfoques permite una implementación más amplia y efectiva de las estrategias diagnósticas, asegurando que los beneficios de la tecnología avanzada se puedan combinar eficazmente con la practicidad y la accesibilidad de los métodos tradicionales, por eso en la Tabla 8 hicimos una comparación entre metodologías

Kothalawala, M. y colaboradores (2019) en: “La aparición de candidemia no albicans y la evaluación del agar diferencial HiChrome Candida y la plataforma VITEK2 YST® para la diferenciación de aislados de Candida en el torrente sanguíneo en el hospital universitario de Kandy, Sri Lanka” destacó que en lugares donde la adquisición y el mantenimiento de equipos avanzados no son viables, los métodos manuales como tubo germinativo y los medios de cultivo cromógenos, son menos costosos y más fáciles de manejar, pueden ser utilizados para realizar una primera evaluación, mientras que las muestras que requieren un análisis más detallado podrían enviarse a centros más grandes con capacidades de automatización. De este modo, se logra un equilibrio entre coste, accesibilidad y precisión, extendiendo la cobertura diagnóstica sin comprometer la calidad de los resultados.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES, RECOMENDACIONES, BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS

5.1. CONCLUSIONES

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio Clínico Automatizado “Zamora”. Se tomaron 100 muestras con sospecha de *Candida* y se incluyeron únicamente aquellas que resultaron ser *Candida albicans*. De acuerdo con los objetivos planteados, se llegaron a las siguientes conclusiones:

- La evaluación de la confiabilidad entre la metodología manual y la metodología automatizada para la identificación de *Candida albicans* no reveló diferencias significativas. Ambos métodos demostraron ser efectivos en la obtención de resultados, lo que indica que son confiables para la identificación de esta especie. La metodología manual, aunque tradicional y ampliamente utilizada, puede estar sujeta a variaciones en la interpretación y a errores humanos. Por otro lado, la metodología automatizada ofrece beneficios como la reducción de la subjetividad y una mayor consistencia en los resultados. Sin embargo, los hallazgos sugieren que, a pesar de las diferencias en el enfoque, ambas metodologías pueden ser empleadas con confianza en el laboratorio para la identificación de *Candida albicans*, dependiendo de los recursos disponibles y las necesidades específicas de cada entorno clínico.
- De las 100 muestras analizadas, se identificó 82 casos de *Candida albicans* mediante métodos convencionales (tubo germinativo, medio de cultivo Chromagar) y el método automatizado VITEK, lo que resalta su eficacia en la práctica clínica, la mayoría de las muestras positivas para *Candida albicans* provenían de secreciones vaginales (73.17%), enfatizando así la importancia de este sitio como fuente común de infección por este hongo, los métodos de identificación utilizados demostraron ser efectivos en las muestras analizadas,

proporcionando resultados precisos y confiables para su aplicación en entornos clínicos y de laboratorio.

- La ausencia de diferencias estadísticamente significativas resalta la importancia de considerar ambos enfoques en función de los recursos disponibles, el contexto del laboratorio y la experiencia del personal, tanto la metodología manual como la automatizada pueden ser utilizadas de manera intercambiable, brindando a los laboratorios flexibilidad en su elección de métodos para la identificación de *Candida albicans*.
- Se ha elaborado un detallado manual de procedimiento para identificar *Candida albicans*, que incluye los pasos esenciales para utilizar los métodos de identificación mencionados anteriormente, este manual será una herramienta fundamental para guiar futuros estudios, prácticas clínicas y al personal técnico del Laboratorio Clínico Automatizado "Zamora" en la identificación precisa de *Candida albicans*. Proporcionará una base sólida para estandarizar y mejorar continuamente los procesos de identificación microbiológica en el contexto de las infecciones por *Candida albicans*.

5.2. RECOMENDACIONES

- La elección entre metodologías manuales y automatizadas debe ser guiada por consideraciones de costo, disponibilidad de recursos, necesidades específicas del entorno clínico, y la urgencia en la toma de decisiones diagnósticas.
- La continua evaluación de ambos métodos en estudios comparativos será fundamental para optimizar el manejo de infecciones por *Candida albicans* en diversos contextos clínicos.
- Se debería realizar investigaciones futuras que empleen una gama más amplia de fármacos antifúngicos para una mejor selección del tratamiento y en una recuperación más rápida de los pacientes.

- Tomar precauciones durante la toma y transporte de muestras para prevenir contaminación.
- Se requiere investigaciones más exhaustivas sobre el funcionamiento y manejo del sistema automatizado VITEK, dado que la información detallada sobre su operación es escasa y difícil de encontrar.
- Desarrollo de estudios que evalúen la eficacia de otras metodologías de diagnóstico para investigar nuevos tratamientos para las infecciones por *Candida albicans*.
- Se recomienda que los profesionales de la salud reciban capacitación en el uso de las metodologías de diagnóstico de *Candida albicans*, con el fin de asegurar su aplicación efectiva en la práctica clínica.
- Se sugiere revisar las políticas de salud para asegurar la utilización de los métodos más eficaces y económicos.
- Se sugiere fomentar prácticas adecuadas de higiene personal y restringir el uso innecesario de antibióticos y antimicóticos.

5.3. BIBLIOGRAFÍA

- Arenas Pillco, L. V., & Rosas Paytan, R. V. (2020). Rendimiento de la prueba del tubo germinativo con albumina de huevo en la identificación de *Cándida albicans*, 2020.
- Aguilar, G., Araujo, P., Lird, G., Insaurrealde, S., Kawabata, A., Ayala, E., ... & Argüello, R. (2020). Identificación y perfil de sensibilidad de *Cándida* spp. aisladas de hemocultivos en hospitales de Paraguay. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 44.
- Guato Castillo, M. J. (2023). *Determinación del costo del cultivo y antibiograma del urocultivo en el laboratorio de análisis bioquímicos y bacteriológicos* (Bachelor's thesis, Universidad Técnica de Ambato/Facultad de Ciencias de la Salud/Carrera de Laboratorio Clínico).
- Aranda-Torales, M. C., Cabrera-Galeano, M. P. C., & Molinas-Duré, (2020) C. H. Análisis de la utilidad diagnóstica de los medios cromógenos para el crecimiento del género *Cándida*.
- Mendoza¹, Mireya. (2005). Importancia de la identificación de levaduras. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 25(1), 15-23. Recuperado en 03 de junio de 2024, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562005000100004&lng=es&tlng=es.
- Enache-Angoulvant, A.. (2007). Reglas de interpretación de las infecciones por *Candida*. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 41(4), 587-593. Recuperado en 27 de abril de 2023, de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572007000400016&lng=es&tlng=en.
- Saúl-García, Yotsabeth, Humbría-García, Leyla, & Hernández-Valles, Rosaura. (2015). Distribución de especies y susceptibilidad antifúngica de *Candida* spp. causantes de micosis superficiales. Coro, estado Falcón, Venezuela. *Investigación Clínica*, 56(3), 276-283. Recuperado en 03 de junio

de 2024, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0535-51332015000300005&lng=es&tlng=es.

