**UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUÍZ GALLO**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA**

# Prevalencia y susceptibilidad a antifúngicos de *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN). Hospital Regional Lambayeque. Febrero 2018 – Mayo 2019.

**TESIS**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADA EN BIOLOGÍA - MICROBIOLOGÍA - PARASITOLOGÍA.

**Investigadores:**

Br. Villalobos Barboza, *Karina*

Br. Vásquez Zamora, *Keila Guillermina*

**Asesor:**

Dra. Vergara Espinoza, *Martha Arminda*

LAMBAYEQUE-PERÚ

2019

**UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUÍZ GALLO**
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**
**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA**

# TESIS

Prevalencia y susceptibilidad a antifúngicos de *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN). Hospital Regional Lambayeque. Febrero 2018 – Mayo 2019.

Presentada a la Facultad de Ciencias Biológicas para optar el título profesional de

LICENCIADA EN BIOLOGÍA – MICROBIOLOGÍA - PARASITOLOGÍA

**Presentada por**:

Br. Villalobos Barboza, *Karina*
Br. Vásquez Zamora, *Keila Guillermina*

**Aprobado por el siguiente jurado:**

Dra. Vásquez del Castillo, Ana María del Socorro _____
**Presidente**

Dra. Llontop Barandiarán, Gianina _____
**Secretaria**

Lic. Silva Estela, Julio César _____
**Vocal**

Dra. Vergara Espinoza, Martha Arminda _____
**Patrocinadora**

LAMBAYEQUE- PERÚ
2019

# DEDICATORIA

*En primer lugar, a Jehová Dios Todopoderoso por la vida, por haberme dado la sabiduría y fortaleza porque hoy concluye todo el esfuerzo y dedicación que demando la realización de esta tesis y por permitirme tener tan excelentes padres*

*A mi madre Emelina Barboza te dedico este logro a tu fortaleza, valentía y a tu comprensión y por brindarme ese amor incondicional que jamás perecerá, por ser mi mejor amiga y darme esos consejos sabios guiados en la biblia que son palabras de agua viva.*

*A mi padre Cesar Villalobos, dedico mi trabajo a tu gran esfuerzo que desempeñas a diario, y conocer el precio de tener una gota de sudor en la frente y transmitirme tu misma fuerza, habilidades en el desarrollo de mi vida*

*Gracias padres por los consejos valores y principios que me han inculcado, son mi compañía indispensable, a través de ustedes pude entender y comprender el tamaño y alcance de su amor, su entrega, y confianza en mí.*

*A mi hermana Eniht Villalobos por estar ahí cuando más necesite de tu apoyo, y estar siempre para escucharme y ayudarme a no darme por vencida, es uno de los pilares de mi vida.*

*A mi hermano Evert Villalobos por regalarme la mejor infancia, juegos, risas, llantos y alegrías que jamás cambiaría por nada y por compartir tu tiempo en el desarrollo de mi trabajo.*

*A mi mejor amiga Marisol Ventura por haberme brindado su apoyo incondicional y dándome fuerzas para seguir adelante.*

*A mi compañera de tesis y amiga Keila Vázquez por haber formado un equipo de trabajo para lograr esta meta y por tu sincera amistad como dice Proverbios 17: 17 "Una compañera verdadera ama en todo tiempo y es una hermana nacida en tiempo de angustia"*

*Karina Villalobos Barboza*

*A mis padres Segundo Guzmán Vásquez Núñez y María Lider Zamora Vásquez, quienes ejercen el arte supremo del Maestro y van despertando el goce de la expresión creativa y del conocimiento en cientos de niños pero especialmente en mi persona y mis queridos hermanos, quienes agradeceremos su paciencia, cariño y apoyo incondicional además de mostrarnos que el camino hacia a la superación siempre va depender de nosotros mismo.*

*Y de manera especial, agradecer a Karina Villalobos Barboza por mi inclusión en esta investigación, convirtiéndose en el símbolo bíblico del maná enviado por Dios para mi persona y así poder concluir nuestra etapa universitaria, siendo un gesto que nunca olvidare y estaré eternamente agradecida.*

*Keila Guillermina Vásquez Zamora*

**AGRADECIMIENTO**

*A Dios, por enseñarnos que "sí esperamos lo que todavía no tenemos, en la espera mostramos nuestra constancia" Romanos 8:25, para hoy poder decir meta lograda.*

*Agradecer a la Dra. Martha Arminda Vergara Espinoza por el tiempo brindado por sus consejos y enseñanzas como docente en nuestra época universitaria, así como también por brindarnos las pautas necesarias, sus sugerencias y comentarios como asesora y por la confianza en cada decisión tomada durante el proceso de realización de esta investigación.*

*Agradecer al Msc. Roberto Ventura Flores por la cogida y la disponibilidad brindada para contribuir el inicio, desarrollo y final de esta investigación.*

*Agradecer nuestros padres, a quienes admiramos por su fuerza, entrega y amor hacia nosotros, por ser pilar de nuestra educación e inculcarnos valores que hoy podemos reflejar ante la sociedad.*

*Agradecemos al Hospital Regional de Lambayeque, por habernos dado la oportunidad de realizar nuestra investigación en sus instalaciones. .*

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS ..... 7

RESUMEN ..... 9

ABSTRACT ..... 10

INTRODUCCIÓN ..... 11

CAPITULO I. DISEÑO TEÓRICO ..... 13

1. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS ..... 13
2. BASE TEÓRICA ..... 17

CAPITULO II. DISEÑO METODOLÓGICO ..... 21

1. Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis ..... 21
2. Población ..... 21
3. Muestra ..... 21
4. Técnica e instrumentos de recolección de datos ..... 21
5. Obtención de la muestra ..... 21
6. Procedimiento: ..... 22
7. Consideraciones éticas de la investigación ..... 25

CAPITULO III. RESULTADOS ..... 26

1. Identificación de especies de *Candida* no-*albicans* aisladas de pacientes de unidades críticas. ..... 26
2. Prevalencia de *Candida* no-*albicans* aisladas de pacientes de unidades críticas. ..... 26
3. Susceptibilidad antifúngica de *Candida* no-*albicans* aislados de pacientes de unidades críticas. ..... 29

Comparación de la prevalencia de especies *Candida* no-*albicans* según la edad, género, servicios hospitalarios, tipo de muestra, uso previso de antimicrobiano y los cuadros patológicos de los pacientes de unidades críticas. ..... 30

CAPITULO IV. DISCUSIÓN ..... 34

CAPITULO V. CONCLUSIONES ..... 38

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS ..... 40

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

### TABLAS

**Tabla 1:** Cepas de *Candida* no-*albicans a*islada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) del Hospital Regional Lambayeque Febrero 2018– Mayo 2019. ..... 26

**Tabla 2:** Prevalencia de *Candida* no- *albicans* y otros microorganismos aislados de pacientes de unidades críticas (UCI , UCIN) del Hospital Regional de Lambayeque Febrero 2018 – Mayo 2019. ..... 26

**Tabla 3:** Susceptibilidad antifúngica al fluconazol de *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI , UCIN) del Hospital Regional Lambayeque Febrero 2018 – Mayo 2019. ..... 29

**Tabla 4:** Susceptibilidad antifúngica al voriconazol de *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) del Hospital Regional Lambayeque Febrero 2018 – Mayo 2019**.** ..... 30

**Tabla 5:** Prevalencia de especies *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI , UCIN) según la edad del Hospital Regional Lambayeque Febrero 2018 – Mayo 2019. ..... 31

**Tabla 6:** Prevalencia de especies *Candida* no-*albicans* aislada en los pacientes de unidades críticas (UCI , UCIN) según el género del Hospital Regional Lambayeque Febrero 2018– Mayo 2019**.** ..... 31

**Tabla 7:** Prevalencia de especies *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) según el servicio hospitalario del Hospital Regional Lambayeque Febrero 2018 –Mayo 2019. ..... 31

**Tabla 8:** Prevalencia de especies *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) según el tipo de muestra. Hospital Regional Lambayeque Febrero 2018 – Mayo 2019. ..... 32

**Tabla 9:** Prevalencia de especies *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) según el uso previo de antimicrobianos. Hospital Regional Lambayeque Febrero 2018 – Mayo 2019**.** ..... 32

**Tabla 10:** Prevalencia de especies *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) según el cuadro patológico de base de los pacientes. Hospital Regional Lambayeque Febrero 2018 – Mayo 2019. ..... 33

**FIGURAS**

**Figura 1.** Técnica descrita por Linares y Solís en agar harina de maíz. ..... 23

**Figura 2.** Condiciones ópticas de humedad. ..... 23

**Figura 3.** Morfología de las especies en la prueba de tubo germinal. ..... 27

**Figura 4.** Observación microscópica en agar harina maíz + tween 80. ..... 27

**Figura 5.** Observación macroscópica en CHROMagar TM Candida ..... 28

**Figura 6:** Susceptibilidad antifúngica al fluconazol de *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) del Hospital Regional Lambayeque Febrero 2018 – Mayo 2019. ..... 29

**Figura 7:** Susceptibilidad antifúngica al voriconazol de *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) del Hospital Regional Lambayeque Febrero 2018 – Mayo 2019. ..... 30

**RESUMEN**

El objetivo del estudio fue determinar la prevalencia y susceptibilidad a antifúngicos de *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) del Hospital Regional Lambayeque entre los meses de Febrero 2018 a Mayo del 2019. El estudio es descriptivo y prospectivo, los instrumentos utilizados fueron los cuadernos de registro del laboratorio de Microbiología. Se trabajó con todos los resultados de los aislados de los pacientes que totalizaron 232 cepas de microorganismos aislados en el Laboratorio de Microbiología; la susceptibilidad antifúngica a fluconazol y voriconazol se realizó según el CLSI- M2-A3 (Disco difusión del Manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico micológico). Las características evaluadas fueron edad, género, servicio hospitalario, tipo de muestra, uso previo de antimicrobiano y cuadro clínico patológico. Se determinó 46 aislamientos de *Candida* no-*albicans*, siendo la prevalencia de 19,8%, mayor a la de *Candida albicans* (11.2%). Las diversas especies fueron *Candida tropicalis* (67,4%, 31/46), *Candida glabrata* (17,4%, 8/46), *Candida parapsilosis* 10.9% (5/46) y *Candida krusei* 4,3% (2/46). Según la susceptibilidad, el 80,4% y el 78,3% de las especies de *Candida* no-*albicans* fueron sensibles al fluconazol y voriconazol respectivamente. Los aislamientos de *Candida* no-*albicans* correspondieron a: Orina (45.7%), Secreción traqueal (34.8%), Sangre (13.0%), Líquido peritoneal (6.5%) y el servicio con más aislamientos fue la unidad de cuidados intensivos con 18 (58,1%). El predominio de las especies de *Candida* no-*albicans* en pacientes de UCI y el aumento de resistencia a voriconazol tienen una gran influencia en la morbilidad.

**Palabra clave:** *Candida tropicalis, Candida glabrata, Candida parapsilosis* y *Candida krusei,* Susceptibilidad antifúngica.

**ABSTRACT**

The objective of the study was to determine the prevalence and susceptibility to antifungals of non-*albicans Candida* isolated from critical unit patients (ICU, NICU) of the Lambayeque Regional Hospital between the months of February 2018 to May 2019. The study is descriptive and prospective, the instrument used was the logbooks of the Microbiology laboratory. We worked with all the results of the isolates of the patients that totaled 232 strains of microorganisms isolated in the Microbiology Laboratory; Antifungal susceptibility to fluconazole and voriconazole was performed according to CLSI-M2-A3 (Dissemination disc of the Manual of technical procedures for mycological diagnosis). The characteristics evaluated were age, sex, service of origin, type of sample, previous use of antimicrobial and clinical pathology. 46 isolates of non-*albicans Candida* were determined, the prevalence being 16.8%, higher than that of *Candida albicans* (11.2%). The various species were *Candida tropicalis* (67.4%, 31/46), *Candida glabrata* (17.4%, 8/46), *Candida parapsilosis* 10.9% (5/46) and *Candida krusei* 4.3% (2/46). According to susceptibility, 80,4 % and 78,3% of the non-*albicans Candida* species were sensitive to fluconazole and voriconazole respectively. The non-*albicans Candida* isolates corresponded to: urine (45.7%), tracheal secretion (34.8%), blood (13.0%), peritoneal fluid (6.5%) and the service with more isolates was the intensive care unit with 18 (58.1%). The predominance of non-*albicans Candida* species in ICU patients and increased resistance to voriconazole have a great influence on morbidity.

