VITAE Academia Biomédica Digital
Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela
Octubre-Diciembre 2010 N°44
ISSN 1317-987X

Artículos

- Prevalencia y sensibilidad de *Candida spp* a fluconazol en la clínica de la Sociedad Anticancerosa de Maracay, Venezuela.
- Introducción
- Materiales y métodos
- Resultados
- Discusión
- Referencias

Vilma J. Llovera Suarez
vilmj15@yahoo.com
Profesora Asociada UCSA

Micología

Prevalencia y sensibilidad de *Candida spp* a fluconazol en la clínica de la Sociedad Anticancerosa de Maracay, Venezuela.

Fecha de recepción: 03/10/2010
Fecha de aceptación: 21/12/2010

Para establecer la prevalencia de Candidiasis Vulvovaginal (CVV), registrar las manifestaciones clínicas y los factores de riesgo asociados así como, identificar las especies del género *Candida* y determinar la sensibilidad a fluconazol por dos métodos, fueron estudiadas 294 mujeres que acudieron a la Clínica de la Sociedad Anticancerosa de Junio a Noviembre de 2006. La prevalencia de CVV fue de 19,39%. Se identificó: *C. albicans* en 42,11% (24/57), seguida de *C. glabrata* 33,33% (19/57), *C. guilliermondii* 5,26% (03/57), *C. parapsilosis* 3,51% (02/57), *Candida* spp. 5,26% (03/57), *C. tropicalis* 1,75% (01/57) y *C. kefyr* 1,75% (01/57). El análisis estadístico reveló que el ardor, prurito y flujo fueron los signos y síntomas asociados a CVV (p<0,01). La edad entre 20-29 años y el uso prolongado de antibiótico fueron los factores de riesgo significativos (p<0,01). De las cepas de *C. albicans* identificadas, 16 (76,19%) fueron sensibles a fluconazol por ambos métodos con 95,24% de concordancia, las cepas de *C. glabrata* fueron 100% resistentes por el método de referencia exhibiendo 57,14% de concordancia.

Palabras Claves:Candidosis Vulvovaginal (CVV), Candida, fluconazol, sensibilidad, M27-A2, M44-A

Title
Prevalence and susceptibility of *Candida spp* to fluconazol at an Anticancer Society clinic in Maracay, Venezuela.

Abstract
In order to establish the prevalence of VVC, to register the clinical manifestations and associated risk factors as well as, to identify *Candida* species and determining fluconazole susceptibility by two methods, 294 women were studied who attended the Anticancer Society clinic from June to November 2006. The VVC prevalence was 19.39%. The following species were identified: *C. albicans* 42.11% (24/57), followed by *C. glabrata* 33.33% (19/57), *C. guilliermondii* 5.26% (03/57), *C. parapsilosis* 3.51% (02/57), *Candida* spp 5.26% (03/57), *C. tropicalis* 1.75% (01/57) and *C. kefyr* 1.75% (01/57). It was found that itching, burning and vaginal discharge represented the signs and symptoms associated to VVC (p<0.01). Ages between 20-29 years and prolonged antibiotic therapy were risk factors CVV (p<0.01). 76.19% (16) *C. albicans* isolates were susceptible to fluconazole for both methods with 95,24% concordance. In contrast, 100% *C. glabrata* isolates were resistant for the reference method showed 57.14% concordance.

Key Word
Vulvovaginal Candidosis (VVC), prevalence, fluconazole, M27-A2, M44-A

Prevalencia y sensibilidad de *Candida spp* a fluconazol en la clínica de la Sociedad Anticancerosa de Maracay, Venezuela.

Introducción

La Candidiasis Vulvovaginal (CVV) es una infección oportunista causada por varias especies del género *Candida*, constituye la segunda causa de infección del tracto genitourinario en mujeres en edad reproductiva,[1]. La prevalencia de esta infección varía ampliamente entre las poblaciones estudiadas [2,3,4,5].

Además de *C. albicans* otras especies del género, *Candida no albicans*, han incrementado su importancia desde el punto de vista clínico como agentes etiológicos [2,6,7,8].Tendencia que ha sido registrada en Venezuela por diversas investigaciones [9,10,11]. Por lo que, actualmente se

considera de vital importancia la identificación de las especies de *Candida* causantes de infección por su implicación en la elección del tratamiento [8,9,11,12,13].