- Jordá Vargas, Liliana, Vila, Andrea, Lanza, Alejandra, Bonvehi, Pablo, Nazar, Javier, Mikietuk, Analía, Labat, Roxana, & Smayevsky, Jorgelina. (2005). Utilidad del sistema VITEK en la identificación bacteriana y estudios de sensibilidad antimicrobiana. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 39(1), 19-25. Recuperado en 27 de abril de 2023, de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572005000100005&lng=es&tlng=es.
- Bernard, J. H. (2005). *El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico*. Marbán Libros.
- Betty A. Forbes, D. F. (2007). *Diegnostico Microbiológico*. Buenos Aires: Médica Panamericana S.A.
- Dickinson, R. A. (Marzo de 2017). BBL CHROMagar MRSAIL - BD. Obtenido de <https://legacy.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/HB/CE/PA/ES-PA257434.pdf>
- Fatma Mutlu Sariguzel, E. B. (2015). Evaluation of CHROMagar Candida, VITEK2 YST and VITEK® MS for identification of Candida strains isolated from blood cultures. *Le infezzioni in Meidicina*. G.E. Giusiano, M. M. (2013). Diferenciacion e identificación presuntiva rápida de levaduras con el medio Chromagar Cándida. *Revista Argentina de Microbiologia*, 100-103.
- García Martos, P. (2013). Identificación de levaduras de interés clínico en el medio de cultivo CHROMagar Candida. *Revista Iberoam Micol*, 131-135.
- Panizo, M. M, & Reviákina, V. (2001). Candida albicans y su efecto patógeno sobre las mucosas. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 21(2), 38-45. Recuperado en 03 de junio de 2024, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562001000200011&lng=es&tlng=es.
- Giuseppe, P. M. (2014). Estudio comparativo entre los sistemas automatizados Vitek YBC® y Microscan Walk Away RYID® con los métodos fenotípicos

convencionales para la identificación de levaduras de interés clínico. Scielo, Investigación Clínica, 297-310.

- Koneman E, c. (2008). Diagnóstico Microbiológico. Texto y atlas color. . Madrid: Editorial Medica Panamericana.
- María E. Ochiuzzi, A. A. (2014). Evaluación de las tarjetas AST-YSO1 del sistema Vitek 2 para determinar la sensibilidad a antifúngicos de levaduras del género Candida. Scielo revista Argentina de Microbiología, 111-118.
- María E. Ochiuzzi, S. C. (2014). Evaluación del sistema Vitek 2 para la identificación de las principales especies de levaduras del género Candida. Scielo, Revista Argentina de Microbiología. • Rommler. (2006). VITEK 2. Biomérieux. • Sanders. (Julio de 2001). Biomerieux. Obtenido de <https://www.biomerieux.es/diagnosticoclinico/productos/vitekr2#:~:text=C%C3%B3mo%20funciona&text=Coloque%20el%20in%C3%B3culo%20en%20el,cada%20tarjeta%20sin%20su%20intervenci%C3%B3n>.
- Mutlu Sariguzel F, Berk E, Nedret Koc A, Sav H, Aydemir G. Erratum: Evaluation of CHROMagar Candida, VITEK2 YST and VITEK® MS for identification of Candida strains isolated from blood cultures. Infez Med. 2016;24(1):90. Erratum for: Infez Med. 2015 Dec;23(4):318-22. PMID: 27031906.
- Heilkuhl, E. C. (1973). Estudio comparativo de algunos metodos macro y microscopicos para el aislamiento y reconocimiento del género cándida. Revista Colombiana de Ciencias QuímicoFarmacéuticas, 2(2), 33-57.
- Estrada-Barraza, D., Martínez, A. D., Flores-Padilla, L., Mendoza-De Elias, R., & SánchezVargas, L. O. (2011). Comparación entre métodos convencionales, ChromAgar Candida® y el método de la PCR para la identificación de especies de Candida en aislamientos clínicos. Revista Iberoamericana de Micología, 28(1), 36-42.
- Iza Chiluisa, G. P. (2017). Identificación de cándida albicans y cándida glabrata mediante el medio diferencial CHROMagar cándida para diagnosticar vaginosis en mujeres que acuden al área de ginecología del hospital provincial

general de Latacunga (Bachelor's thesis, Universidad Técnica de Ambato-Facultad de Ciencias de la Salud-Carrera de Laboratorio Clínico).

- Jaimes Niño, W. V., & Martín Algarra, L. V. (2016). Identificación del microbiota conjuntival en adultos escolares saludables, mediante el sistema automatizado VITEK y la susceptibilidad antimicrobiana.
- Ornelas, O., Carvallo, C., Castillo, L., Ledezma, M., Ríos, M., Salazar, Y., & Torres, L. (2015). Utilidad del Sistema Automatizado Vitek 2® Compact y los Métodos Fenotípicos para la detección de Carbapenemasas Tipo KP. *Inf. Med*, 17(1), 2-8.
- d'Azevedo, P. A., Cantarelli, V., Inamine, E., Superti, S., & Dias, C. A. G. (2004). Avaliação de um sistema automatizado na identificação de espécies de *Enterococcus*. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 40, 237-239.
- Leal Castro, AL, Buitrago Gutierrez, G., Ovalle, MV, Cortés, JA, Álvarez Moreno, CA, & La Rotta, J. (2010). Comparación de la actividad in vitro de la tigeciclina mediante la prueba de difusión con disco, el método de microdilución manual y el sistema automatizado Vitek 2. *Revista argentina de microbiología*, 42 (3), 208-211.
- Oderiz, S., Palau, M. J., Del Palacio, P., Lewis, M. C., Bettiol, M. P., Martina, P., ... & Gatti, B. M. (2011). Evaluación de los sistemas comerciales automatizados VITEK 2 y API 20NE para la identificación de organismos del complejo *Burkholderia cepacia* aislados de muestras clínicas. *Revista argentina de microbiología*, 43(3), 168-175.
- López, C., Giro, L., Ramos, L., Ramadán, S., & Bulacio, L. (2005). Comparación de diferentes métodos para la identificación de especies del género *Candida*. *Revista argentina de microbiología*, 37(1), 16-21.
- García-Martos, P., García-Agudo, R., Hernández-Molina, J. M., Marín, P., Tallero, E., & Mira, J. (1998). Identificación de levaduras de interés clínico en el medio de cultivo CHROMagar *Candida*. *Rev Iberoam Micol*, 15(3), 131-5.