**Keywords**: *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida krusei*, Antifungal susceptibility.

# INTRODUCCIÓN

La candidiasis es la segunda infección más importante en pacientes hospitalizados, es causada por especies de *Candida*, levaduras comensales de la piel y las mucosas que en dichos pacientes pueden volverse patógenos oportunistas (Pfaller y Castanheira, 2016; Lazo, Hernández, y Méndez, 2018). En esta población de pacientes los avances en medicina son cada vez más eficaces pero también más agresivos ya que parte de ellos son sometidos a procedimientos terapéuticos complejos, siendo necesario su ingreso a unidades de cuidados críticos (Soto, 2019), en donde entre el 9 y el 20% son susceptibles de adquirir infecciones nosocomiales por diferentes microorganismos de los cuales el 10,6% son hongos (Asensio, Hernández, Yus, y Minvielle, 2018).

Los pacientes críticamente enfermos están predispuestos a adquirir la infección nosocomial por factores de riesgo como terapias inmunosupresoras, supresión de la microflora bacteriana intestinal por el uso de antimicrobianos de amplio espectro y el ayuno prolongado que aumentan el riesgo de translocación intestinal; además de sufrir, dichos pacientes, procedimientos invasivos de ventilación mecánica, uso de catéteres y el sondaje vesicular y nasogástrico que alteran sus mecanismos básicos de defensa (Pemán y Salavert, 2013). Teniendo un alto impacto en la morbilidad y mortalidad, generando un mayor tiempo de hospitalización y la demanda de costosos tratamientos en salud pública (Asensio, Hernández, Yus, y Minvielle, 2018).

En las últimas décadas, varios países están reportando el surgimiento de diferentes especies de *Candida* no-*albicans* como causa de candidiasis, probablemente esto está relacionado con la mejora en los métodos de diagnóstico rutinario y el uso de fluconazol en unidades de cuidados críticos (Sadeghi, Ebrahimi-Rad, Mousavi, Shams-Ghahfarokhi, y Razzaghi-Abyaneh, 2018). Así mismo, se describen factores de riesgo para cada especie, así: pacientes neutrónicos con *Candida tropicalis* y *Candida krusei*, el uso previo de fluconazol con *C. krusei* y *Candida glabrata* y por último la nutrición parental con *Candida parapsilosis* que también es frecuente en pacientes neonatos sometidos a comunicación interventricular (Pemán y Salavert, 2013).

Los aislamientos de estas especies varían según la región geográfica, siendo *C. glabrata* aislada con mayor frecuencia en América del norte y Europa (Sadeghi *et al*., 2018), *C. parapsilosis* ocupa el segundo lugar en aislamientos en el sur de Europa y Asia (Tiraboschi, Pozzi, Farías, García, y Fernández, 2017) mientras que la especie *C. tropicalis* es más frecuente

en la India y América Latina (Whibley y Gaffen, 2015). En países como Brasil, Argentina y Colombia las especies más aisladas son *C. parapsilosis y C. tropicalis* y el aumento en frecuencia en los últimos años le corresponde a *C. glabrata* (Archimedes, Remondi, y Lopes, 2017).

Por otro lado, el incremento de antifúngicos como profilácticos, está conllevado a la resistencia a los mismos, especialmente al fluconazol. Algunas especies como *C. krusei* tienen resistencia innata a este, pero *C. glabrata* y *C. parapsilosis* presentar resistencia a los azoles debido al uso de periodos prolongados de tratamiento que pueden inducir mutaciones y *Candida lusitaniae* puede ser resistente a la anfotericina B (Archimedes *et al*., 2017; Pedraza, Olvera, Aguirre, Camarena, y Franco, 2017; Vieira de Melo *et al*., 2019). Por lo que la identificación de cada especie fúngica involucrada en la infección es de gran importancia en la decisión terapéutica.

En Perú todos los establecimientos de Salud de Nivel II-2, Nivel III-1 y Nivel III-2 cuentan con un área de cuidados intensivos (Ministerio de Salud, 2006) y en los últimos años en Lima se ha reportado una incidencia de 2,04 casos de candidemia por cada 1 000 hospitalizaciones habiéndose identificado *C. tropicalis* (24.7%), *C. parapsilosis* (25.3%), *C. glabrata* (9.5%) y *Candida guilliermondii* (2.9%), mientras que en Arequipa las especies reportadas fueron *C. parapsilosis* (22,54%), *C. glabrata* (12,68%), *C. tropicalis* (11,27%), *C. guillermondi* (5,63%), y *C. krusei* con 1,41% (Moreno-Loaiza y Moreno-Loaiza, 2017; Rodriguez *et al*., 2017).

En Lambayeque, el Hospital Regional de Lambayeque es de nivel III-1 y de mayor complejidad en la región norte del Perú donde se aíslan *Candida* no-*albicans* de urocultivos de pacientes de Unidades Críticas (Unidad de Cuidados Intensivos - UCI y Unidad de Cuidados Intermedios - UCIN), habiéndose determinado que aproximadamente del 6% al 8% de aislamientos corresponden a casos de candiduria, desconociéndose la real prevalencia, las especies involucradas y el perfil de susceptibilidad antifúngica. Por ello se cuestionó: ¿Cuál es la prevalencia y la susceptibilidad antifúngica de *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes en unidades criticas (UCI, UCIN) del Hospital Regional Lambayeque? Considerando que la prevalencia y la susceptibilidad antifúngica de dichos microorganismos es alta, se planificó y ejecutó la presente investigación cuyo objetivo es, determinar la prevalencia y la susceptibilidad a antifúngicos de *Candida* no-*albicans* aisladas de pacientes de unidades críticas de UCI y UCIN entre los meses de febrero del 2018 y mayo del 2019.

## CAPITULO I. DISEÑO TEÓRICO

## 1. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

En India evaluaron la epidemiología de Candidiasis y la susceptibilidad antifúngicos de especies de *Candida* no-*albicans*, según el CLSI-M27-A3, aislados de pacientes de la unidad de cuidados intensivos (UCI). Se obtuvieron 90 cepas de *Candida spp*. en diferentes muestras: orina (43,3%), aspirado traqueal (31,1%), catéter urinario (12,2%), tubo endotraqueal (7,8%), drenajes abdominales (3,3%) y esputo (2,2%). Las especies aisladas fueron, *C. tropicalis* (41.1%), *C. glabrata* (10%), *C. parapsilosis* (6.7%), *C. krusei* (3.3%) y *C. kefyr* (2,2%). En la susceptibilidad a los antifúngicos, el 37,8% y el 7,8% de los aislamientos de *Candida* mostraron resistencia a fluconazol y anfotericina B respectivamente (Kaur, Dhakad, Goyal, y Kumar, 2016).

También en Corea se realizó un estudio epidemiológico acerca de candidemia durante 6 años, donde *C. tropicalis* (36,4%) fue la especie más aislada, seguida de *C. glabrata* (28,5%), *C. parapsilosis* (24,7%) y *C. krusei* (2,6%). La susceptibilidad a los antifúngicos se reportaron según las directrices del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio, 2017 (CLSI); para el fluconazol: *C. parapsilosis* (3.2%), *C. tropicalis* (2.4%) y *Candida spp*. (6.9%) no fueron susceptibles y 95,1% de *C. glabrata* se clasificaron como dependientes de dosis susceptibles (SDD) y el 100% de aislamientos de *C. krusei* como resistentes, mientras que para el voriconazol, *C. glabrata* (7.3%) fue la especie con más alto índice de no susceptibilidad (Ko *et al.*, 2018).

A su vez en China con el objetivo de investigar la frecuencia de candidemia por *Candida* no-*albicans* en pacientes críticos entre el 2009 y 2011, se aisló un total de 244 cepas de las cuales 59,9 % fueron especies *Candida* no-*albicans; C. parapsilosis* (21,3%), *C. tropicalis* (17,2%), *C. glabrata* (12,9%) y otras *Candida spp.* (8,6%). Comparando éstos aislamientos con los aislamientos de *Candida albicans,* no se encontró diferencia estadística significativa en edad, sexo, peso, tipo de UCI y siendo la mayoría de cepas de pacientes ingresados por cirugía o traumatismo (25,3%), en pacientes con catéteres de vena subclavia (23,5%) o con tubos de drenaje peritoneal (9,2%). Se concluyó que los pacientes con infección por *Candida* no-*albicans* tenían una mayor carga de enfermedad (Gong *et al.*, 2016).

Así mismo, en España se realizó una vigilancia epidemiológica en 26 hospitales desde el 2011 hasta el 2012 en pacientes con diagnóstico de candidemia donde se presentaron 705 casos. Las especies frecuentemente aisladas fueron *C. parapsilosis* (160 casos, 22%),

*C. glabrata* (94 casos, 13%), *C. tropicalis* (44 casos, 6.2%), *C. krusei* (16 casos, 2,3%) y *C. famata* (15 casos, 2,1%). *C. krusei* se presentó con mayor frecuencia en pacientes adultos con tratamiento antifungico previo al igual que *C. parapsilosis*, mientras que *C. glabrata* fue aislada en mayor proporción en pacientes con catéteres venosos y urinarios mostrando resistencia al fluconazol. Las cepas de pacientes con tratamiento previo con azoles mostraron Concentraciones Mínimas Inhibitorias (MIC) más alta al voriconazol respecto a cepas de pacientes sin tratamiento con azoles (Nieto, Tellería, y Cisterna, 2015).

En el año 2016, por el aumento en el uso común de antifúngicos en la profilaxis y el tratamiento en Turquía se publicó una investigación "Antifungal susceptibilities of *Candida* species isolated from urine culture" cuyo objetivo fue determinar la frecuencia de especies de *Candida* no- *albicans* en muestra de orina. Aislando 23 (39,7%) cepas de pacientes en cuidados intensivos las cuales fueron tres de *C. glabrata*, seis de *C. tropicalis* y una cepa de *C. parapsilosis*. Las cepas de *C. krusei* se consideraron naturalmente resistente al fluconazol para este estudio, también una cepa de *C. glabrata* presentó resistencia intermedia. Entre los antibióticos ensayados, la resistencia al fluconazol fue un poco más alta que del voriconazol además de no observó resistencia significativa en las cepas estudiadas. Concluyeron los autores que *C. glabrata* se aisló con mayor frecuencia como un factor de candiduria entre enero de 2012 y abril de 2013 T (Toka, Durmaz y Yula, 2016).

Del mismo modo, con el objetivo de conocer la frecuencia de levaduras en muestras de orinas de pacientes hospitalizados, en España se analizaron 632 aislamientos, los cuales se identificaron por medio cromogénico, prueba de fermentación y sistemas automatizados. Las especies con mayor número de aislados fue *C. albicans* 371 (58,7%), 261 (41,3%) correspondieron a otras especies como *C. glabrata* (6,2 %), *C. tropicalis* (5,2 %), *C. parapsilosis* (2,7 %), *C. lusitaniae* (0,9 %), *C. krusei* (0,6 %), *C. famata* (0,5 %), *C. kefyr* (0,2 %). Además se le hizo antibiograma y se encontró resistencia al fluconazol en *C. glabrata* y para *C. krusei*; todos los aislados fueron resistentes a fluconazol, pero ninguno de los aislados de *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* presentó resistencia al fluconazol (Heras-Cañas *et al.*, 2015).

Un estudio retrospectivo realizado en dos hospitales de Francia evaluaron la frecuencia de candidemia en 219 pacientes ingresados a UCI y 121 de ellos tenía un defecto inmunitario. *C. albicans* (54%) fue la especie predominante, seguida de *C. glabrata* (19%), *C. tropicalis* (11%), *C. parapsilosis* (7%) y *C. krusei* (7%). La mayoría de los pacientes tenían uno o varios factores de riesgo para la candidemia, incluida la colonización por *Candida* (81%), la presencia

de catéter venoso central (94%), la necesidad de terapia de reemplazo renal (38%), nutrición parenteral (30%) o cirugía abdominal reciente con 12% (Ghrenassia *et al.*, 2019).