Desde hace algunos años en el ámbito mundial va aumentando el número de mujeres que padecen vaginitis crónica o recurrente por *Candida* la cual, responde sólo parcialmente al tratamiento antifúngico tópico [8,14,15,16,17]. Situación relacionada a factores como infección por diferentes biotipos acompañados de cambios en la sensibilidad y el desarrollo de resistencia, aparición de resistencia intrínseca por parte de algunas especies de *Candida no albicans* y resistencia cruzada [1], sumado a estos factores está la práctica de la automedicación o la administración incompleta del tratamiento, por el elevado costo del mismo.

En cuanto al tratamiento para la CVV entre las opciones terapéuticas están los fármacos del grupo azólico aplicados de manera tópica, y el fluconazol, la alternativa de administración por vía oral utilizado en el tratamiento de infecciones fúngicas vaginales, orales y sistémicas [18]. Sin embargo, está documentada la aparición de resistencia en algunos miembros del género Candida a fluconazol y otros fármacos, en cepas aisladas de diferentes localizaciones del cuerpo humano [7,19,20,21,22,23,24]. En consecuencia, uno de los retos planteados en el área de la investigación en antifúngicos, es el monitoreo de la sensibilidad a los mismos, para conocer las tendencias en los diferentes grupos de individuos debido a la repercusión que ello tiene en la indicación del tratamiento [8,12,13,25,26]. De manera, que para obtener datos fidedignos acerca de la situación planteada previamente, esta investigación tiene el propósito de determinar la prevalencia de CVV y determinar la sensibilidad a fluconazol de *Candida* spp en aislamientos vaginales de mujeres que acuden a la pesquisa de cáncer de cuello uterino.

Materiales y métodos

Se llevó a cabo una investigación descriptiva de corte transversal [27] la población estuvo alrededor de 7000 mujeres que acudieron a la pesquisa de cáncer de cuello uterino entre julio y diciembre del año 2006, en la Clínica de Prevención de Cáncer de la Sociedad Anticancerosa del estado Aragua, Maracay, Venezuela, ubicada en el Municipio Girardot. La muestra fue probabilística y conformada por 303 de ellas (95% de intervalo de confianza y 2% de error muestral) [28] a las referidas mujeres se les solicitó el consentimiento, luego, se aplicó un cuestionario para obtener datos socio demográficos y clínicos a fin de determinar la prevalencia y los factores de riesgo asociados a la infección. La identificación de las levaduras se realizó durante ese mismo año utilizando el procedimiento descrito abajo. Sin embargo, las pruebas de sensibilidad fueron llevadas a cabo en el año 2008.; fueron ensayadas 59 cepas de *Candida* spp aisladas del exudado vaginal de las referidas mujeres con CVV, las mismas se encontraban conservadas en agua destilada estéril con aceite mineral a temperatura ambiente, en la micoteca del Laboratorio de Micología de la Universidad de Carabobo Sede Aragua.

Procedimiento experimental.

Las muestras vaginales fueron tomadas de fondo de saco vaginal por el médico Gineco-Obstetra con espéculo e hisopo estéril, fueron transportadas en refrigeración (4°C) al laboratorio para su procesamiento. Los criterios de exclusión fueron: estar sometida a medicación antibiótica o antimicótica en los siete días previos a la toma de la muestra y el sangrado vaginal.

Examen Directo Cultivo e Identificación de Levaduras.

A la secreción vaginal se le practicó examen directo al fresco con tinta Parker y KOH 10%, y siembra por estría en placas con agar Sabouraud cloranfenicol, se incubaron por 48h a 37°C. Se consideró una CVV, aquellas muestras con crecimiento de 10 o más colonias de levaduras a las 48h. Colonias identificadas mediante las pruebas de producción de tubos germinativos en suero, producción de clamidoconidias en agar harina de maíz, crecimiento en cicloheximida y asimilación de azucares [29], características de crecimiento en CHROMagar Candida (Oxoid), para diferenciar *C. dubliniensis* se ensayaron varias pruebas: crecimiento a 42°C, utilización de xilosa como fuente de carbono [29], medio líquido Staib y medio liquido semilla de girasol [30]. Todas las pruebas de identificación excepto las de la última especie mencionada fueron repetidas antes del ensayo de sensibilidad.