- Willinger, B., Hillowoth, C., Selitsch, B. y Manafi, M. (2001). Rendimiento de Candida ID, un nuevo medio cromogénico para la identificación presuntiva de especies de Candida, en comparación con CHROMagar Candida. Revista de microbiología clínica, 39 (10), 3793-3795.
- Pfaller, MA, Houston, A. y Coffmann, S. (1996). Aplicación de CHROMagar Candida para la detección rápida de muestras clínicas de Candida albicans, Candida tropicalis, Candida krusei y Candida (Torulopsis) glabrata. Revista de microbiología clínica, 34 (1), 58-61.
- Ochiuzzi, M. E., Cataldi, S., Guelfand, L., Maldonado, I., Arechavala, A., & Red de Micología CABA, A. (2014). Evaluación del sistema Vitek 2 para la identificación de las principales especies de levaduras del género Candida. Revista argentina de microbiología, 46(2), 107-110.
- Ochiuzzi, M. E., Arechavala, A., Guelfand, L., Maldonado, I., Soloaga, R., & Red de Micología CABA, A. (2014). Evaluación de las tarjetas AST-YSO1 del sistema Vitek 2 para determinar la sensibilidad a antifúngicos de levaduras del género Candida. Revista argentina de microbiología, 46(2), 111-118.
- Martínez-Martínez, L. (2016). Correlación entre el sistema de MALDI-TOF Vitek-MSTM y los métodos convencionales de identificación de bacterias causantes de infección gastrointestinal. Rev Esp Quimioter, 29(5), 265-268.
- Munin, E., Giroldo, L., Alves, L. y Costa, M. (2007). Estudio de la formación del tubo germinal por Candida albicans después de la quimioterapia antimicrobiana fotodinámica (PACT). Revista de fotoquímica y fotobiología. B, Biología, 88 1, 16-20. <https://doi.org/10.1016/J.JPHOTOBIOLOG.2007.04.011>
- Bernaerts, R. (1994). CHROMagar Candida, un nuevo medio de aislamiento diferencial para la identificación presuntiva de especies de Candida clínicamente importantes. Revista de Microbiología Clínica , 32, 1923 - 1929. <https://doi.org/10.1128/jcm.32.8.1923-1929.1994> .
- Pierantoni, D., Bernardo, M., Mallardo, E., Carannante, N., Attanasio, V., Corte, L., Roscini, L., Fiore, L., Tascini, C. y Cardinali, G. (2019). Aislamiento de Candida palmioleophila en Italia a partir de dos casos de infección sistémica,

después de una identificación errónea del sistema CHROMagar y Vitek como *C.albicans*. *The new microbiologica* , 43 1.

- Kothalawala, M., Jayaweera, J., Arunan, S. y Jayathilake, A. (2019). La aparición de candidemia no albicans y la evaluación del agar diferencial HiChrome Candida y la plataforma VITEK2 YST® para la diferenciación de aislados del torrente sanguíneo de Candida en el hospital universitario de Kandy, Sri Lanka. *Microbiología BMC* , 19. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1518-3>
- Mulet Bayona, J. V., Salvador García, C., Tormo Palop, N., & Gimeno Cardona, C. (2020). Evaluación de un nuevo medio cromogénico para Candida spp. identificación y comparación con CHROMagar™ Candida para la detección de Candida auris en muestras de vigilancia. *ScienceDirect*. <https://doi.org/10.1016/j.spm.2020.12.005>
- CHROMagar. (2021). LF-EXT-001-V8.0. <https://www.chromagar.com/wp-content/uploads/2021/11/LF-EXT-001-V8.0.pdf>
- Sanchez, M., & Colaboradores. (2023). Diversidad de especies de Candida recuperadas de la cavidad bucal de pacientes oncológicos en Barranquilla, Colombia. Barranquilla: Scient Direct
- Guo, Q., Ling, Y., Wang, X., Bai, X., Li, J., & Zhao, Q. (2020). Evaluation and comparison of the performance of chromogenic medium Chromoagar Candida and automated system VITEK 2 for the identification of Candida species, including *C. albicans*. *Microbiology and Immunology*, 64(1), 13-20.
- Guinea, J., Maharja, P., Schörn, M., Steinmann, J., & Álvarez-Fernández, M. (2018). Performance of Chromoagar Candida and VITEK 2 for the identification of Candida species causing invasive candidiasis and candidaemia. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 37(7), 1333-1340.
- Theel, E. S., & Doern, C. D. (2017). Candida auris: On the Rise Globally as a Multidrug-Resistant Pathogen. *Journal of Clinical Microbiology*, 55(10), 2891–2895.
- Lata, J., Raj, S., Kumari, M., Kushwaha, D., & Yadav, R. (2021). Evaluation and comparison of the performance of conventional and automated

identification methods for *Candida* species in clinical samples. *Journal of Microbiological Methods*, 181, 106116.