En América Latina se realizó una revisión sistemática para conocer la epidemiología de la candidemia sobre la base de 40 artículos, observándose que *C. albicans* sigue siendo el más frecuente, seguidas de *C. parapsilosis* que fue reportada entre el 5% y el 49% de todos los episodios. Especies de *Candida* no-*albicans* se identificaron en 25 de los 40 estudios resultando *C. tropicalis* ser la segunda especie más aislada con una prevalencia entre el 9,7% y el 39%, *C. glabrata* representó la tercera o cuarta especie con 1% al 13,5%, *C. krusei* varió de 0 a 6% en todos los estudios y las especies menos frecuentes fueron *C. guilliemondii*, *C. rugosa*, *C. pelliculosa*, *C. lusitaniae*, *C. famata*, *C. lipolytica* y *C. kefyr*. La resistencia a fluconazol y voriconazol entre *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* se mantuvieron en torno al 1% en Argentina antes del 2006 mostrándose un ligero aumento del 0 al 2,6% a partir del 2017 (Archimedes *et al.*, 2017).

Por otra parte en un hospital mexicano se realizó el estudio retrospectivo "Epidemiología de la candidemia en el Hospital México" para caracterizar la epidemiología de la candidemia entre los años 2007 y 2010. En total se analizó 136 casos y las especies de *Candida* no-*albicans* constituyeron el 62% de las levaduras aisladas, *C. parapsilosis* fue la especie frecuentemente aislada (41%), seguida por *C. tropicalis* (12%), *C. glabrata* (6%); las demás especies representaron el 3%. La elevada incidencia de *C. parapsilosis* estuvo relacionada con los catéteres venosos centrales y el uso de nutrición parenteral (Villalobos-Vindas *et al*., 2016).

Las especies *Candida* no-*albicans* también se han reportado en un estudio retrospectivo en 22 hospitales brasileños en pacientes en unidad de cuidados intensivos, donde se analizaron un total de 647 episodios de candidemia en adultos. En los resultados la edad mediana de los pacientes fue de 62 años y 328 eran varones, la especie más aislada fue *C. tropicalis* (20%), seguida de *C. parapsilosis* (19%) y *C. glabrata* (9%), reportándose además una alta tasa de mortalidad a los 30 días de permanencia en UCI de los pacientes candidemicos, tanto en hospitales públicos como privados (Colombo *et al*., 2014).

También para determinar los factores de riesgo de infección en recién nacidos de una unidad de cuidados intensivos neonatales en Bogotá, se evaluó la colonización por levaduras en 50 neonatos de alto riesgo y también en el personal de la salud, en el cual se identificó levaduras en 19 neonatos donde *C. parapsilosis* fue la más frecuente con 36%; así mismo se

halló el 32% de especies de *Candida* en las manos del personal siendo la especie predominante *C. parapsilosis*. Esto podría sugerir un manejo inapropiado de catéteres centrales o periféricos, que junto con la afinidad que tiene por los materiales sintéticos, contribuyen a explicar su asociación a infecciones relacionadas con la candidemia (Orozco, Cortés, y Parra, 2009).

De igual manera en una red de vigilancia en Colombia se describió en 10 ciudades, la epidemiologia de las infecciones por Candida en unidades de cuidados intensivos (UCI). Aislaron 2680 cepas y el 51,7% fueron *Candida* no-*albicans*. En muestras de sangre las especie más frecuentes fueron *C. parapsilosis* (45.6%), *C. tropicalis* (22.3%), *C. haemulonii* (8.7%) y *C. glabrata* (7.8%). En orina *C. tropicalis* (53,4%), *C. glabrata* (24,4%) y *C. parapsilosis* (13,6%). En secreción respiratoria, *C. tropicalis* (63,1%) predominó entre las *Candida* no-*albicans*, seguido por *C. parapsilosis* (13.1%) y de fluido abdominal se aislaron *C. tropicalis* (45.5%), *C. parapsilosis* (20.2%) y *C. glabrata* (15.1%). Con respecto a los perfiles de susceptibilidad al fluconazol, fueron resistentes el 2.8% de *C. tropicalis*, 5 % de *C. glabrata* y 15,3% de *C. parapsilosis*. Mientras que para el voriconazol el 85% de los aislamientos fueron susceptibles (Motoa *et al*., 2017).

En la investigación "Epidemiología, especies, resistencia antifúngica y evolución de las candidemias en un hospital universitario de Buenos Aires, Argentina, durante 16 años" se reportaron 374 episodios de candidemias, 5,4 % fueron en neonatos, 1,7% en lactantes de 1 mes a 2 años, 6,5% en niños entre 2 y 18 años, 31,8 % en adultos entre 19 y 64 años y 52,7% en adultos mayores de 64 años. se identificaron especies como *C. parapsilosis* (21.7%), *C. tropicalis* (15.5%), *C. glabrata* (13.9%) y otras especies de Candida (5.1%), tambien el 5,3% de los aislamientos fueron resistentes al fluconazol. Un factor de riesgo para adquirir candidemia fue el uso de catéter venoso central en el 81% de pacientes (Tiraboschi *et al*., 2017).

Del total de 231 pacientes en cuidados intensivos con enfermedad fúngica invasora evaluados en Chile, se obtuvo que 31 (58,4%) de ellos eran mujeres, la mediana de edad fue de 67 años y se aislaron 10 cepas de *Candida* no-*albicans*, siendo la especie predominante *C. tropicalis* (27,7%) seguida de *C. glabrata* (11,1%) y *C. krusei* (5,5%). Dos cepas fueron resistentes al fluconazol: una *C. glabrata* y una *C. krusei*. Este estudio presentó limitaciones en cuanto al pequeño número de muestras, aun así permitió a los investigadores evaluar y cuantificar la tendencia actual de la frecuencia de *Candida* no- *albicans* en hospitales de Chile (Ajenjo *et al.*, 2011).

Rodríguez *et al.* (2017), realizaron un estudio para describir especies de *Candida* en pacientes con candidemia en tres hospitales peruanos de Lima – Callao, entre el año 2013 y 2015. Se aislaron 158 cepas de pacientes con edad media de 55, 0 año y el 64,1% fueron varones, la frecuencia de *Candida* no-*albicans* fue de 72.1%: *C. parapsilosis* (n = 40, 25.3%), *C. tropicalis* (n = 39, 24.7%) y *C. glabrata* (n = 15, 9.5%). Sólo cuatro aislamientos fueron resistentes al fluconazol y el 86.7% (n = 137) susceptibles y 17 susceptibles a dosis dependientes, incluyendo *C. albicans,* mientras que todos los aislamientos de *C. glabrata* fueron susceptibles a voriconazol.

Un estudio retrospectivo en un hospital de Arequipa, durante los años 2011-2014 se describió las características clínicas y epidemiológicas de la candidemia, donde se presentó un total de 71 pacientes con esta enfermedad, los servicios con mayor cantidad de pacientes infectados fueron UCI y medicina interna con 17 casos (23,94%) cada uno. Las especies aisladas fueron, *C. albicans* 33 (46,48%), *C. parapsilosis* 16 (22,54%), *C. glabrata* 9 (12,68%), *C. tropicalis* 8 (11,27%), *C. guillermondi* 4 (5,63%) y *C. krusei* 1 (1,41%). Las características frecuentemente observadas en los pacientes fue el uso de dispositivo invasivo (88,73%) y la exposición a antibióticos de amplio espectro con el 83,1% (Moreno-Loaiza y Moreno-Loaiza, 2017).

## 2. BASE TEÓRICA

El género Candida, abarca alrededor de 200 especies de levaduras que molecularmente se clasifican dentro de la división Ascomycota. Más de 30 especies son comensales de la microbiota humana y para la transición a patógenos necesitan de factores relacionados con el huésped y el microorganismo (Bonifaz, 2015). Los humanos genéticamente controlan respuestas al daño y estrés celular, pero un paciente crítico que ingresa a una unidad de cuidados intensivos (UCI) va progresivamente agotando esta capacidad junto con sus reservas fisiológicas que lo induce a una infección (Rafael, Sánchez, Maldonado y Dueñas, 2019; Soto, 2019).

Las enfermedades intrínsecas pueden influir en la respuesta inmune del paciente crítico por ejemplo, los trastornos hereditarios en los receptores de dectina-1 y CARD 9 reducen la producción y activación de citocina IL-1β, afectando el número y la respuesta normal de las células Th 17. Algo similar ocurre en pacientes con síndrome de polendocrinopatía autoinmune tipo 1 (APS-1) donde se generan autoanticuerpos contra la IL-17 e IL-22 que reducen su producción. Por lo tanto se generan respuestas defectuosas que predisponen a adquirir

candidiasis mucosas o sistémicas.(Lord y Vyas, 2019) y también la presencia de neutropenia que afecta a la primera línea de defensa del huésped (Fortún y Gioia, 2017).

Los neutrófilos reconocen componentes propios del hongo y generan diferentes mecanismos como la formación de trampas extracelulares para eliminarlos, pero las especies de *C. glabrata* inhiben este mecanismo a través de la formación de biopelículas (Campos-Garcia *et al.,* 2019). Así mismo los neutrófilos y los macrófagos son células fagocíticas que producen especies de oxígeno reactivo (ROS) a través del complejo oxidasa NADPH, frente a esto *C. glabrata* sintetiza defensinas antioxidantes como la catalasa y la superóxido dismutasa (SDO) y los sistemas de defensa no enzimáticos (GSH) necesarios para sobrevivir al estrés oxidativo generado durante la infección y persistir en el fagosoma para poder reproducirse (Briones-Martin-Del-Campo et al., 2014).

Por otro lado, las levaduras del género Candida tienen una pared celular con gran cantidad de polisacáridos (principalmente glucano, manano y quitina), proteínas y lípidos que varían en cantidad en las diferentes especies, tanto por factores intrínsecos (antigüedad del microorganismo) y extrínsecos como la composición del medio ambiente o del entorno (Navarro-Arias et al., 2019), dichos compuestos sirve para adherirse a tejidos del huésped y también como mecanismos de evasión de la fagocitosis. Las adhesinas epiteliales (Epa) desempeñan esta función (Willaert, 2018), junto con la hidrofobicidad de la superficie celular dependiente de potasio en *C. glabrata* (Llopis-Torregrosa *et al.,* 2019).

Otros factores involucrados en las infecciones candidiásicas en un paciente crítico, son los procedimientos invasivos como el uso de catéteres arteriales y venosos centrales junto con la ventilación mecánica, el cateterismo vesical y la sonda nasogástrica que comprometen la barrera epitelial (Pemán y Salavert, 2013). En relación a esto, las especies de Candida tienen la capacidad de formar biopelículas y *C. tropicalis* aprovecha este mecanismo de virulencia para desprenderse y migrar a las células endoteliales e invadirlas como levaduras antes de cambiar a la forma filamentosa que es un paso importante para el establecimiento de la infección (Capote-Bonato *et al.,* 2018).

Algunos factores iatrogénicos también juegan un rol importante para que los pacientes críticos adquieran candidiasis, así por ejemplo, el uso de corticoides para elevar la presión arterial especialmente en bebes y niños (Salas *et al.,* 2014), dichos productos suprimen la función inmune permitiendo que las especies Candida incrementen la regulación de genes para proteínas de adhesión que perjudican la opsonización del hongo (Smith y Steinbach, 2018). Así

mismo algunas proteínas de la pared Kgd2p y Idh2p son únicas con capacidad antigénica y de adherencia en *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* respectivamente (Lee *et al.*, 2014; Whibley y Gaffen, 2015).