Determinación de la sensibilidad a fluconazol

Como método de referencia se utilizó la técnica de microdilución en caldo descrita en el documento M27-A2 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2002) [31]. Para la preparación del inoculo se tomaron cada una de las cepas de *Candida* identificadas, las cuales fueron cultivadas 24h en placas de agar Sabouraud, a partir de estos se realizaron suspensiones celulares en agua destilada estéril hasta obtener la turbidez correspondiente a el patrón 0.5 de la escala de Mc Farland, equivalente a 10^6 UFC/mL. De la suspensión previa se hicieron diluciones 1:100 en el medio RPMI 1640 (con glutamina, rojo de fenol, sin bicarbonato-Sigma-) suplementado con glucosa 2% en buffer MOPS (0.165 M) ajustado a pH 7.0, la concentración final del inoculo fue de 0,5-2,5 X 10^3, a partir de éste se dispensó 180 µL en placas de microtitulación que previamente tenían diluciones seriadas del antifúngico de 0,5 a 128 µL, excepto en los pocillos de los extremos que fungían de control negativo y positivo. El fluconazol fue gentilmente donado por Pfizer Inc, Venezuela. La lectura se realizó de manera

visual después de 48h de incubación a 37°C. Considerando como Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) el pocillo sin crecimiento microbiano visible a través de una lente de aumento.

Con la finalidad de introducir un método alternativo, se realizó la determinación de sensibilidad a fluconazol por la técnica de difusión en agar Müller Hinton suplementado con glucosa al 2% y 0,5 µg/L de azul de metileno siguiendo el protocolo del documento M44-A de CLSI (2004) [32], utilizando discos de fluconazol de 25 µM (OXOID).

Ambos ensayos se hicieron paralelamente utilizando el mismo inoculo y por duplicado. Las cepas control fueron *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida glabrata* ATCC90030, *Candida krusei* ATCC6258, *Candida tropicalis* CCS0849, *Candida parapsilosis* ATCC22019, algunas suministradas por el Laboratorio de Micología del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" (INHRR).

Análisis de los Resultados

Los datos fueron agrupados en tablas de frecuencia para mostrar el rango, la media geométrica y promedio de las CMI, el porcentaje de cepas sensibles (S), sensibles dependientes de la dosis (SDD) y resistentes (R), la concordancia entre los métodos en la categorización de los resultados y los errores cometidos en la categorización. Los errores fueron considerados de acuerdo con el documento M27-A2 [31].

Resultados

De las 303 mujeres a quienes se les tomó la muestra vaginal siete fueron excluidas, la muestra definitiva fue de 294 pacientes. Se encontró una prevalencia de CVV de 19,39% (57/294) con un intervalo poblacional de 15,03%-24,38% (95% de confianza) en el período estudiado.

En la tabla 1 se muestra las especies de *Candida* causantes de CVV: *C. albicans* en 42,11%(24/57); seguida de *C. glabrata* 33,33% (19/57); *C. krusei* 7,02%(4/57); *C. guilliermondii* 5,26%% (3/57); *C. parapsilosis* 3,51% (2/57); *Candida* spp 5,26% (3/57); *C. tropicalis* 1,75% (1/57) y *C. kefyr* 1,75% (1/57), no se identificó *C. dubliniensis* en la muestra estudiada,

La distribución de los signos y síntomas evidenció que 63,40% (35/57) de las mujeres infectadas refirió alguno de estos al momento de la toma del exudado, 31,57% de ellas declaró haber padecido estos al menos en tres oportunidades anteriormente y 22,84% en cuatro oportunidades o más (Tabla 1).

Tabla 1. : Distribución de la frecuencia de agentes etiológicos de CVV en relación con la sintomatología y el uso previo de antimicóticos. Clínica de la sociedad anticancerosa de Maracay (CSAEA). Julio- Noviembre. 2006

Género/Especie	n (%)	SIGNOS Y SINTOMAS			USO PREVIO DE ANTIMICOTICOS VAGINALES	
		ACTUAL	PREVIAMENTE ≤3	PREVIAMENTE ≥4	<1 MES	>1MES
Candida albicans	24 (42,11)	21 (84%)	12 (48%)	7 (28%)	8 (32%)	11 (44%)
Candida glabrata	19 (33,33)	7 (35%)	4 (20%)	3 (15%)	3 (15%)	9 (45%)
Candida krusei	4 (7,02)	3 (75%)	2 (50%)		3 (75%)	3 (75%)
Candida guilliermondii	3 (5,26)	1 (33,33%)		1 (33,33%)		2 (66,66%)
Candida parapsilosis	2 (3,51)	1 (50%)		1 (50%)		1 (50%)
Candida tropicalis	1 (1,75)	1 (100%)		1 (100%)		1 (100%)
Candida kefyr	1 (1,75)	1 (100%)		1 (100%)		1 (100%)

Candida spp	3 (5,26)					
TOTAL	57 (100)	35 (63,40)	18 (31,57)	14 (22,80)	14 (24,56)	28 (49,12)

La frecuencia del uso previo de antimicótico en relación con la especie identificada reveló que 24,56% (14/57) de las mujeres con CVV expresó haberse aplicado o consumido estos de una semana a un mes previo a la toma de muestra y, 49,12% (28/57) entre un mes y año anteriormente (Tabla 1).