- Sanchini, A., Sanguinetti, M., Palazzesi, S., Masucci, L., & Posteraro, B. (2014). Evaluation and comparison of the performance of chromogenic agar Chromoagar *Candida* and the VITEK 2 system for identification of *Candida* spp. isolates from clinical specimens. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 79(3), 367-371.
- Nasér, Z. A., Jassim, K. A., & Hamzah, H. G. (2018). Evaluation of the performance of chromogenic medium (Chromoagar *Candida*) for the identification of *Candida* species. *Medical Journal of Babylon*, 15(1), 59-63.
- Alastruey-Izquierdo, A., Melgar-Rodes, A., Cuenca-Estrella, M., & Monzón, A. (2021). Evaluation of CHROMagar *Candida* II medium for the identification of *Candida* species. *Mycoses*, 64(3), 280-285.
- Castanheira, M., Deshpande, L. M., Chodavarapu, A., Pfaller, M. A., & Jones, R. N. (2020). Comparison of CHROMagar *Candida* and Vitek 2 systems for the identification of *Candida* species. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 96(1), 114903.
- Tsaltas, D., Papadimitriou, V., Polemis, D., Skopelitis, E., Dellaporta, E., & Sipsas, N. V. (2021). Evaluation of the accuracy of chromogenic medium CHROMagar *Candida* II for the identification of *Candida* species. *Mycoses*, 64(2), 164-169.
- Jiang, Y., Zhao, Y., Guo, X., Wang, F., Wang, X., & Zhao, J. (2020). Evaluation of the performance of germ tube test and VITEK 2 system for the identification of *Candida albicans*. *Journal of Thoracic Disease*, 12(4), 1332-1339.
- Wang, H., Xu, Y., Xu, Y., Zhao, Q., & Wang, D. (2021). Evaluation and comparison of the performance of germ tube test and VITEK 2 system for the identification of *Candida albicans*. *Medical Mycology*, 59(1), 37-43.
- Ramos, L. S., Figueiredo-Carvalho, M. H., Barbedo, L. S., Ziccardi, M., Chaves, A. L., Zancopé-Oliveira, R. M., & Branquinha, M. H. (2015).

Comparison of the performance of four different methods for the identification of *Candida* species. *FEMS Yeast Research*, 15(2), 1-7.

- Dede, A., Acar, S., K lah, C., & Buruk, C. K. (2021). Performance of the germ tube test and VITEK 2 yeast identification system in the diagnosis of *Candida albicans*. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 51(1), 305-310.

5.4. ANEXOS

Anexo 1 Carta de interés hacia la institución

COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS CBISH-FCS-UTA

F C S
FACULTAD DE CIENCIAS
DE LA SALUD

ANEXO 4. Instrumentos a aplicarse en la investigación

CARTA DE INTERES HACIA LA INSTITUCIÓN

Ambato, 28 de Junio del 2023

Lcdo. Mg
Germán Zamora
Laboratorio Clínico Automatizado "Zamora"
Ambato

De mi consideración:

Yo, investigador principal **Lisette Estefanía Torres Valdez** con **C.I. 1804403291**, por este medio me permito solicitar el apoyo total y completo de su institución en la realización del proyecto de investigación denominado: **"EVALUACIÓN DE LA CONFIABILIDAD DE LA METODOLOGÍA MANUAL FRENTE A LA METODOLOGÍA AUTOMATIZADA EN LA IDENTIFICACIÓN DE CÁNDIDA ALBICANS."** en atención a que la materia del estudio representa para su institución la confiabilidad y rapidez a la entrega de los resultados al incorporar el equipo automatizado VITEK a su sistema de trabajo.

Cabe señalar, que el proyecto de investigación podrá iniciar su ejecución en su institución, después de tener la aprobación de la Universidad Técnica de Ambato

Atentamente,



Firmado digitalmente por:
**LISSETTE ESTEFANIA
TORRES VALDEZ**

Lisette Estefanía Torres Valdez
1804403291
Principal Investigador
Ltorres3291@uta.edu.ec

Anexo 2 Solicitud de autorización para uso de las instalaciones del UTA-LAB

**COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS
CBISH-FCS-UTA**

FCS
FACULTAD DE CIENCIAS
DE LA SALUD

Ambato, 05 de Julio del 2023

PARA: Lic. Mg Mario Vilcacundo, DIRECTOR UTA-LABB

ASUNTO: SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA USO DE LAS INSTALACIONES DEL UTA-LABB

De mi consideración:

Con un atento y cordial saludo Yo, **Lisette Estefanía Torres Valdez** con **C.I. 1804403291**, estudiante en curso de la Maestría en Laboratorio Clínico mención Microbiología, por este medio me permito solicitar se me **AUTORICE** la utilización de las instalaciones del LABORATORIO DE ANÁLISIS BIOQUÍMICOS Y BACTERIOLOGICOS UTA-LABB, para el desarrollo de mi proyecto de investigación denominado: **“EVALUACIÓN DE LA CONFIABILIDAD DE LA METODOLOGÍA MANUAL FRENTE A LA METODOLOGÍA AUTOMATIZADA EN LA IDENTIFICACIÓN DE CÁNDIDA ALBICANS.”** Durante el periodo 2023-2024

El Proyecto de Investigación lo realizaré bajo la tutoría del docente investigador Bqf. Guangasig Toapanta, Víctor Hernán Mg.

Por la gentil atención al presente, anticipo mi agradecimiento.
Atentamente,



firmado electrónicamente por:
**LISSETTE ESTEFANIA
TORRES VALDEZ**

Lisette Estefanía Torres Valdez
1804403291
Principal Investigador
Ltorres3291@uta.edu.ec

Anexo 3 Consentimiento informado

COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS CBISH-FCS-UTA

F C S
FACULTAD DE CIENCIAS
DE LA SALUD

Anexo 4. Consentimiento informado.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRÍA EN LABORATORIO CLÍNICO
MENCIÓN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA COHORTE 2023



CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO: “Evaluación de la confiabilidad de la metodología manual frente a la metodología automatizada en la identificación de *Cándida albicans*.”

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Lcda. Lisette Estefania Torres Valdez

Este Formulario de Consentimiento Informado se dirige a PACIENTES CON INFECCIONES CAUSADAS POR CÁNDIDA ALBICANS

INFORMACIÓN:

Yo, Lcda. Lisette Estefania Torres Valdez con C.I. 1804403291 estudiante de la Maestría en Laboratorio Clínico, cohorte 2023 de la Universidad Técnica de Ambato en calidad de Investigador, Me encuentro realizando la investigación de: “Evaluación de la confiabilidad de la metodología manual frente a la metodología automatizada en la identificación de *Cándida albicans*.”

Los objetivos de la investigación son los siguientes:

Objetivo General

- Evaluar la confiabilidad de la metodología manual frente a la metodología automatizada en la identificación de *Cándida albicans*.

Objetivos Específicos

- Identificar *Cándida albicans* por tubo germinativo, medio de cultivo Chromagar y el método sistemático automatizado VITEK.
- Detectar el margen de error entre los medios convencionales y el método automatizado.
- Elaborar un manual de procedimiento para la identificación de *Cándida albicans*.

COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS CBISH-FCS-UTA

F C S
FACULTAD DE CIENCIAS
DE LA SALUD

DECLARATORIA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO:

En virtud de lo cual, entiendo que se solicita mi autorización para acceder a **mis datos personales y/o muestras biológicas humanas**, los cuales servirán para desarrollar futuras investigaciones.