Del mismo modo el uso de fármacos para reducir la acidez estomacal en un paciente crítico incrementan la proliferación de *Candida spp.* (Smith y Steinbach, 2018) además de generar cambios en el ambiente que inducen al cambio fenotípico blanco a opaco en las colonias, por ejemplo *C. albicans* necesitan de pH ácido y $CO_2$ elevado para ser más virulentas y producir enzimas líticas necesarias para la invasión, en cambio *C. tropicalis* aprovecha mejor este factor de virulencia en pH alcalinos y niveles de $CO_2$ reducidos ganando lugar en la infección (Zheng, Zhang, Bing, Ding, y Huang, 2017). Por otro lado, los antibióticos de amplio espectro a largo plazo pueden ser perjudiciales para la microflora gastrointestinal (Álvarez, Sierra, Álvarez y Rodríguez, 2010), debido a que van disminuyendo la presencia de Lactobacilos los cuales controlan la proliferación de *C. glabrata* y permiten su traslocación al torrente sanguíneo (Rafael *et al.*, 2019).

La resistencia a los antifúngicos, especialmente a los azoles, que son usados como profilácticos en pacientes de una UCI, constituyen también un factor importante para que las especies Candida se transformen en patógenos ya que tienen efecto directo en las vías de señalización durante el crecimiento del hongo y pueden ser alteradas por mutaciones (Sharma, Rosiana, Razzaq y Shapiro, 2019). Las mutaciones en enzimas como la esterol 1,4αdesmetilasa (CYP51), la subunidad FKS1 de la 1,3-β-d-glucano sintasa y la ecualeno epoxidasa (ERG11) que cataliza la síntesis de ergosterol y la formación del estado hifal dan como resultado esteroles anormales lo que conlleva a un aumento en la resistencia al antifungico dándole la capacidad de invadir los tejidos a *C. tropicalis*, *C. krusei* y *C. parapsilosis* que también tienen un polimorfismo natural en el gen FKS1 (Pristov y Ghannoum, 2019; Rodríguez-Cerdeira *et al.*, 2019).

La formación de biopelícula también proporciona muchos mecanismos de resistencia ante los antifúngicos, estas levaduras pueden desactivarlos por enzimas catalíticas y la regulación de las bombas de eflujo; las cuales expulsan el fármaco al exterior de la célula. Por ejemplo las especies *C. tropicalis* y *C. glabrata* inactivan la enzima C-5 esterol desnaturasa (Erg3) y conduce al reemplazo por otros esteroles diferentes al ergosterol en la membrana, con la regulación positiva de las bombas de eflujo ABC (casete de unión a ATP), *C. krusei* adquiere resistencia intrínseca al fluconazol mientras que la susceptibilidad es variable en *C. glabrata*.

El aumento de proteínas transportadoras como las MFS (superfamilia facilitadora principal) reduce la concentración intracelular de azoles en *C. parapsilosis*. El incremento de la expresión de la proteína Ianosterol 1, 4- α- desmetilasa (Erg11) reduce la unión de azoles en *C. tropicalis* (Rodríguez-Cerdeira *et al.,* 2019).

En el interior de la biopelícula algunas levaduras pueden persistir a pesar de la presencia de antibióticos. Estas células tienen crecimiento latente que las hace capaces de generar una nueva biopelícula con una nueva subpoblación que resiste al estrés y donde las vías de crecimiento MAPK (proteína quinasa activada por mitógenos), calcineurina y HSP90 (proteína de choque térmico 90) son activadas y contribuyen a la resistencia de la equinocandina al modificar las subunidades de la enzima equinocandina β-1,3- D -glucano sintetasa (Del Pozo y Cantón, 2015; Rodríguez-Cerdeira *et al.,* 2019) que además provocan una co-resistencia al fluconazol en *C. glabrata* (Pristov y Ghannoum, 2019).

Las biopelículas están compuestas por varias especies de microorganismos siendo la interacción entre *C. albicans* y las *Candida* no-*albicans* muchas veces perjudiciales, por ejemplo *C. krusei* y *C. glabrata* inhiben por productos tóxicos de su metabolismo a los genes relacionados con la adherencia y la formación de biopelícula en *C. albicans* (Pimentel, Camargo, Rossoni, Campos y Cardoso, 2016), ocurriendo lo mismo cuando hay interacción en la misma biopelícula entre *C. glabrata* y *C. krusei* las cuales compiten por nutrientes y espacio, tomando *C. krusei* ventaja en la colonización y posiblemente en la infección del huésped (Rossoni *et al.,* 2017).

.

## CAPITULO II. DISEÑO METODOLÓGICO

### 1. Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis

Es un estudio de tipo descriptivo y prospectivo (Argimón y Jiménez, 2004). El diseño de contrastación de hipótesis es de una sola casilla (Alvitres, 2000).

### 2. Población

La población estuvo constituida por todos los aislamientos de los pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) registrados en el Hospital Regional de Lambayeque entre Febrero 2018 – Mayo 2019.

### 3. Muestra

**Muestra 1:** El tamaño de muestra para determinar la prevalencia fue de todas la cepas de microorganismos aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) del Hospital Regional de Lambayeque desde Febrero 2018 hasta Mayo 2019.

**Muestra 2:** Para determinar la susceptibilidad a antifúngicos, la muestra estuvo conformada por todas las cepas de *Candida* no- *albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) del Hospital Regional de Lambayeque desde Febrero 2018 hasta Mayo 2019.

### 4. Técnica e instrumentos de recolección de datos

La técnica fue la observación y los instrumentos utilizados fueron los cuadernos de registro del laboratorio de Microbiología, cámara fotográfica digital, dispositivo de almacenamiento USB y laptop.

### 5. Obtención de la muestra

Para la obtención de la muestra en esta investigación se tuvo en cuenta dos fases:

**5.1. Primera fase**: se revisaron los resultados de los aislamientos de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) del Hospital Regional de Lambayeque desde febrero del 2018 hasta mayo del 2019.

**5.2. Segunda fase**: se identificaron los aislamientos de las especies de *Candida* no-*albicans* de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) del Hospital Regional de Lambayeque desde febrero del 2018 hasta mayo del 2019.

## 6. Procedimiento:

### a. Determinación de la prevalencia de *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas.

**Prueba del tubo germinal:** Se siguió el método descrito por Hernández-Botero y Pérez-Cárdenas (2015) donde se emulsionó una porción de la colonia del medio Agar Sabouraud en 0,5 ml de suero humano que se incubó a 37°C por 2 horas; se seleccionó dicho tiempo de incubación debido a su mejor relación entre sensibilidad del 98% y especificidad del 99,6%, para diferenciar *Candida albicans* de las otras especies, luego se colocó una gota de la emulsión sobre un portaobjeto limpio y desengrasado y se visualizó a x100 y x 400 en un microscopio OLYMPUS CX31 y se realizó la interpretación.

**Características de las especies *Candida* no –*albicans* para la prueba de tubo germinativo.**

| ESPECIES | TUBO GERMINATIVO |
|---|---|
| ***Candida albicans*** | Presencia de tubo germinal: blastoconidias con prolongaciones angostas, no septadas en su origen. |
| ***Candida tropicalis y Candida parapsilosis*** | Presencia de pseudohifas: blastoconidias acompañadas de prolongaciones que inician desde un septo y tienen mayor ancho y largo que las hifas de los tubos germinales. |
| ***Candida glabrata*** | Ausencia de cualquier tipo de filamentación: blastoconidias pequeñas redondas y uniformes. |
| ***Candida krusei*** | Filamentación variable. |

**Producción de velo o película:** Se tuvo en cuenta las indicaciones del manual de procedimientos y técnicas de laboratorio para la identificación de los principales hongos oportunistas causantes de micosis humanas del Ministerio de Salud con algunas modificaciones (Guevara, Urcia y Casquero, 2007) para lo cual se inoculó una asada de la colonia de levadura en un tubo de vidrio que contenía caldo BHI y se incubó a temperatura de 37°C por 24 horas y las interpretaciones se realizaron según el formulario número 008 del Manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico micológico (Zurita, Urcia y Navarro, 2017).

**Características de las especies *Candida* no-*albicans* para la producción de velo o película.**

| | PRODUCCIÓN DE VELO O PELÍCULA |
|---|---|
| ***Candida albicans*** | (-) |
| ***Candida tropicalis*** | (++) |
| ***Candida parapsilosis*** | (-) |
| ***Candida glabrata*** | (-) |
| ***Candida krusei*** | (+) |

**Formación de Clamidosporas***:* Se empleó el Agar harina de maíz con Tween 80 preparado según las indicaciones de Zurita, Urcia y Navarro (2017), donde se incorporó Tween 80 para desmostar la formación de Clamidosporas (Anexo 01), además se usó la técnica descrita por (Linares y Solís, 2007), haciendo tres cortes paralelos en el agar (separados por un centímetro) manteniendo el asa en un Angulo aproximado de 45° con el inóculo (Figura 1), luego se colocó un cubre objeto esterilizado sobre la superficie del agar cubriendo las estrías de siembra. La incubación fue a temperatura ambiente de aproximadamente 25°C durante 24 a 72 horas en condiciones de humedad (Figura 2) y se examinó en un microscopio OLYMPUS CX31 a x100 y x400 la identificación se hizo según las indicaciones de Koehler, Chu, Houang y Chemg, (1999) mencionadas en un estudio realizado en Buenos Aires (Ochiuzzi *et al.*, 2014).

**Figura 1. Técnica descrita por Linares y Solís en agar harina de maíz:** Se observa los tres cortes paralelos en el agar con el inóculo.

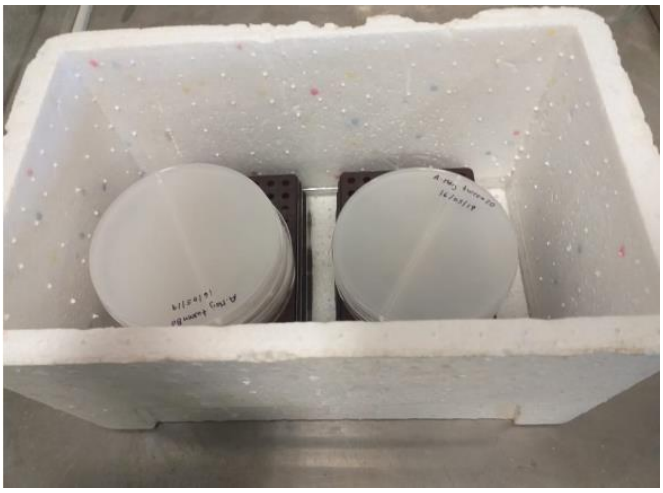

**Figura 2. Condiciones ópticas de humedad:** Placas sembradas con las diferentes especies e incubadas a temperatura ambiente durante 24 a 72 horas.

**Características para la identificación de *Candida* no- *albicans* en la formación de Clamidosporas.**

| ESPECIE | CARACTERÍSTICA MORFOLÓGICA |
|---|---|
| ***Candida albicans*** | Clamidosporas de pared gruesa presentes en los ápices de las pseudohifas y grupos de blastosconidias a lo largo de las pseudohifas. |
| ***Candida tropicalis*** | Abundantes pseudohifas con escasas blastoconidias en forma aislada o en racimos, apariencia variable. |
| ***Candida parapsilosis*** | Cadenas ramificadas de pseudohifas alargadas con grupos de blastoconidias a lo largo de ellas; células gigantes ocasionales, apariencia variable. |
| ***Candida glabrata*** | No hay presencia de pseudohifas o hifas solo se observa blastoconidias de tamaño uniforme. |
| ***Candida krusei*** | Pseudomicelio ramificado extenso que dan una apariencia de árbol; grupos y cadenas de blastosconidias a lo largo de las pseudohifas, apariencia variable. |

**Medio cromogénico CHROMagar ™ Candida:** Todas las cepas de *Candida* no-*albicans* fueron sembradas en placas de Petri con CHROMagar TM Candida, luego se incubaron a 37°C durante 24 – 48 horas y las levaduras desarrollaron bien el color. Este agar se basa en una reacción cromogénica debido a la acción de la enzima beta- glucosidasa que hidroliza un cromógeno adecuado para cada especie, en presencia de un indicador específico (Wohlmeister *et al*., 2017). Se tuvieron en cuenta las interpretaciones del color de las colonias para cada especie según el fabricante.