El rango de edad estuvo entre 20-49 años y, en torno de los factores de riesgo investigados, se encontró en mayor frecuencia el tratamiento con antibióticos 28%(14/50) seguido por la diabetes mellitus 8%(4/50), las alteraciones del sistema inmune 16%(8/50), el tratamiento con terapia de reemplazo hormonal 4%(2/50), el control de la natalidad 18%(9/50) con contraceptivos orales, el uso de dispositivo intrauterino o de métodos de barrera, así como, la utilización de ropa ajustada 18%(9/50) (datos no mostrados).

Por otra parte, la sensibilidad a fluconazol de las cepas de referencia se muestra en la Tabla 2 en la cual, es posible apreciar que las diferentes especies de *Candida* muestran resultados de acuerdo con lo registrado por los dos métodos ensayados [31,32].

Tabla 2.: Valores de CMI obtenidos para las cepas control de calidad por los métodos CLSI M27-A2 y CLSI M44-A.

Cepas control	Valores de referencia de CMI*	CMI* µg/mL	Rangos de diámetro de referencia**	MHAGAM** (mm)	% Concordancia De los resultados
C albicans **ATCC 90028**		**8 (S)**	**28-39**	**33 (S)**	**100**
C glabrata **ATCC 90030**	**32≥64**	**128 (R)**	**NE*** **	**18 (R)**	**100**
C parapsilosis **ATCC 22019**	**0,5-4,0**	**32 (SDD)**	**22-33**	**33 (S)**	
C. krusei **ATCC 6258**	**16,0≥64**	**32 (SDD)**	**NE*** **	**0 (R)**	

*CLSI M27-A2 Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

** CLSI M44-A Müller Hinton Agar suplementado con glucosa 2% y Azul de Metileno 0,5µg/mL (MHAGAM)

***NE: No Establecido

La comparación de la sensibilidad a fluconazol de las dos especies de Candida obtenidas como principales agentes etiológicos de CVV se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3.: Sensibilidad a fluconazol de Candida spp por los métodos CLSI M27-A2 y CLSI M44-A. CSAEA.

Especie (n)	**CMI* (µg/mL) % en cada categoría**								**MHAGAM** % en cada categoría**			**% Errores***			**% Concordancia**
	Rango	**CMI50**	**CMI90**	**Media geométrica**	**Promedio**	**S**	**SDD**	**R**	**S**	**SDD**	**R**	**Muy grave**	**Grave**	**Leve**	
C. albicans **(21)**	**1-128**	**4**	**64**	**5,38**	**16,95**	**16 (76,19)**	**2 (9,54)**	**3 (14,25)**	**16 (76,19)**	**1 (4,76)**	**4 (19,05)**	**1 (4,76)**	**3 (14,29)**		**95,24**
C. glabrata	**64-256**	**128**	**256**	**145,73**	**164**	**0**		**14 (100)**	**6 (42,86)**	**1 (7,14)**	**7 (50,0)**	**6 (42,86)**	**0**	**1 (7,14)**	**57,14**

(14)															

*CLSI M27-A2 Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

** CLSI M44-A Müller Hinton Agar suplementado con glucosa 2% y Azul de Metileno 0,5µ/L

En cuanto a la CMI de las 21 cepas *C. albicans*, el rango fue de 1-128, el 50% registró una CMI de 4,0 lo cual es considerado S, en concordancia con ese valor se halló la media geométrica, sin embargo la CMI90 y el promedio se aproximan a valores considerados SDD, la frecuencia de la CMI de esta especie fue: 76,19%(16) S, 14,25%(3) R y 9,54%(2) SDD.

Los resultados de las mismas cepas por el método de difusión revelaron 76,19%(16) S, 19,05%(4) R y 4,76%(1) SDD; al comparar los métodos se encontró 4,76%(1) errores muy graves y 14,29%(3) errores graves y un 95,24% de concordancia entre los métodos.

Por otra parte, si bien las 14 cepas *C. glabrata* exhibieron valores de CMI que confirman su resistencia al fármaco, el método de difusión reveló 50,00%(7) R, 42,86%(6) S y 7,14%(1) SDD lo que, al comparar los métodos se interpreta como 42,86%(6) de errores graves y 7,14%(1) errores leves y una concordancia de 57,14%.