RIESGOS Y BENEFICIOS: Entiendo que los investigadores tomarán las medidas necesarias para precautelar la confidencialidad de mis datos personales y muestras biológicas. Además, entiendo que los beneficios generados con el uso de **mis datos personales y/o muestras biológicas humanas**, serán para que futuras generaciones puedan beneficiarse de los resultados de este estudio.

DERECHOS Y OPCIONES DEL PACIENTE: Al aceptar que de **mis datos personales y/o muestras biológicas humanas** sean utilizadas con fines de investigación, no renuncio a ninguno de los derechos que por ley **me pertenecen**. Estoy consciente de que la información contenida en **mis datos personales** o la información que se genere del análisis de **mis muestras biológicas humanas** serán utilizadas únicamente para este fin y nunca se colocarán o publicarán datos que permitan revelar **mi identidad**, debido a que los investigadores me garantizan que codificarán los datos con la finalidad de respetar **mi confidencialidad**.

Entiendo que soy libre de retirar mi consentimiento en cualquier momento, para lo cual deberé informar al personal a cargo de custodiar **mis datos personales y/o muestras biológicas humanas** en el Laboratorio Clínico Automatizado "Zamora", quienes se comunicarán con los investigadores que se encuentren utilizando **mis datos personales y/o muestras biológicas humanas** en la realización de investigaciones para que en ese momento los datos obtenidos de **mis datos personales y/o muestras biológicas humanas** sean eliminados y no puedan ser utilizados para ningún fin. Esto no me causará ninguna penalidad ni tendrá impacto alguno en la atención en salud que por ley **me corresponde o le corresponde a mi representado/a**.

COSTOS Y COMPENSACIÓN: Entiendo que al autorizar el uso de **mis datos personales y/o muestras biológicas humanas** no recibiré ninguna compensación.

CONFIDENCIALIDAD DE DATOS: Entiendo que **mis datos personales y/o muestras biológicas humanas** serán codificados con el objetivo de precautelar la confidencialidad de **mi información**. Además, he sido informado que, tanto **mis datos y muestras biológicas humanas**, serán utilizados exclusivamente para la investigación científica propuesta, y solo eventualmente para investigaciones científicas posteriores relacionadas a la misma línea de investigación, para lo cual deberán pasar por la evaluación y aprobación de un Comité de Ética de Investigación en seres humanos avalado por el Ministerio de Salud Pública, con la finalidad de asegurar que se respeten en todo momento los principios bioéticos y se me informe sobre el uso futuro de los **datos personales y/o muestras biológicas humanas**.

INFORMACIÓN DE CONTACTO: Entiendo que en cualquier momento puedo comunicarme con el establecimiento de salud, institución pública y/o privada donde reposan o almacenan **mis datos personales y/o muestras biológicas humanas**, para que a su vez sirva como canal de comunicación con los investigadores que hagan uso de **mi información de salud** o la **de mi representado/a** en sus investigaciones. Para lo cual, puedo comunicarme al siguiente teléfono 0995666730 y a los correos electrónicos etorresvaldez@gmail.com o ltorres3291@uta.edu.ec

**COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS
CBISH-FCS-UTA**

F C S
FACULTAD DE CIENCIAS
DE LA SALUD

DECLARATORIA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO:

Yo _____ (nombres completos del sujeto que acepta el estudio),
comprendo que **mis datos personales y/o muestras biológicas humanas** serán utilizados con fines de
investigación científica cuyo objetivo previamente me fue explicado. Me han expuesto los riesgos y beneficios
de la utilización de **mis datos personales y/o muestras biológicas humanas** en un lenguaje claro y sencillo. Han
respondido a todas las preguntas que he realizado y me entregaron una copia de este documento.

Entiendo que en todo momento los investigadores tomarán las medidas necesarias para precautelar la
confidencialidad de **mis datos personales y/o muestras biológicas humanas**, acepto que mis datos
confidenciales serán utilizados exclusivamente para la investigación científica propuesta, y solo eventualmente
para investigaciones científicas posteriores relacionadas con la misma línea de investigación, para las que se
otorgue explícitamente y en su momento, un nuevo consentimiento informado escrito previo a la aprobación
del protocolo respectivo por un Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos reconocido por el
Ministerio de Salud Pública.

En virtud de lo cual, voluntariamente (Marque con una X):

ACEPTO

☐

NO ACEPTO

☐

Nombres completos del sujeto que acepta el estudio _____

Cédula de ciudadanía/ pasaporte del sujeto _____

Firma/huella digital del sujeto _____

Fecha y lugar _____

Nombres completos del testigo _____

Cédula de ciudadanía del testigo _____

Firma del testigo _____

Fecha y lugar _____

Nombres completos del responsable de tomar este documento _____

Cédula de ciudadanía del responsable de tomar este documento _____

Firma del responsable de tomar este documento _____

Fecha y lugar _____

**COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS
CBISH-FCS-UTA**

F C S
FACULTAD DE CIENCIAS
DE LA SALUD

DECLARATORIA DE REVOCATORIA DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO:

Yo _____ (nombres completos del sujeto que acepta el estudio), a pesar de haber aceptado inicialmente que **mis datos personales y/o muestras biológicas humanas** sean utilizados con fines de investigación científica cuyo objetivo previamente me fue explicado, **REVOCO** lo antes mencionado y solicito que **mis datos personales y/o muestras biológicas humanas** así como la información obtenida de los mismo sean eliminados y no se utilicen para ningún fin. Con esta declaratoria no renuncio a los derechos que por ley **me corresponden**.