**Características de las especies *Candida* no-*albicans* en CHROMagar TM Candida**.

| ESPECIE | ASPECTO TÍPICO DE LA COLONIA |
|---|---|
| ***Candida albicans*** | Verde |
| ***Candida tropicalis*** | Azul metálico |
| ***Candida parapsilosis*** | De blanco a malva |
| ***Candida glabrata*** | De malva a marrón |
| ***Candida krusei*** | Rosa mate |

**b. Determinación de la susceptibilidad antifúngica a fluconazol y voriconazol de *Candida no-albicans***

Se determinó por el método de Kirby–Bauer–Disco difusión del Manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico micológico (Zurita *et al*., 2017), para lo cual primero se preparó el inóculo de un cultivo puro de 24 horas de incubación a 37°C y se resuspendió en un tubo con 5ml de solución salina estéril, luego se homogenizó con vórtex y se ajustó a la turbidez de 0.5 en la escala de McFarland (equivale a $1x10^6 – 5x10^6$/mL). Después se sembró cuidadosamente (sin presionar el hisopo) en una placa de Müeller Hinton modificado

en tres direcciones. Finalmente se colocaron los discos de fluconazol de 25 µg y voriconazol 1 µg de modo que quedaron a 40 mm entre disco y disco y a 20 mm del borde de la placa e incubándose 24 horas en algunas cepas, en otras se prolongó 24 horas más, para distinguir claramente los halos. Los puntos de corte se tomaron en cuenta según el documento M44-A2 del CLSI (Clinical and Laboratory Standards, 2009).

**Puntos de corte según el documento M44- A2 del CLSI.**

| | **Diámetro del halo en mm** | | |
|---|---|---|---|
| **Discos** | **Sensible** | **S-DD** | **Resistente** |
| **Fluconazol** | ≥ 19 | 15 – 18 | ≤ 14 |
| **Voriconazol** | ≥ 17 | 14 – 16 | ≤ 13 |

Fuente: CLSI (Clinical and Laboratory Standards)y los puntos de corte para el fluconazol no son aplicados para *Candida krusei* por tener resistencia natural.

**c. Comparación de los índices de prevalencia de *Candida* no-*albicans* según la edad, género, servicio hospitalario, tipo de muestra, uso previo de antimicrobiano y cuadro clínico patológico de los pacientes de unidades críticas.**

**Obtención de datos:** Los datos de los pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) del Hospital Regional de Lambayeque sobre el servicio hospitalario, edad, género y el cuadro clínico patológicos, se obtuvieron de los cuadernos de registros del laboratorio de Microbiología.

**Procesamiento de datos:** Para la presente investigación la base de datos fue elaborada en el software informático Excel 2013, luego las variables categóricas de *Candida* no-*albicans*, susceptibilidad antifúngica al fluconazol y voriconazol fueron descritas como frecuencia absolutas y porcentuales. La variable numérica de edad fue categorizada y también fueron comparadas mediante la prueba de chi-cuadrado considerando un nivel de confianza al 95% y un valor significativo de $p < 0.05$. Para el procesamiento de datos se empleó el software SPSS ver. 24.

## 7. Consideraciones éticas de la investigación

La presente investigación consideró aspectos bioéticos de la protección hacia los pacientes, de modo que Dirección de investigación del Hospital Regional de Lambayeque emitió una declaración informada, de empleo de cepas, ya que no se trabajó directamente con los pacientes si no con cepas de especies de *Candida spp*. Anexo 02.

## CAPITULO III. RESULTADOS

### 1. Identificación de especies de *Candida* no-*albicans* aisladas en los pacientes de unidades críticas.

En la presente investigación de 232 cepas de microorganismos aislados de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) del Hospital Regional de Lambayeque entre Febrero 2018 -Mayo del 2019, se identificaron en total 46 cepas de *Candida* no- *albicans* y se confirmó que la especie más frecuente fue *C. tropicalis* con el 67,4% (31/46), seguido de las especies *C. glabrata* con un 17,4% (8/46), *C. parapsilosis* con un 10.9% (5/46) y *C. krusei* 4,3% (2/46), ver tabla N°1 y figuras 3, 4 y 5.

**Tabla 1: Cepas de *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) del Hospital Regional Lambayeque. Febrero 2018– Mayo 2019.**

| ***Candida* no- *albicans*** | **N** | **%** |
|---|---|---|
| ***Candida tropicalis*** | 31 | 67,4 |
| ***Candida glabrata*** | 8 | 17,4 |
| ***Candida parapsilosis*** | 5 | 10,9 |
| ***Candida krusei*** | 2 | 4,3 |
| **Total** | 46 | 100 |

### 2. Prevalencia de *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas.

Se encontró que la prevalencia de *Candida* no- *albicans* fue del 16,8% como microorganismo único (39/232) y asociada a otros microorganismos con el 3,0% (7/232), siendo la prevalencia total de 19, 8 % (46/232) y correspondiendo el 11,2% (26/232) a *C. albicans* y ésta asociada a otros microorganismos de 6,5% (15/232), ver tabla N°.

**Tabla 2: Prevalencia de *Candida* no- *albicans* y otros microorganismos aislados de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) del Hospital Regional de Lambayeque. Febrero 2018 – Mayo 2019.**

| ***Candida spp.*** | **N** | **%** |
|---|---|---|
| ***Candida* no- *albicans*** | 39 | 16,8 |
| ***Candida albicans*** | 26 | 11,2 |
| ***Candida* no- *albicans y otros*** | 7 | 3,0 |
| ***Candida albicans* y otros** | 15 | 6,5 |
| **Otros microorganismos** | 145 | 62,5 |
| **TOTAL** | 232 | 100 |

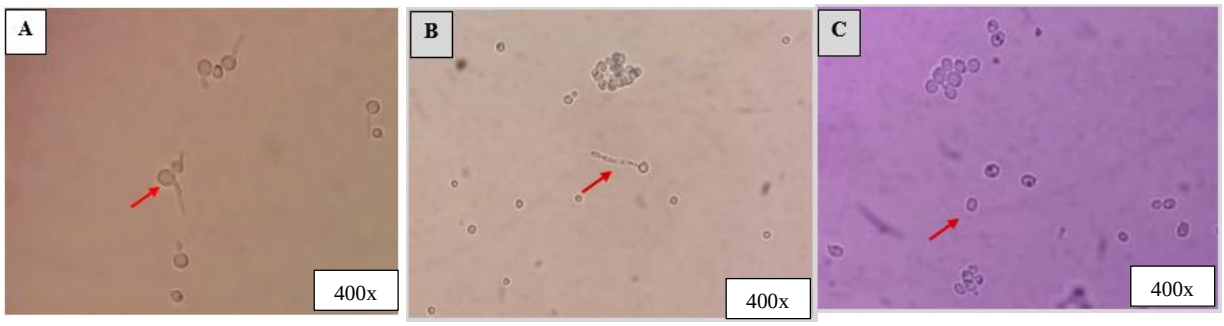


**Figura 3. Morfología de las especies en la prueba de tubo germinal: A.** ***C. albicans:*** Blastoconidas redondas y aisladas junto a blastoconidas gemantes sin septos. **B.** ***C. tropicalis:*** Blastoconidias en grupo y aisladas, también blastoconidia con pseudohifa de prolongación corta y septada. **C.** ***C. glabrata*****:** blastoconidias en grupo y aisladas, todas redondas.

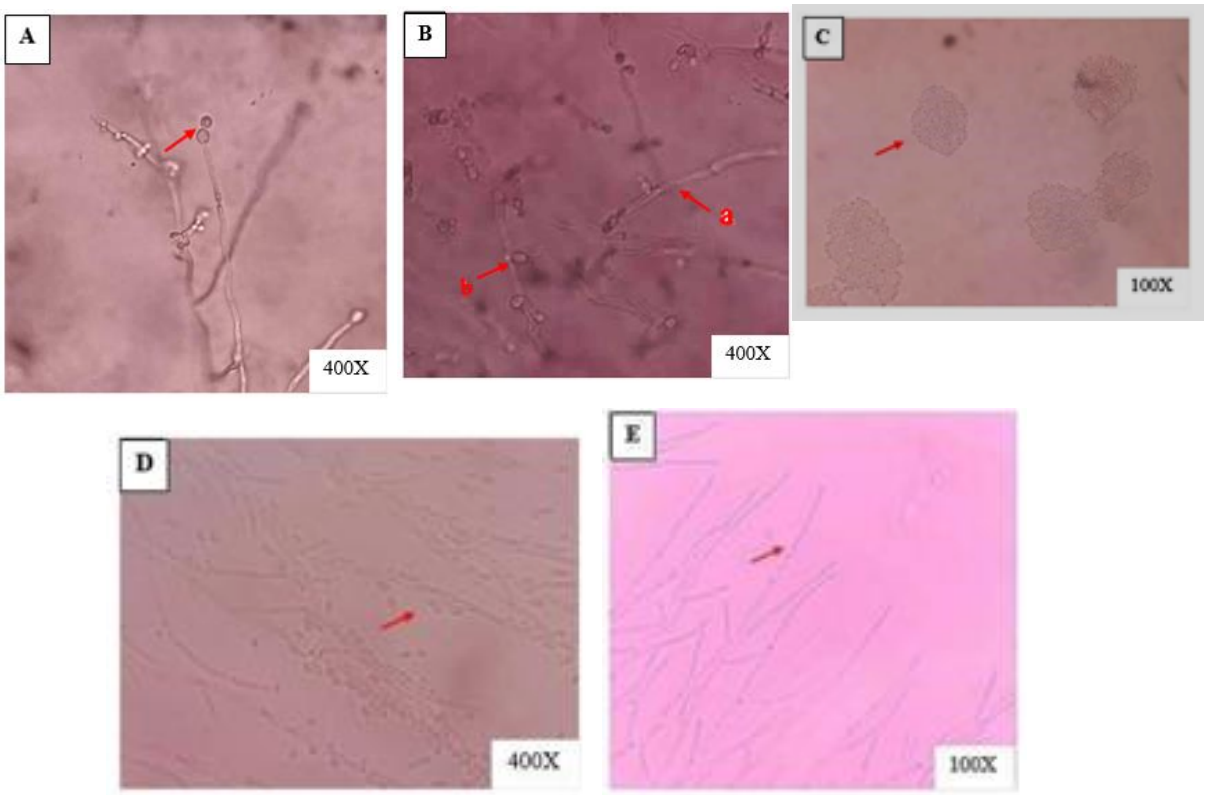


**Figura 4. Observación microscópica en agar harina maíz + tween 80:*A. C. albicans:*** Clamidosporas terminales en el ápice de una hifa. ***B. C. tropicalis:*** Pseudohifas abundantes con bastoconidias ovaladas. a . Pseudohifa. b . Blastoconidia. ***C. C. glabrata:*** Bastoconidias agrupadas de tamaño uniforme. ***D. C. parapsilosis:*** Pseudohifas ramificadas y septadas con blastoconidias ovaladas pequeñas y grandes. ***E. C. krusei:*** Pseudohifas abundantes, ramificadas y algunas septadas.