Todos los aislamientos de *C.krusei* (4) y la cepa control, resultaron por el método de referencia S y SDD, en cambio fueron resistentes por el método de difusión, no encontrándose concordancia entre ambos métodos. Finalmente, unos pocos aislamientos de *C. parapsilosis* y *C. kefyr* fueron SDD por el método de referencia y S por difusión, considerándose error leve y otros de *C. guillermondii* y *C. tropicalis* fueron sensibles por ambos métodos (datos no mostrados).

Discusión

La CVV se ha reportado entre las primeras causas de infección vaginal en nuestro país [5,33,34] paradójicamente, no hay datos fidedignos acerca de su prevalencia debido a que no se realiza el diagnóstico micológico de rutina en todos los centros públicos y privados del país, lo que incluye a la clínica de la sociedad anticancerosa del estado Aragua.

La prevalencia de CVV (19,39%) aquí encontrada es baja en relación con la reportada en África 49,2% y 57,3% [2,35], en España 24% [3], en Sur América 21,7% - 39% (4,36,37,38) y en otros estados de Venezuela 22-24% [5,39]. Sin embargo, supera la cifra registrada en el estado (15,02%) por la Corporación de Salud del estado Aragua (CORPOSALUD) para el periodo 2003-2007 [40]; cifras que adicionalmente, revelan una prevalencia de 68,66% de leucorrea no específica que posiblemente, puede enmascarar casos de CVV no diagnosticados de manera apropiada tal vez, por falta de acceso al diagnóstico.

El predominio de *C. albicans* (42%) como agente etiológico de la infección así como la emergencia de *C. no albicans* está ampliamente documentado [11,17,36,41,42] no obstante, nuestros resultados revelan que las especies de *C. no albicans* la superan como grupo (56%), lo que tiene precedente en nuestro país [10]. Es de resaltar un estudio previo, en Maracay, que registró 68% de *C. albicans* y 32% de *C. no albicans* [42], enfatizando la emergencia de estas últimas en la etiología de la CVV en la región, destaca la supremacía de *C. glabrata*, lo cual coincide con diversas investigaciones [2,16,17,23,37,43,44].

En relación con los signos y síntomas registrados, la presencia de flujo, prurito y ardor se halló asociado a la CVV (p: 0,002 Kruskal Wallis; 0,07 coeficiente de Goodman y Kruskal Tau), lo que ha sido reportado [44],

sintomatología referida con mayor relevancia como el motivo principal de consulta [4,5,37] aunque, en éste estudio el principal motivo fue la pesquisa de cáncer.

Es notable el grupo de mujeres con CVV (22,8%) que refirió haber padecido cuatro veces o más estos síntomas, en virtud, que esto insinúa la posibilidad de sufrir de Candidosis Vulvovaginal Recurrente (CVVR) [14] que en caso de ser real, es muy superior al 5 -10% estimado previamente [17] lo que conduce a plantearse; sí ello tiene conexión con la práctica de los médicos de la institución de indicar simultáneamente tratamiento tópico y oral ante los signos y síntomas, con la automedicación declarada por estas mujeres u otras causas.

La posible CVRR se evidencia en casi todas las especies identificadas, cuya importancia estriba, en que las infectadas por *C. no albicans* suelen ser menos sensibles a los tratamientos con azoles [7,8,9,15,23] lo que complicaría su manejo clínico en un episodio de CVV posterior, no sólo por la resistencia cruzada, sino por la resistencia a otros azoles incluso de administración tópica vaginal que también ha sido reportada [9,22,23] incluso con el voriconazol, triazol de última generación que no ha sido administrado ampliamente [45].

En otro orden de ideas, la edad entre 20 y 29 años se reveló como factor de riesgo para CVV (Z:-2,419; p:0,014, correlación de Spearman 0,14), lo cual coincide con lo reportado por Okungbowa y col. [2], se ubica dentro de la edad de la vida sexual activa, es interesante que el segundo grupo en proporción fueron las mujeres en la década de los 40 años, probablemente, en consonancia con el motivo principal de consulta que era la pesquisa de cáncer de cuello

uterino, algunos reportes no reflejan esta observación[5].

Si bien la CVV es el resultado del desbalance de la flora vaginal, existen factores que conducen a esta situación [1], el único factor que mostró significancia estadística asociado a la CVV fue el consumo de antibióticos por tiempo prolongado (Correlación de Spearman 0,147), los otros factores investigados, por la pequeña cantidad de pacientes que los declaró, no fue posible establecer ninguna relación con la infección en la muestra estudiada. Todos los factores se correlacionaron con la prueba de Jonckheere-Terpstra o Kruskal Wallis resultando la independencia entre las variables (p>0,05).