Nombres completos del sujeto que acepta el estudio _____

Cédula de ciudadanía/ pasaporte del sujeto _____

Firma/huella digital del sujeto _____

Fecha y lugar _____

Nombres completos del testigo _____

Cédula de ciudadanía del testigo _____

Firma del testigo _____

Fecha y lugar _____

Nombres completos del responsable de tomar este documento _____

Cédula de ciudadanía del responsable de tomar este documento _____

Firma del responsable de tomar este documento _____

Fecha y lugar _____

Lissette Estefania Torres Valdez
Lcda. Laboratorio Clínico
1804403291
ltorresvaldez3291@uta.edu.ec

Anexo 4 Preparación de los medios de cultivo cromogénico CHROMagar

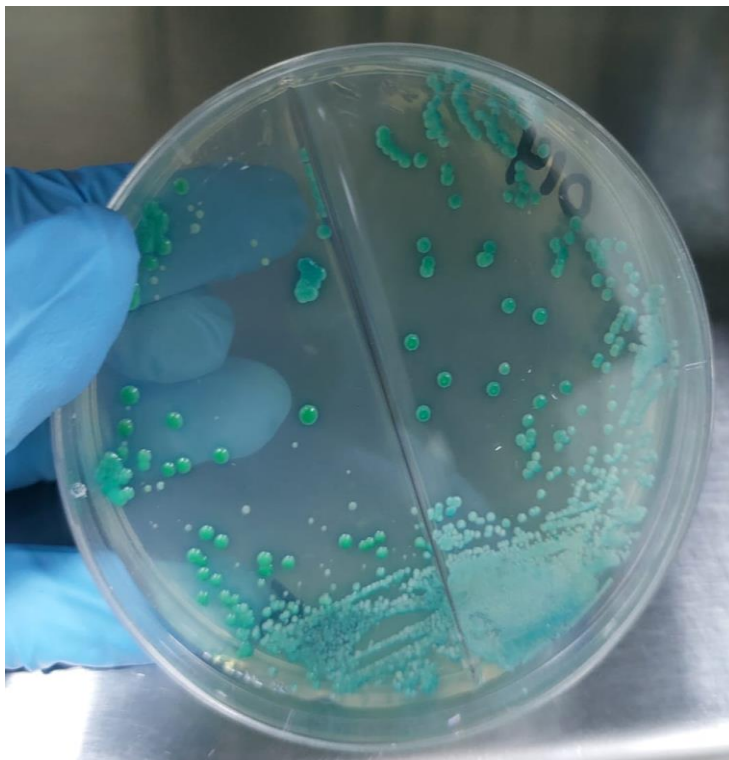
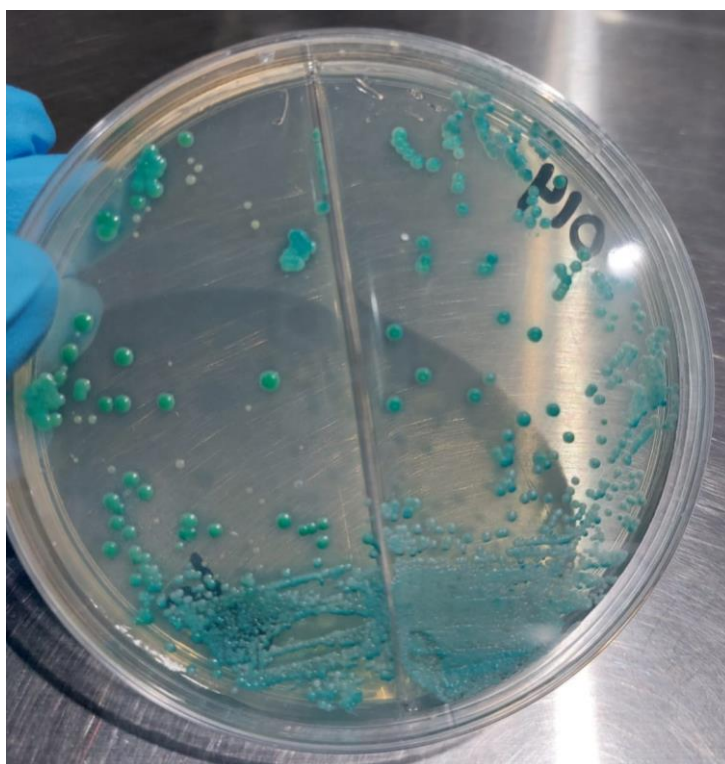


Anexo 5 Siembra en los medios de cultivo cromogénico CHROMagar



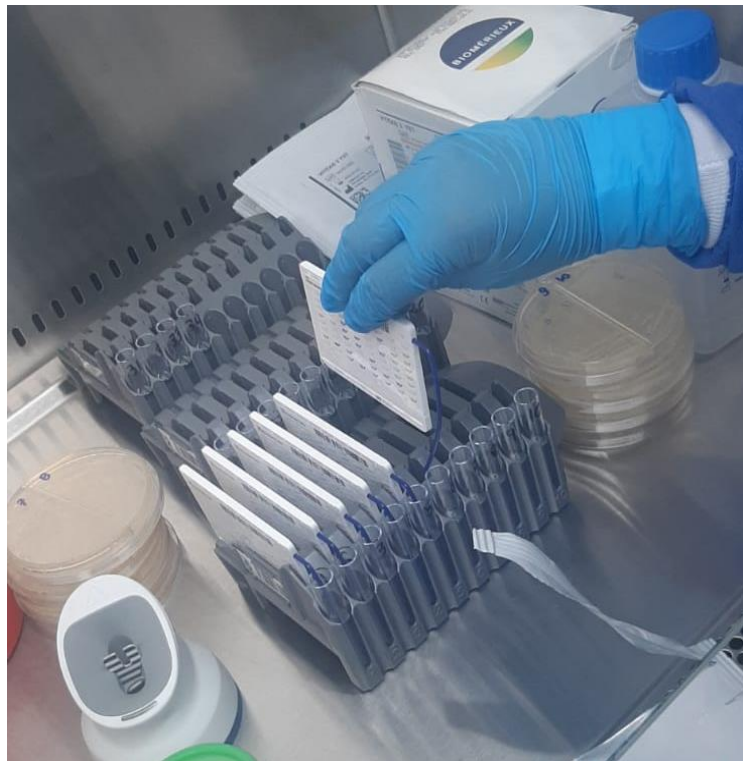
Anexo 6 Resultados positivos en cultivo cromogénico CHROMagar

Descripción: *C. albicans* las colonias de color verde,



Anexo 7 Preparación de muestras para el sistema VITEK





CAPÍTULO VI PROPUESTA

 Departamento / área: Sistema de calidad	Manual de Procedimiento para la Identificación de <i>Candida albicans</i>	Version: 01 Código: PICA-SC-01
		Página: 66 de 87

LABORATORIO CLÍNICO AUTOMATIZADO “ZAMORA”



Manual de Procedimiento para la Identificación de *Candida albicans*

Elaborado por: Lcda. Lisette Torres V. Firma:
MAESTRANTE Fecha:

Revisado por: Lcdo. Mg. Germán Zamora Firma:
GERENTE PROPIETARIO Fecha:

Aprobado por: Bqf. Mg. Víctor Guangasig Firma:
TUTOR Fecha:


Elaborado por: MAESTRANTE	Revisado por: GERENTE PROPIETARIO	Aprobado por: TUTOR
------------------------------	--------------------------------------	------------------------

1. OBJETIVO:

Describir los procedimientos para la identificación de *Candida albicans* en muestras clínicas utilizando medios de cultivo y métodos automatizados.