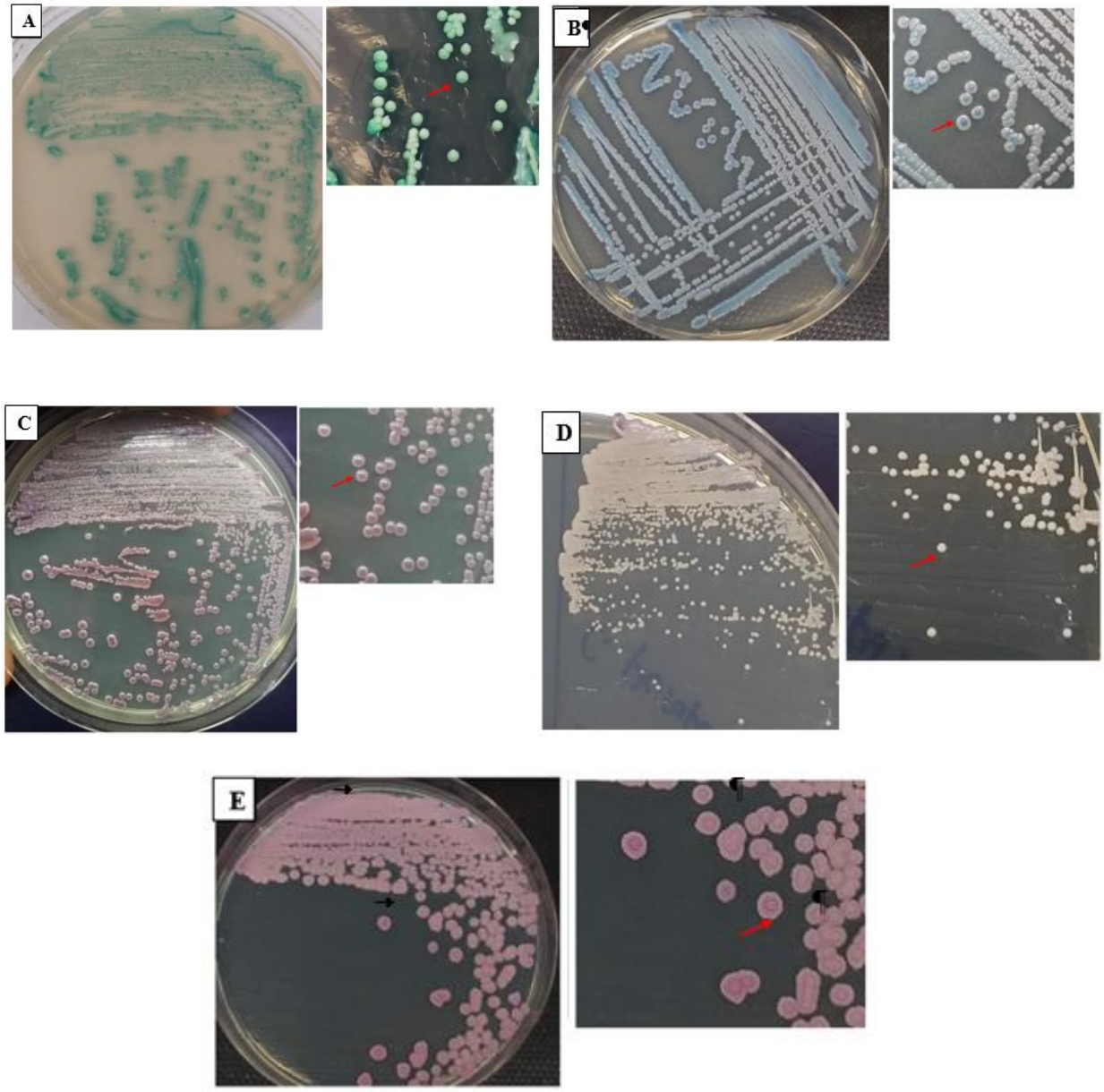


**Figura 5. Observación macroscópica en CHROMagar TM Candida:** ***A. C. albicans*****:** Colonia circular, pequeña de aspecto cremoso y borde definido de color verde. ***B. C. tropicalis:*** Colonia circular, aspecto cremoso y borde definido de color Azul metálico. ***C. C. glabrata:*** Colonia circular, pequeña de aspecto cremoso y borde definido de color malva. ***D. C. parapsilosis:*** Colonia circular, pequeña de aspecto cremoso y borde definido, elevación convexa de color blanco. ***E. C. krusei:*** Colonia irregular, aspecto mate y borde rizado de color rosa.

## 3. Susceptibilidad antifúngica de *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas.

En cuanto a la susceptibilidad antifúngica al fluconazol en la tabla N°3, se observa que el porcentaje de sensibilidad de todas las especies *Candida* no-*albicans* aisladas fue del 80,4 % (37/46), en cuanto a la resistencia intermedia esta fue incluida en el porcentaje de resistencia general aumentando el porcentaje a 19,6% (8/46).

**Tabla 3: Susceptibilidad antifúngica al fluconazol de *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) del Hospital Regional Lambayeque. Febrero 2018 – Mayo 2019.**

| | Susceptibilidad antifúngica al fluconazol | |
|---|---|---|
| | **N** | **%** |
| **Sensible** | 37 | 80,4 |
| **Resistente** | 9 | 19,6 |
| **Total** | 46 | 100 |

En la figura 6, se encontró por especie que *C. tropicalis* tiene 93,5% de cepas sensibles, seguido de *C. glabrata* con el 75,0% y 40,0% de *C. parapsilosis*. En las especies *C. krusei* se observa el mayor porcentaje de resistencia al fluconazol con un 100 % (2/2).

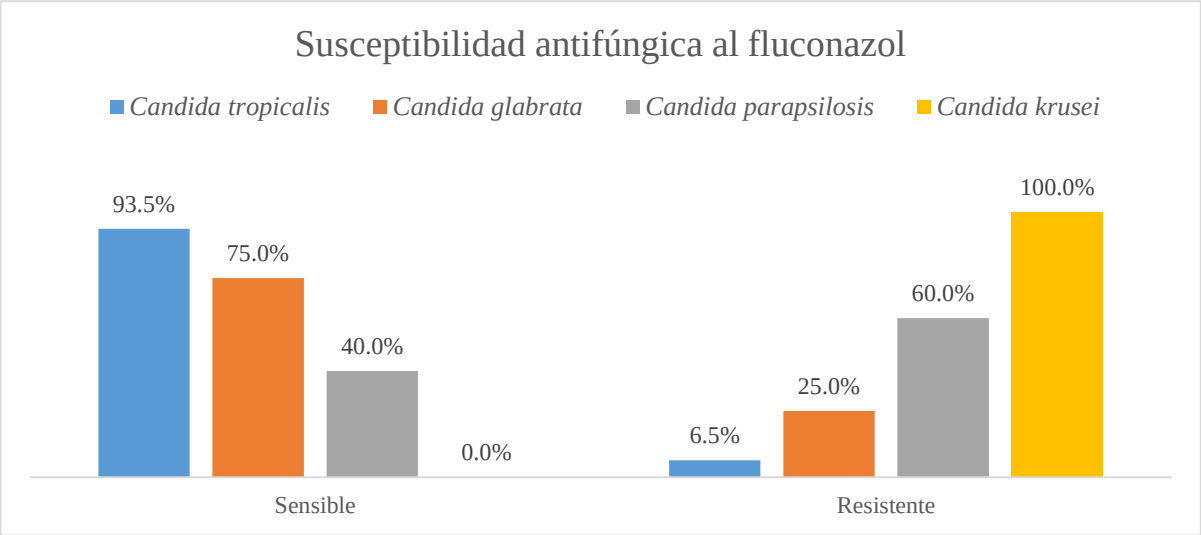


**Figura 6: Susceptibilidad antifúngica al fluconazol de *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) del Hospital Regional Lambayeque. Febrero 2018 – Mayo 2019.**

Mientras que para la susceptibilidad antifúngica al voriconazol, en la tabla N°4 y figura 7, se observó que el 78,3% (36/46) cepas fueron sensibles y en relación a cada especie se encontró que *C. krusei* fue la especie más resistente con el 50% (1/2), seguido de *C. glabrata* con el 37,5%.

**Tabla 4: Susceptibilidad antifúngica al voriconazol de *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) del Hospital Regional Lambayeque. Febrero 2018 – Mayo 2019.**

| | Susceptibilidad antifúngica al voriconazol | |
|---|---|---|
| | **N** | **%** |
| **Sensible** | 36 | 78,3 |
| **Resistente** | 10 | 21,7 |
| **Total** | 46 | 100 |

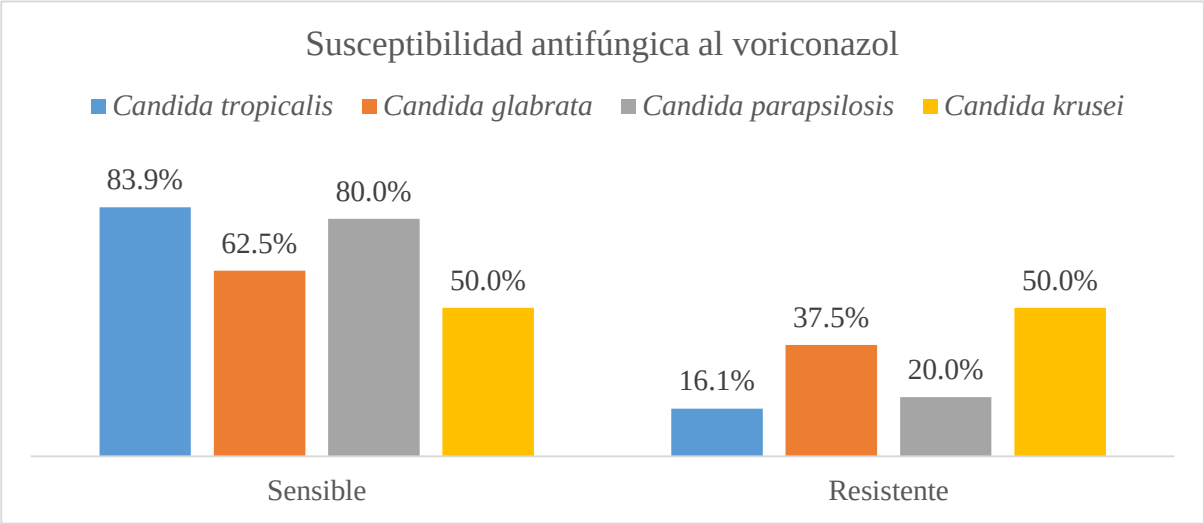


**Figura 7: Susceptibilidad antifúngica al voriconazol de *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) del Hospital Regional Lambayeque. Febrero 2018 – Mayo 2019.**

## 4. Comparación de la prevalencia de especies *Candida* no-*albicans* según la edad, género, servicio hospitalario, tipo de muestra, uso previo de antimicrobiano y el cuadro clínico patológico de los pacientes de unidades críticas.

El análisis bivariado de comparación entre la edad y las especies *Candida* no-*albicans* que se muestran en la tabla N° 5, se observa que los pacientes en unidades criticas de 60 a más años (p= 0,398), tuvieron más frecuencia de adquirir la infección, pero no hay significancia estadística entre las variables.

**Tabla 5: Prevalencia de especies *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) según la edad del Hospital Regional Lambayeque. Febrero 2018 – Mayo 2019.**

| Edad | *Candida tropicalis* | | *Candida glabrata* | | *Candida parapsilosis* | | *Candida krusei* | | Total | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | n= 31 | % | n=8 | % | n=5 | % | n=2 | % | n=46 | % |
| 0 - 14 | 2 | 6,5 | 2 | 25.0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 8,7 |
| 15 -29 | 9 | 29,9 | 1 | 12,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 21,7 |
| 30 - 44 | 5 | 16,1 | 2 | 25,0 | 2 | 40,0 | 0 | 0 | 9 | 19,6 |
| 45 - 59 | 5 | 16,1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 50,0 | 16 | 13 |
| 60 a más | 10 | 32,3 | 3 | 37,5 | 3 | 60 | 1 | 50,0 | 17 | 37,0 |

Distribución de grupo etario según INEI y Valor p = 0,398 para la prueba de chi cuadrado

Así mismo, en relación al género el mayor porcentaje de aislamientos se presentó en pacientes del sexo femenino, donde el 51,6 % (16/31) de las cepas aisladas fueron *C. tropicalis* y no observándose significancia estadística entre las variables (p=0,688), ver tabla N°6.

**Tabla 6: Prevalencia de especies *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) según el género del Hospital Regional Lambayeque. Febrero 2018– Mayo2019.**

| Género | *Candida tropicalis* | | *Candida glabrata* | | *Candida parapsilosis* | | *Candida krusei* | | Total | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | n= 31 | % | n=8 | % | n=5 | % | n=2 | % | N=46 | % |
| Femenino | 16 | 51,6 | 6 | 75,0 | 3 | 60,0 | 1 | 50,0 | 26 | 56,5 |
| Masculino | 15 | 48,4 | 2 | 25,0 | 2 | 40,0 | 1 | 50,0 | 20 | 43,5 |

Valor p = 0,688 para la prueba de chi cuadrado.

En la tabla N°7, en el servicio de UCI se identificaron 28 (60,9%) cepas de *Candida* no- *albicans* de los pacientes de unidades críticas, siendo *C. tropicalis* al especie con el mayor porcentaje de aislamientos (58,1%), además se demostró que no hay asociación entre la infección con este servicio hospitalario (p=0, 282).