Por otra parte, para estandarizar la metodología de difusión en agar [32] por ser más rápida, fácil y menos costoso, después de verificar la identificación de las cepas de *Candida* para ensayar los métodos de determinación de la sensibilidad a fluconazol y controlar las condiciones de cada técnica, se utilizaron cepas control ATCC cuyos resultados concuerdan plenamente con investigaciones llevadas a cabo con las mismas técnicas [26,45,46].

Los valores de la CMI obtenidos para *C. albicans* evidencian la aparición de cepas R y SDD en la cuarta parte de estas, situación que viene incrementándose aceleradamente [9,17] lo cual, se evidencia en Aragua al comparar con un estudio que reportó 100% de sensibilidad a fluconazol [47] que muestra el cambio en el perfil de sensibilidad a este antifúngico en pocos años, en pacientes en su mayoría inmunocompetentes.

En relación con los resultados de la técnica de difusión en agar, la elevada concordancia con los obtenidos por el método de referencia de microdilución; sugieren considerar esta técnica como una alternativa para evaluar la sensibilidad a fluconazol de *C. albicans*, con excelente capacidad predictiva, sí se toma como criterio que la infección por un microorganismo sensible *in vitro* responde al tratamiento adecuadamente en un 90% aproximadamente y las producidas por organismos resistentes o tratados inadecuadamente en alrededor de 60% [25].

En contraste con lo expuesto anteriormente, los resultados de las CMI de las cepas de *C. glabrata* revelaron 100% R, lo que representa la tendencia global [7,9,23,43]. En cuanto a los resultados por el método de difusión, la elevada discrepancia con respecto al método de referencia ha sido reportada anteriormente en menor magnitud [24,45] atribuyéndose a variaciones en las condiciones de la ejecución de la técnica entre otras causas [21,24,46]. En consecuencia, es necesario continuar trabajando para lograr la estandarización de los métodos de determinación de sensibilidad para las especies de *C. no albicans*.

De manera que, en el contexto de la población del área de influencia de la clínica de la sociedad anticancerosa de Maracay, es clara la necesidad de comenzar a monitorear los perfiles de sensibilidad a los antifúngicos utilizados en los esquemas de tratamiento tanto para la CVV como para otras entidades clínicas causadas por especies del género *Candida*, debido a las posibilidades reales de fallo terapéutico en episodios subsiguientes.

Los resultados obtenidos reflejan que transcurrida una década del siglo XXI, la CVV continua siendo un problema tanto para las mujeres quienes sufren las molestias causadas, como para médicos, micólogos e investigadores de diversos ámbitos, en virtud que, si bien se ha avanzado en el diagnóstico y tratamiento de la misma; no se ha resuelto constituye un problema con muchas aristas para abordar en los años venideros.

AGRADECIMIENTO

A las mujeres quienes gustosamente colaboraron participando en esta investigación, a todo el personal de la Clínica de la sociedad anticancerosa de Maracay por su invaluable participación para alcanzar los objetivos planteados en este trabajo y a la empresa privada por el respaldo económico aportado al proyecto.

Esta investigación fue parcialmente financiada por la Ley Orgánica de Ciencia y Tecnología (LOCTI) como proyecto ATF 3.1 2007.

Referencias

1. Bailey & Scott y col. Diagnóstico Microbiológico. 11ra ed. Editorial Médica Panamericana. Caracas: Venezuela; 2004; 753.

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

3. Guevara J, Bejar V, Cáceres A. Variedad de *Candida* en Mujeres con flujo vaginal anormal. *Anales de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Remo* (Revista en línea), 2000; 61(1). Disponible: http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevista/anales/vol61_n1/candida.htm

4. Ribeiro M, Dietze R, Paula CR, Da Matta DA, Colombo AL**.** Susceptibility profile of vaginal yeast isolate from Brazil. Mycopathol 2000; 151(1): 5-10.

5. Azzam M, Cermeño J, Orellán Y, Penna S. Vulvovaginitis por *Candida* spp. y *Trichomonas vaginalis* en mujeres sexualmente activas. Invest Clin 2002; 43(1): 3-13.

6. Nyirjesy, P. Chronic vulvovaginal candidiasis. Am Fam Physician 2001; 63(4): 667-670.

7. Pfaller MA, Diekema DJ. Role of sentinel surveillance of candidemia: Trends in species distribution and antifungal susceptibility. J Clin Microbiol 2002; 40: 3551-3575.

8. Rodríguez-Tudela J, Cuenca-Estrella M, Mellado E, Monzón A. Presente y Futuro de la Micología Médica. Enferm Infecc Microbiol Clin 2003; 21(Supl2): 75-80.