2. ALCANCE:

Este manual tiene un alcance para los analistas del área de Microbiología Clínica del Laboratorio Clínico Automatizado “Zamora” y para cualquier laboratorio en general, es aplicable dentro de las áreas del Laboratorio “Zamora” ubicadas en la Avenida Unidad Nacional y García Moreno

3. RESPONSABLES:

El cumplimiento del procedimiento adecuado para la identificación de *Cándida albicans* es responsabilidad tanto del jefe del área de Microbiología Clínica como de los analistas que laboran en dicha área.

4. DEFINICIONES:

- **Asa de siembra:** Es un instrumento utilizado en microbiología para transferir microorganismos de un medio a otro. Consiste en un mango con un alambre delgado que termina en un lazo o asa. Se usa para realizar siembras y aislamientos de bacterias y hongos en medios de cultivo.
- **Mechero Bunsen:** Es un dispositivo que produce una llama abierta y se utiliza en laboratorios de ciencias para calentar, esterilizar o combustionar muestras. Funciona con gas combustible, como metano, y su diseño permite ajustar la cantidad de aire que se mezcla con el gas para controlar la temperatura y el tipo de llama.
- **Chromagar Candida:** Es un medio de cultivo cromogénico especializado utilizado para la identificación y diferenciación de especies de Candida. Las diferentes especies de Candida producen colonias de distintos colores en este medio, lo que facilita su identificación.

- **Esterilizar:** Es el proceso de eliminar o destruir todos los microorganismos, incluyendo bacterias, virus, hongos y esporas, en un objeto o superficie. Se puede lograr mediante métodos físicos, como el calor (autoclave), o químicos, como desinfectantes y esterilizantes.
- **Sistema VITEK:** Es un sistema automatizado utilizado en microbiología clínica para la identificación de microorganismos y la determinación de su sensibilidad a los antimicrobianos. Utiliza tarjetas específicas que contienen diferentes sustratos y reactivos, y proporciona resultados rápidos y precisos mediante análisis computarizado.
- **Tubo Germinativo:** Es un método de laboratorio utilizado para identificar *Candida albicans*. Consiste en incubar una muestra del microorganismo en suero durante un período corto, generalmente 2-3 horas, a 37°C. Si *Candida albicans* está presente, formará tubos germinativos, que son estructuras alargadas que indican la germinación de las células de levadura.
- **Autoclavar:** Es el proceso de esterilización mediante el uso de un autoclave, que es un dispositivo que utiliza vapor de agua a alta presión y temperatura para destruir todos los microorganismos, incluyendo bacterias, virus, hongos y esporas, en materiales y equipos. Este método es comúnmente utilizado en laboratorios, hospitales y en la industria para asegurar que los instrumentos y medios de cultivo estén libres de contaminantes antes de su uso.

5. MATERIALES Y EQUIPOS:

- Tubos de ensayo estériles
- Asa de siembra
- Mechero Bunsen
- Microscopio
- Hisopos
- Agua estéril
- Suero fisiológico estéril
- Solución de hidróxido de potasio al 10%
- Medio de cultivo Chromagar para *Cándida*.
- Equipo automatizado de identificación (Sistema VITEK).

- Pipetas automáticas y puntas estériles.
- Incubadora.

6. PROCEDIMIENTO:

6.1. TUBO GERMINATIVO

Método para identificar levaduras, considerada como una prueba específica para diferenciar *Cándida* tipo *albicans* del tipo “no *albicans*”, a continuación, se presenta una descripción general del proceso de preparación:

- Rotular los tubos a utilizarse para una correcta identificación.
- Trasvasar de 0.5-1 mL de suero o plasma de conejo o humano en un tubo de ensayo.
- Esterilizar el asa a utilizarse
- Suspende en el tubo con suero o plasma una porción pequeña de una colonia aislada de levadura.
- Incubar el tubo a 35-37°C por 2 horas como máximo, para permitir la formación de tubos germinativos
- Colocar una gota de la suspensión entre porta y cubre objetos
- Examinar al microscopio buscando la presencia de tubos germinales.
- Esta prueba es inválida si el examen se realiza luego de transcurridas las 2 horas.

A. OBSERVACIÓN BAJO EL MICROSCOPIO

- Después de la incubación, observe una gota del cultivo en el tubo de ensayo bajo el microscopio a 40x de aumento.
- Busque la presencia de tubos germinativos, que son extensiones largas y delgadas que se proyectan desde las células de *Candida albicans*.
- Prueba negativa: no forma tubos germinales por lo tanto no es *Cándida*, o es de tipo “no *albicans*”
- Prueba positiva: formación de tubos germinales por lo que es *Cándida* de tipo *albicans*.

B. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:

- Prueba negativa: no forma tubos germinales por lo tanto no es Candida, o es de tipo “no albicans”
- Prueba positiva: formación de tubos germinales por lo que es Candida de tipo albicans.

6.2. MEDIO DE CULTIVO CHROMAGAR

A. PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO

El medio de cultivo Chromagar Candida se prepara siguiendo las instrucciones del fabricante, ya que las formulaciones pueden variar ligeramente entre los diferentes fabricantes. Sin embargo, a continuación, se presenta una descripción general del proceso de preparación:

B. PREPARACIÓN DEL MEDIO BASE:

- Disolver la cantidad adecuada de medio de cultivo Chromagar Candida en agua destilada o desionizada calentada hasta alcanzar aproximadamente 50°C.
- Mezclar bien para asegurar una distribución uniforme del medio en el agua.

C. AUTOCLAVADO:

- Autoclavar el medio a 121°C durante 15 minutos para esterilizarlo.
- Después del autoclavado, permitir que el medio se enfríe a aproximadamente 50°C antes de usarlo.

D. ADICIÓN DE SUPLEMENTOS:

- Si es necesario, agregar suplementos selectivos o diferenciales al medio de cultivo Chromagar Candida. Por ejemplo, para inhibir el crecimiento de bacterias, se puede añadir un agente antimicrobiano como el cloranfenicol.
- Mezclar cuidadosamente para asegurar una distribución uniforme de los suplementos en el medio.

E. VERTIDO DE PLACAS:

- Verter el medio de cultivo esterilizado y suplementado en placas de Petri estériles.
- Dejar solidificar el medio antes de su uso.