**Tabla 7: Prevalencia de especies *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) según el servicio hospitalario del Hospital Regional Lambayeque. Febrero 2018 –Mayo 2019.**

| Servicio Hospitalario | *Candida tropicalis* | | *Candida glabrata* | | *Candida parapsilosis* | | *Candida krusei* | | Total | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | n= 31 | % | n=8 | % | n=5 | % | n=2 | % | n=46 | % |
| UCI | 18 | 58,1 | 4 | 50,0 | 5 | 100,0 | 1 | 50,0 | 28 | 60,9 |
| UCIN | 13 | 41,9 | 4 | 50,0 | 0 | 0 | 1 | 50,0 | 18 | 39,1 |

Valor p = 0,282 para la prueba de chi cuadrado.

Además en cuanto al tipo de muestra se determinó que la comparación entre las distribución de las especies de *Candida* no-*albicans* identificadas (p=0,010), es estadísticamente significativa. Siendo estas más frecuentemente aisladas de orinas en un 45,7% (21/46), con el predominio de *C. tropicalis* (58,1%) seguido de *C. glabrata* (25,0%) y *C. parapsilosis* (20,0%), como se observa en la Tabla N°8. v

**Tabla 8: Prevalencia de especies *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) según el tipo de muestra Hospital Regional Lambayeque. Febrero 2018 – Mayo 2019.**

| Tipo de muestra | *Candida tropicalis* | | *Candida glabrata* | | *Candida parapsilosis* | | *Candida krusei* | | Total | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | n= 31 | % | n=8 | % | n=5 | % | n=2 | % | n=46 | % |
| Líquido peritoneal | 1 | 3,2 | 1 | 12,5 | 1 | 20,0 | 0 | 0 | 3 | 6,5 |
| Orina | 18 | 58,1 | 2 | 25,0 | 1 | 20,0 | 0 | 0 | 21 | 45,7 |
| Sangre | 2 | 6,5 | 2 | 25,0 | 0 | 0 | 2 | 100 | 6 | 13,0 |
| Secreción traqueal | 10 | 32,3 | 3 | 37,5 | 3 | 60,0 | 0 | 0 | 16 | 34,8 |

Valor p = 0,010 para la prueba de chi cuadrado.

En lo que respecta al uso de antimicrobianos previamente al aislamiento de las levaduras, se determinó que no hay significancia estadística con los aislamientos de *Candida* no-*albicans*, además se observa que los antibacterianos son los que con mayor porcentaje se usan en los pacientes de cuidados críticos (67,4%, 31/46). También se observó que en los pacientes críticos sin tratamiento es menos frecuente aislar *C. krusei* y *C. glabrata* a diferencia de aquellos con tratamiento a base de antibacterianos y antifúngicos en un 50% y 37,5% respectivamente (Tabla N°9).

**Tabla 9: Prevalencia de especies *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) según el uso previo de antimicrobianos. Hospital Regional Lambayeque. Febrero 2018 – Mayo 2019.**

| Uso previo de antimicrobiano | *Candida tropicalis* | | *Candida glabrata* | | *Candida parapsilosis* | | *Candida krusei* | | Total | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | n= 31 | % | n=8 | % | n=5 | % | n=2 | % | N=46 | % |
| Antibacteriano | 22 | 71,0 | 5 | 62,5 | 3 | 60,0 | 1 | 50 | 31 | 67,4 |
| Antibacteriano y antifúngico | 2 | 6,5 | 3 | 37,5 | 1 | 20,0 | 1 | 50 | 7 | 15,2 |
| Sin tratamiento | 7 | 22,6 | 0 | 0 | 1 | 20 | 0 | 0 | 8 | 17,4 |

Valor p=0,217 para la prueba de chi cuadrado.

En la muestra en estudio se observó que los pacientes de cuidados críticos con cuadro patológico de sepsis son más propensos a adquirir infección por *Candida* no-*albicans* en un 50% (23/46), seguido de aquellos pacientes que padecen de Infección respiratoria aguda 41,3% (19/46). En la tabla N°10 también se observa que *C. tropicalis* se aísla con mayor frecuencia en pacientes con infección del tracto urinario (6,5%) a diferencia de *C. grablata* que tiene mayor porcentaje en pacientes con infección respiratoria aguda (50%), mientras que *C. parapsilosis* y *C. krusei* se aislaron de pacientes con sepsis en un 60% y 100% respectivamente.

**Tabla 10: Prevalencia de especies *Candida* no-*albicans* aislada de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) según el cuadro clínico patológico en los pacientes. Hospital Regional Lambayeque. Febrero 2018 – Mayo 2019.**

| **Cuadro patológico** | ***Candida tropicalis*** | | ***Candida glabrata*** | | ***Candida parapsilosis*** | | ***Candida krusei*** | | **Total** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **n=31** | **%** | **n=8** | **%** | **n=5** | **%** | **n=2** | **%** | **n=46** | **%** |
| Infección del Tracto Urinario | 2 | 6,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 4,3 |
| Infección Respiratoria Aguda | 13 | 41,9 | 4 | 50,0 | 2 | 40,0 | 0 | 0 | 19 | 41,3 |
| Sepsis | 14 | 45,2 | 4 | 50,0 | 3 | 60,0 | 2 | 100 | 23 | 50,0 |
| Traumatismo Encéfalo Craneano | 2 | 6,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 4,3 |

Valor p=0,901 para la prueba de chi cuadrado.

## CAPITULO IV. DISCUSIÓN

Las infecciones oportunistas por especies de levaduras en pacientes críticamente enfermos son muy frecuentes y complican el estado de salud del paciente por requerir éste de un tratamiento antimicrobiano específico además del que recibe por su enfermedad base. Diversos estudios demuestran que no sólo *C. albicans* es responsable de dichas infecciones en un porcentaje importante sino también las especies de *Candida* no-*albicans,* por lo que es imperativo tomar atención a este tipo de levadura en las infecciones oportunistas, no sólo en su frecuencia sino también en lo relacionado con su respuesta frente a los antimicóticos utilizados frecuentemente en el tratamiento.

En la presente investigación, el porcentaje de aislamiento de *Candida* no-*albicans* en pacientes de UCI, UCIN del Hospital Regional Lambayeque es mucho menor en comparación a los porcentajes reportados por Gong *et al*., 2016; Motoa *et al.,* 2017; Rodríguez *et al.,* 2017 y por Villalobos-Vindas *et al.,* 2016; esto se explica en el cuadro patológico del paciente, así en éste trabajo sólo el 50% provinieron de sepsis, por tanto pacientes con mayores probabilidades de tener complicaciones con las levaduras mencionada, mientras que los estudios de los autores mencionados todos correspondieron a casos de pacientes con candidemia, en consecuencia de pacientes con septicemia complicada con *Candida* no- *albicans,* a esto hay que agregarle que ésta investigación se ejecutó en un periodo de 15 meses y las de los autores en un promedio de tres años con mayores probabilidades de casos.

Respecto a la distribución de especies de *Candida* no-*albicans*, la que predominó fue *C. tropicales* seguida de *C. glabrata,* resultados que coinciden con Kaur *et al.,* 2016, y Ajenjo *et al.,* 2011, esto se explica en el hecho de que los pacientes para esta investigación presentaron dos factores de riesgo en mayor porcentaje que fueron el uso previo en el tratamiento con antibióticos que va disminuyendo la microflora intestinal normal la misma que controla la proliferación de *C. glabrata* (Rafael *et al.,* 2019) y del uso de catéteres, donde *C. tropicalis* aprovecha la formación de biopelículas y así ambas especies ganan lugar en la infección (Capote-Bonato, 2018). También los estudios multicéntricos de Archimedes *et al.,* 2017 y Ko et *al.,* 2018, informaron el aumento de *C. glabrata* en los últimos años como agente etiológico de candidemias.

Sumado a lo anterior, no se logró aislar *C. parapsilosis* en las muestras provenientes de hemocultivos un hallazgo importante que a diferencia de los estudios realizados en Perú por Moreno- Loaiza y Moreno- Loaiza, 2017y Rodríguez e*t al.,* 2017, quienes tuvieron en cuenta este tipo de muestras reportaron a está especie en primer lugar de aislamientos. Una explicación a esto podría ser que en estos estudios hubo mayor número de aislamientos en neonatos que según Orozco *et al.,* 2009, son colonizados en un 36% por esta levadura conviertiendose en la población más vulnerable para adquirirlas y que además esta presente en 32% de las manos en el personal que manipula o está en contacto con ellos contribuyendo a la transmisión horizontal de la infección.

En relación a la edad, el mayor porcentaje de aislamientos de *Candida* no- *albicans* se presentó en pacientes críticos adultos de 60 años a más y sobre todo del sexo femenino, coincidiendo con los reportados por Ghrenassia *et al.,* 2019 y Toka, Dumaz y Yula, 2016. En este grupo de edad se presentan mayores condiciones debilitantes como la disminución de las defensas inmunológicas y de la capacidad para retornar a un equilibrio fisiológico normal fenómeno conocido como "homeostenosis", muy común en este tipo de pacientes (Soto, 2019). Asimismo, en cuanto al género no hay predilección por uno de ellos y las levaduras pueden causar infecciones en ambos, ya que este no es un factor de riesgo estadísticamente significativo.

Además, los pacientes ingresados en Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) presentaron más casos de aislamientos de *Candida* no- *albicans*, resultado que concuerda con la investigación realizada por Ajenjo *et al.,* 2011. Para poder explicar este hallazgo es conveniente indicar que los pacientes críticamente enfermos del servicio de UCI precisan de ventilación mecánica por lo que están más propensos a la migración de secreciones y microrganismos de la orofaringe o del tracto intestinal a las vías respiratorias inferiores con la consecuente colonización de la tráquea; todo esto facilitado por la disminución fisiológica de las defensas inmunológicas (Asensio *et al*., 2018; Soto, 2019) a diferencia de los pacientes que se encuentran en el servicio de UCIN los cuales no requieren de ventilación mecánica.

Así mismo, al contrastar la prevalencia de *Candida* no-*albicans* con el tipo de muestra, se observó asociación estadística para ambas variables y el porcentaje de aislamientos es similar al reportado por Heras-Cañas *et al.,* 2015, Kaur, *et al.,* 2016 y por Toka, Dumaz y Yula, 2016. Probablemente se deba a que una fuente importante de dicha levadura es el tracto urinario, no sólo porque es comensal en la mucosa sino también porque en muchos de los pacientes de UCI

y UCIN son de uso frecuente las sondas urinarias a las cuales *Candida* no -*albicans* se adhiere y forma biopelículas iniciando así su conversión a patógeno. También la candiduria se asocia con la candidemia, desencadenando complicaciones en la recuperación del paciente crítico (Toka, Dumaz y Yula, 2016.) y prolongar su estancia en UCI y que según Colombo *et al*., 2014 la tasa de mortalidad es alta a los 30 días de permanencia en ella.

En esta investigación, la mayoría de aislamientos fueron de pacientes críticos con previa exposición a antibacterianos porcentaje mucho menor al reportado por Ajenjo *et al.,* 2011, Gong *et al.,* 2016, Kaur *et al.,* 2016, Moreno Loaiza y Moreno Loaiza, 2017 y Tiroboschi *et al.,* 2017. Diferencia que se podría explicar en el hecho de que para sus estudios incluyeron a *Candida albicans* dentro del análisis estadístico de las *Candida* no-*albicans*. Después de todo, se ha demostrado que un paciente de UCI expuesto a cuatro antibióticos diferentes tiene aproximadamente el 35% de riesgo de candidemia, además el uso de los antibióticos como profilacticos pueden suprimir la microflora intestinal del paciente y reducir la presión sanguínea dando lugar al crecimiento excesivo de hongos (Pfaller y Castanheira, 2016).

En cuanto a la condición patológica y el aislamiento de *Candida* no-*albicans*, el 50% de aislamientos de la levadura fue en pacientes críticos con sepsis, porcentaje mayor en relación al de Ajenjo *et al.,* 2011 y Rodríguez *et al.,* 2017. Esto se interpreta teniendo en cuenta que la mayoría de aislamientos fueron de urocultivos y de pacientes jóvenes y ancianos. En estos grupos etarios de pacientes críticos es más probable según Asensio *et al.,* 2018 la presencia de pielonefritis, una infección aguda que genera urosépsis, con una mortalidad del 30%.