9. Panizzo M, Perez C, Maniscalchi M. Susceptibilidad in vitro a los antifúngicos de *Candida* sp. y serotipos de *Candida albicans* aisladas de pacientes con vaginitis primaria y recurrente (artículo en línea) Rev Soc Ven Microbiol, 2000; 20 (1) Disponible: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562000000100004&lng=es&nrm=iso.htm

10. Cherubini B, Sanchez-Mirt A, Garcia L. Candidosis vaginal en mujeres sexualmente activas habitantes de una zona rural del estado Falcón, Venezuela (artículo en línea). Rev Soc Ven Microbiol ene, 2003; *23*(1) Disponible: www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562003000100011&lng=es&nrm=iso>.htm

11. Mendoza M. Importancia de la Identificación de Levaduras. Rev Soc Ven Microbiol 2005*;* 25, 13-21.

12. Silva V, Díaz M, Febré N. Red de diagnóstico en Micología Médica. Vigilancia de la resistencia de levaduras a antifúngicos. Rev Chil Infect 2002; 19(suppl.2): 149-156

13. Tapia C. Actualización en pruebas de susceptibilidad antifúngica. Rev Chil Infect 2009; 26 (2): 144-156.

14. Sobel J, Chaim W. Vaginal microbiology of women with recurrent vulvovaginal candidiasis. J Clin Microbiol 1996; 34(10): 2497-98.

15. MacNeill C. y Carey C. Recurrent Vulvovaginal Candidiasis. Current Women´s Health Reports 2001; 1: 31-35.

16. Barrenetxea G. Vulvovaginitis candidiásica. Rev Iberoam Micol 2002; 19: 22-24.

17. Buscemi L, Arechabavala A, Negroni R. Estudio de la vulvovaginitis agudas en pacientes adultas, sexualmente activas, con especial referencia a la candidiasis, en pacientes del hospital de infecciosas Francisco J. Muñiz. Rev Iberoam Micol 2004; 21: 177-181.

18. Ghannoum MA, Kuhn DM. Voriconazole -- better chances for patients with invasive mycoses. Eur J Med Res 2002; 7:242-256.

19. Godoy P, Tiraboshi IN, Severo CL, Bustamante B, Calvo B, De Almeida LP. Species distribution and antifungal susceptibility profile of *Candida spp*. Bloodstream isolates from Latin American Hospitals. Mem Inst Oswaldo Cruz 2003; 98: 401-404.

20. Llovera V, Fernández C. Susceptibilidad *in vitro* de aislamientos vaginales de *Candida* frente a clotrimazol y nistatina. Rev Cub Med Trop 2003; 55 (3). 138-145.

21. Pai M, Jones A. Altered Susceptibility of *Candida glabrata* Bloodstream Isolates to Triazoles at Clinically Relevant pH Values: Comparison of the NCCLS M27-A2, Sensititre YeastOne, and Etest Methods. Antimicrob Agents Chemother 2003; 48(11):4441-4443.

22. Borst A, Raimer M, Warnock D, Morrinson C, Arthington-Skaggs B. Rapid Acquisition of Stable Azole Resistence by *Candida glabrata* Isolates Obtained before the Clinical Introduction of Fluconazole. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49(2): 783-787.

23. Sanguinetti M, Posteraro B, Fiori B, Ranno S, Torelli R, Fadda G. Mechanisms of Azole Resistence in Clinical Isolates of *Candida glabrata* Colleted during a Hospital Survey of Antifungal Resistence. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49(2): 668-679.

24. Rodero L, Córdoba S, Vivot W, Campo M, Corfield P, Olguín C, y col. Método de difusión con discos para la determinación de sensibilidad a fluconazol en aislamientos de *Candida* spp. Rev Argentina Microbiol 2006; 38(3), 155-163.

25. Gil J, Rubio C, Benito R. Criterios de Sensibilidad a los Azoles. (Ponencia) Rev Esp Quimioterap 2004; 17(1):83-90.

26. Cuenca-Estrella M, Rodríguez-Tudela J, Córdoba S, Melhem M, Szeszs M, Castañeda E, y cols. Red Regional de Laboratorios para la Vigilancia de las Infecciones Fúngicas Invasoras y Susceptibilidad a los Antifúngicos. Rev Panam Salud Publica 2008; 23(2): 129-134.

27. Hernández R, Fernández C, Baptista I. Metodología de la investigación. (3^{era} ed.). México: McGraw-Hill; 2003.

28. Cytel Software. (2003). StatXact 5®. *Statistical sofware for exact nonparametric inference*. User manual. Cytel Sofware. New Cork. USA.

29. Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P, Winn W. *Diagnóstico Microbiológico*. (5ª ed.). Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2004.

30. Staib P, Morschhäuer J. Liquid growth condition for abundant chlamydospore formation in *Candida dubliniensis* Mycoses 2005; 48: 50-54.

31. CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeast; Approved Standard-Second Edition. Document M27-A2. Wayne, Pennsylvania, USA. (2002).

32. NCCLS. Method for Antifungal Disk Difussion Susceptibility Testing of Yeast; Approved Guideline document M44-A. Wayne, Pennsylvania, USA. 2004.

33. Guillén M, Moreno F, López M, Omaña T, Altuve F, Toro M. Hallazgos microbiológicos cervicovaginales en pacientes de pesquisa de cáncer. Rev Fac Farm 2003; 45(1): 8-12.

34. González C, Moreno M, Nieves B, Flores A, Chille A, Carrero S, Rangel E. Flora vaginal en pacientes que asisten a consulta ginecológica. Rev Soc Ven Microbiol 2006; 26: 19-26.

35. Enweani I, Gugnani H, Okobia R, Ojo **S.** Effect of contraceptive on the prevalence of vaginal colonization with *Candida* species in Edo state, Nigeria. Rev Iberoam Micol 2001; 18: 171-173.

36. Galle L, Gianinni M. Prevalênce e susceptibilidade de levaduras vaginais. J Bras Patol Med Lab 2004; 40(4): 229-36.

37. López M, Albertoni T, Yoshida C, Mazucheli J, Peralta M, Estivalet T. Correlation of Candida species and symptoms among patients with vulvovaginal candidiasis in Maringá, Paraná, Brazil. Rev Iberoam Micol 2004; 21: 202-205.

38. Ferrazza M, Ferrarezi M, Lopes M, Suemi C, Estivalet T, Batista M. Caracterização de levaduras isoladas da vagina e sua associação com candidíase vulvovaginal em duas cidades do sul do Brasil. Rev Bras Ginecol Obstet 2005; 27(2): 210-215.

39. Mendoza M, González I, Vellorí E, Salazar W, Mendoza L, y cols. Aislamiento, identificación y serotipificación de levaduras obtenidas del flujo vaginal en pacientes con clínica de vaginitis. Invest Clin 1999; 40(1): 25-36.

40. Corporación de Salud del estado Aragua (CORPOSALUD). Información Estadística del programa Regional SIDA/ITS. 2009. Disponible en: http://www.corposaludaragua.gov.ve/web/modules.php?name=News&file=article&sid=40)

41. De la Parte M, Mendoza M, Brito A. (2006). Identificación de especies de levaduras del género *Candida*. VITAE. Academia Biomédica Digital Abril-Junio N° 27 http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?id_revista=137&id_ejemplar=3879

42. Guzmán A, Estrada G. Identificación de levaduras aisladas de exudado vaginal. Ambulatorio Urbano "Dr. Efraín Abad Armas". Trabajo de Grado para optar al título de Licenciado en Bioanálisis. Universidad de Carabobo, Maracay-Aragua. 2002.

43. Fidel P Jr, Vasquez J, Sobel J. *Candida glabrata*: Review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. Clin Microbiol Rev 1999; 12(1):80-96.

44. Llovera V, Perurena M. (2004). Identificación de levaduras de exudados vaginales: características clínicas asociadas a la candidiasis. Rev Cub Med Trop 2004; 56 (1): 21-25.

45. Cantón E, Pemán J, Bosch M, Viudes A, Gobernado M. Actividad del voriconazol sobre levaduras aisladas de hemocultivo determinadas por dos métodos. Rev Esp Quimioterap 2005; 18(4):308-312.

46. Ramani R, Chatuverdi V. Proficiency Testing Program for Clinical Laboratories Performing Antifungal Susceptibility Testing of Pathogenic Yeast Species. J Clin Microbiol 2003; 41(3): 1143-1146.

47. Colina D, Hidalgo M. Sensibilidad a Fluconazol de levaduras aisladas de exudado vaginal. Centro Clínico Industrial Santa Cruz. Trabajo de Grado para optar al título de Licenciado en Bioanálisis. Universidad de Carabobo, Maracay-Aragua. 2002.

NOTA: Toda la información que se brinda en este artículo es de carácter investigativo y con fines académicos y de actualización para estudiantes y profesionales de la salud. En ningún caso es de carácter general ni sustituye el asesoramiento de un médico. Ante cualquier duda que pueda tener sobre su estado de salud, consulte con su médico o especialista.