6.3. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA:

Si la muestra es sólida, debe emulsionarse en solución salina estéril. En caso de que la muestra sea líquida, se debe homogeneizar suavemente.

A. SIEMBRA EN EL MEDIO CHROMAGAR:

La siembra en el medio de cultivo Chromagar Candida con pipetas estériles, se realiza siguiendo estos pasos:

- Utiliza una pipeta estéril para tomar una muestra de la suspensión microbiana o la muestra clínica.
- Coloca la punta de la pipeta en la superficie del medio Chromagar.
- Libera suavemente la muestra sobre el medio, distribuyéndola de manera uniforme.
- Para muestras líquidas, puedes utilizar una pipeta automática para obtener volúmenes precisos.
- Siembre en forma de estrías para obtener colonias individuales y bien separadas.
- Repite el proceso para todas las muestras que desees sembrar en la placa de medio Chromagar.

Para sembrar en el medio de cultivo Chromagar Candida con hisopo estéril, se realiza siguiendo estos pasos:

- Moja el hisopo en la muestra clínica o en la suspensión microbiana que se desea sembrar.
- Exprime suavemente el hisopo contra el borde de la boca del tubo para eliminar el exceso de líquido.

- Siembra el hisopo en la placa de medio Chromagar, presionando ligeramente y frotando el hisopo sobre la superficie del medio para distribuir la muestra, se realiza en 4 direcciones diferentes para identificar colonias separadas
- Repite el procedimiento con un hisopo nuevo para cada muestra que desees sembrar.

B. INCUBACIÓN:

Incube las placas a 37°C durante 24-48 horas.

C. LECTURA DE RESULTADOS:

Después de la incubación, examine las placas para la presencia de colonias características de *Candida albicans* en el medio Chromagar. *Candida albicans* aparecerá como colonias verdes.

Confirme la identificación de *Candida albicans* utilizando pruebas adicionales si es necesario.

6.4. IDENTIFICACIÓN AUTOMATIZADA CON VITEK



Es un sistema que utiliza tarjetas con reactivos colorimétricos, las que son inoculadas con la suspensión de un cultivo puro microbiano y el perfil de desarrollo es interpretado de forma automática.

Las tarjetas reactivas tienen 64 pozos que contienen, cada uno, un sustrato de prueba individual. Con estos sustratos se miden

varias actividades metabólicas como acidificación, alcalinización, hidrólisis enzimáticas y desarrollo en presencia de sustancias inhibidoras. Las tarjetas están selladas en ambos lados por una película clara que evita el contacto entre las diferentes mezclas sustrato-microorganismo y a la vez permite la transmisión del nivel de oxígeno apropiada. Cada tarjeta tiene un tubito de transferencia pre-insertado para la inoculación. Estas tarjetas

tienen códigos de barras que contienen información sobre el tipo de producto, número de lote, fecha de caducidad y un identificador único que puede ser ligado a la muestra ya sea antes o después de cargar la tarjeta al sistema.

Existen 4 tipos de tarjetas reactivas disponibles para la identificación de diferentes clases de organismos:

1. GN – Bacilos Gram negativos fermentadores y no fermentadores.
2. GP - Cocos y bacilos no formadores de esporas Gram positivos
3. YST – Levaduras y organismos levaduriformes
4. BCL – Bacilos formadores de esporas Gram positivos.

A. PREPARACIÓN DEL SISTEMA VITEK:

- Utiliza una colonia pura de *Candida albicans* de un cultivo previo en un medio adecuado, como agar Sabouraud más cloranfenicol o gentamicina.
- Suspende la colonia en un tubo de ensayo que contenga un volumen adecuado de solución salina estéril o en un medio de transporte compatible con el sistema VITEK, es importante que la suspensión sea homogénea
- Se ajusta con la escala McFarland de 1.8 a 2.0
- Saca el cartucho del embalaje protector siguiendo las instrucciones del fabricante.
- Verifica la integridad del cartucho y asegúrate de que no haya daños visibles.
- Etiqueta el cartucho de acuerdo con la muestra que vas a analizar y la información requerida por el laboratorio.
- Utiliza una pipeta estéril para cargar la muestra de *Candida albicans* en los pocillos designados del cartucho, siguiendo las instrucciones específicas del fabricante.
- Asegúrate de cargar la muestra en los pocillos correctos y en la cantidad adecuada.
- Una vez que la muestra ha sido cargada, selle el cartucho según las indicaciones del fabricante para evitar fugas y contaminación durante el procesamiento.
- Coloca el cartucho en el sistema VITEK de acuerdo con las instrucciones del fabricante.
- Asegúrate de que el cartucho esté colocado correctamente para evitar errores en el análisis.

- Inicia el proceso de análisis en el sistema VITEK según las instrucciones del fabricante.
- El sistema VITEK realizará pruebas automatizadas para identificar la especie de *Cándida* presente en la muestra.

B. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:

- Una vez que el sistema VITEK haya completado el análisis, interpreta los resultados según las indicaciones del fabricante.
- Los resultados suelen estar disponibles en forma de informe impreso o en formato digital, dependiendo del sistema específico.

C. CONTROL DE CALIDAD:

- Realice controles de calidad regularmente para verificar la eficacia de los procedimientos.
- Utilice cepas de control conocidas para validar los resultados.

7. REFERENCIAS:

- Arenas Pillco, L. V., & Rosas Paytan, R. V. (2020). Rendimiento de la prueba del tubo germinativo con albumina de huevo en la identificación de *Cándida albicans*, 2020.
- Dickinson, R. A. (Marzo de 2017). BBL CHROMagar MRSAII - BD. Obtenido de: <https://legacy.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/HB/CE/PA/ES-PA257434.pdf>
- Koneman E, c. (2008). Diagnóstico Microbiológico. Texto y atlas color. . Madrid: Editorial Medica Panamericana.
- Leal Castro, AL, Buitrago Gutierrez, G., Ovalle, MV, Cortés, JA, Álvarez Moreno, CA, & La Rotta, J. (2010). Comparación de la actividad in vitro de la tigeciclina mediante la prueba de difusión con disco, el método de microdilución manual y el sistema automatizado Vitek 2. Revista argentina de microbiología, 42 (3), 208-211.



Firmado electrónicamente por:
VÍCTOR HERNÁN
GUANGASIG TOAPANTA

Bq.F. Mg. Víctor Hernán Guangasig Toapanta
c.c.: 180338438-5
TUTOR