Acerca de la susceptibilidad antimicótica, diversas teorías explican los mecanismos de sensibilidad o resistencia, sin embargo no siempre las especies de *Candida* no-*albicans* responden de la misma manera. Respecto al fluconazol, la mayoría de cepas aisladas en el presente trabajo fueron sensibles a dicho producto coincidiéndose con lo reportado por Rodríguez *et al.,* 2017 y Tiraboschi *et al.,* 2017, este hecho se explica a que en ésta y en las investigaciones de los autores mencionados, las especies con mayor número de aislamiento fueron *C. tropicalis, C. glabrata, C. parapsilosis* y otras , las cuales presentan bajo número de resistencia que no afecta el porcentaje total, a diferencia de *C. krusei* que tiene la particularidad de tener resistencia intrínseca, pero como mantiene un porcentaje bajo de aislamiento, no alteró los reportes totales de sensibilidad.

Por lo que se refiere al voriconazol, se observó un alto porcentaje de resistencia a diferencia de los reportes de Archímedes *et al.*, 2017, Motoa *et al.*, 2017, y Toka, Dumaz y Yula, 2016, probablemente se deba a que las cepas aisladas en este estudio fueron de pacientes críticos que recibieron tratamiento previo con fluconazol y, en concordancia con las observaciones de Nieto *et al.*,2015, estas levaduras pueden llegar a generar resistencia cruzada entre ambos azoles. A esta explicación se suma a la probabilidad de que *C. glabrata* haya adquirido resistencia intrínseca a los azoles ya que esta levadura presentó el 37,5% de cepas resistentes.

## CAPITULO V. CONCLUSIONES

- La prevalencia de *Candida no-albicans* aislada como microorganismo único de pacientes de unidades críticas (UCI, UCIN) del Hospital Regional Lambayeque durante Febrero 2018 y Mayo de 2019 es de 16,8 % y relacionada con otros microorganismos es de 3,0 %, siendo la prevalencia total de 19,8%. Las especies identificadas fueron *C. tropicalis* con el 67,4%, seguida de *C. glabrata*, *C. parapsilosis* y *C. krusei* con el 17,4%, 10,9% y 4.3% respectivamente.

- La prevalencia de *Candida* no-*albicans* estadísticamente es dependiente del tipo de muestra e independiente de la edad, género, servicio hospitalario, uso previo de antimicrobiano y cuadro patológico en pacientes del Hospital Regional de Lambayeque durante Febrero 2018 y Mayo de 2019.

- El 80,4% de *Candida* no-*albicans* fue sensible al fluconazol, donde *C. tropicalis* tuvo el 93,5 % del total, seguido del 75,0% y el 40,0% para *C. glabrata* y *C. parapsilosis* respectivamente, mientras que el 78,3% fueron sensibles al voriconazol, donde el 83,9 % fueron *C. tropicalis*, seguido del 62,2%, el 80,0% y 50,0% para *C. glabrata*, *C. parapsilosis* y *C. krusei* respectivamente.

## CAPITULO VI. RECOMENDACIONES

- Caracterizar molecularmente las especies *Candida* no-*albicans* en especial al complejo *C. parapsilosis*.

- Investigar más variables como el tiempo de hospitalización y otros servicios hospitalarios diferentes a unidades críticas en el Hospital Regional de Lambayeque.

- Valorar la identificación y la realización de la prueba de susceptibilidad antifúngica en el diagnostico rutinario del género Candida en el Hospital Regional Lambayeque.

- Realizar investigaciones en otros hospitales que cuenten con el servicio de UCI y UCIN para ampliar el estudio epidemiológico a nivel de región.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS


Ajenjo, C., Aquevedo, A., Guzmán, A., Poggi, H., Calvo, M., Castillo, C., León, E., Andresen, M. y Labarca, J. (2011). Perfil epidemiológico de la candidiasis invasora en unidades de pacientes críticos en un hospital universitario. *Revista Chilena de Infectología, 28*(2), 118-122.

Alvitres, V. (2000). *Método Científico.Planificación de Investigacion.* Lambayeque,Perú: Editorial Ciencia.

Archimedes, D., Remondi, A. y Lopes, A. (2017). Revisiting Species Distribution and Antifungal Susceptibility of Candida Bloodstream Isolates from Latin American Medical Centers. *Journal of Fungi, 3*(2), 24. doi: https://doi.org/10.3390/jof3020024.

Argimon, J. y Jiménez, J. (2004). Métodos de investigación clínica y epidemiológica. Recuperado de https://books.google.com.gt/books?id=1I83AgAAQBAJ&printsec=copyright&hl=es#v=onepage&q&f=false.

Asensio, M., Hernández, M., Yus, S. y Minvielle, A. (2018). Infecciones en el paciente crítico. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado, 12*(52), 3085-3096. doi: https://doi.org/10.1016/j.med.2018.03.014.

Bonifaz, A. (2015). *Micología médica básica* (5ta edición). México, Mc Graw Hill.

Briones-Martin-Del-Campo, M., Orta-Zavalza, E., Juarez-Cepeda, J., Gutierrez-Escobedo, G., Cañas-Villamar, I., Castaño, I. y De Las Peñas, A. (2014). The oxidative stress response of the opportunistic fungal pathogen Candida glabrata. *Revista Iberoamericana de Micología, 31*(1), 67-71. doi: https://doi.org/10.1016/j.riam.2013.09.012.

Campos-García, L., Jimenez-Valdes, R., Hernandez-Bello, R., Palma-Nicolas, J., González, G., y Sánchez-González, A. (2019). Candida albicans and non-albicans Isolates from Bloodstream Have Different Capacities to Induce Neutrophil Extracellular Traps. *Journal of Fungi, 5*(2), 28. doi: https://doi.org/10.3390/jof5020028.

Capote-Bonato, F., Mayumi, K., Gonçalves, A., Bonfim-Mendonça, Patrícia Zuccolotto, L., Negri, M. y Estivalet, T. (2018). In vitro interaction of Candida tropicalis biofilm formed on catheter with human cells. *Microbial Pathogenesis, 125*, 177-182. doi: https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.09.029.

Clinical and Laboratory Standards. M44-A2: Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Guideline—Second Edition (2009).

Colombo, A. L., Guimarães, T., Sukienik, T., Pasqualotto, A. C., Andreotti, R., Queiroz-Telles, F., Nouér, S. y Nucci, M. (2014). Prognostic factors and historical trends in the epidemiology of candidemia in critically ill patients: an analysis of five multicenter studies sequentially

conducted over a 9-year period. *Intensive Care Medicine, 40*(10), 1489-1498. doi: https://doi.org/10.1007/s00134-014-3400-y.

Del Pozo, J. L. y Cantón, E. (2015). Candidiasis asociada a biopelículas. *Revista Iberoamericana de Micología, 33*(3), 176-183. doi: https://doi.org/10.1016/j.riam.2015.06.004.

Fortún, J. y Gioia, F. (2017). Update in Micology Invasive candidiasis in the neutropenic patient. *Revista de la Sociedad Española de Quimioterapia, 30,* 22-25. Recuperado de: https://pdfs.semanticscholar.org/2fe4/f8215f42dbfe624d784a8856c8d5e19ad66a.pdf.

Ghrenassia, E., Mokart, D., Mayaux, J., Demoule, A., Rezine, I., Kerhuel, L., De Jong, A., Azoulay, E. y Darmon, M. (2019). Candidemia in critically ill immunocompromised patients: report of a retrospective multicenter cohort study. *Annals of Intensive Care, 9*(1), 62. doi: https://doi.org/10.1186/s13613-019-0539-2.

Gong, X., Luan, T., Wu, X., Li, G., Qiu, H., Kang, Y., Qin, B., Fang, Q., Cui, W., Qiu, Y., Li, J., Zang, B. (2016). Invasive candidiasis in intensive care units in China: Risk factors and prognoses of Candida albicans and non-albicans Candida infections. *American Journal of Infection Control, 44*(5), e59-e63. doi: https://doi.org/10.1016/j.ajic.2015.11.028.

Guevara, M., Urcia, F. y Casquero, J. Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio para la identificación de los principales hongos oportunistas causantes de micosis humanas (2007). Recuperado de http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Manual Hongos.pdf.

Heras-Cañas, V., Ros, L., Sorlózano, A., Gutiérrez-Soto, B., Navarro-Marí, J. M. y Gutiérrez-Fernández, J. (2015). Especies de levaduras aisladas en muestras de orina en un hospital regional de España. *Revista Argentina de Microbiología, 47*(4), 331-334. doi: https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.07.004.

Hernández- Botero, J. S. y Pérez- Cárdenas, J. E. (2015). Identificación de Candida glabrata y otras especies comunes del género Candida mediante el uso secuencialdel medio de cultivo cromógeno y la prueba de tubo germinal. *Iatreia, 28*(4), 355-367. doi: https://doi.org/10.17533/udea.iatreia.v28n4a01.355.

Kaur, R., Dhakad, M. S., Goyal, R. y Kumar, R. (2016). Emergence of non-albicans Candida species and antifungal resistance in intensive care unit patients. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 6*(5), 455-460. doi: https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.12.019.

Ko, J., Sik, D., Yeon, J., Ah, H., Yeol, S., Jung, S., Joo, E., Cheon, S., Kim, Y., Kim, S. Cho,S., Kang, C., Chung, D., Lee, N. y Ran, K. (2018). Changing epidemiology of non- albicans candidemia in Korea. *Journal of Infection and Chemotherapy, 25*(5), 388-391.doi: https://doi.org/10.1016/j.jiac.2018.09.016.

Lazo, V., Hernández, G. y Méndez, R. (2018). Candidiasis sistémica en pacientes críticos, factores predictores de riesgo. *Horizonte Medico 18*(1) 75-85. doi: 10.24265/horizmed.2018.

Lee, P. Y., Gam, L. H., Yong, V. C., Rosli, R., Ng, K. P. y Chong, P. P. (2014). Immunoproteomic analysis of antibody response to cell wall-associated proteins of Candida tropicalis. *Journal of Applied Microbiology, 117(*854-65). https://doi.org/10.1111/jam.12562.

Linares, M. J. y Solís, F. (2007). Identificación de levaduras. *Revista Iberoamericana de Micología,* (11), 1-20. Recuperado de: http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo11.pdf.

Llopis-Torregrosa, V., Vaz, C., Monteoliva, L., Ryman, K., Engstrom, Y., Gacser, A., Gil, C., Ljungdahl, P. y Sychrová, H. (2019). Trk1-mediated potassium uptake contributes to cell-surface properties and virulence of Candida glabrata. *Scientific reports, 9*(1), 7529. doi. https://doi.org/10.1038/s41598-019-43912-1

Lord, A. K., y Vyas, J. M. (2019). Host defenses to fungal pathogens. Clinical Immunology (Fifth Edit). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6896-6.00029-6.

Ministerio de Salud. Norma técnica de los servicios de cuidados intensivos e intermedios (2006). Recuperado de: http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/3372.pdf.

Moreno-Loaiza, M. y Moreno-Loaiza, O. (2017). Características clínicas y epidemiológicas de la candidemia en pacientes de un hospital de tercer nivel del sur del Perú, 2011-2014. *Acta Medica Perú, 34*(4), 289-293. Recuperado de: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172017000400006.

Motoa, G., Muñoz, J. S., Oñate, J., Pallares, C. J., Hernández, C. y Villegas, M. V. (2017). Epidemiology of Candida isolates from Intensive Care Units in Colombia from 2010 to 2013. *Revista Iberoamericana de Micología, 34*(1), 17-22. doi: https://doi.org/10.1016/j.riam.2016.02.006.

Navarro-Arias, M. J., Hernández-Chávez, M. J., García-Carnero, L. C., Amezcua-Hernández, D. G., Lozoya-Pérez, N. E., Estrada-Mata, E., Mart´´inez -Duncker, I., Franco, B y Mora-Montes, H. M. (2019). Differential recognition of Candida tropicalis, Candida guilliermondii, Candida krusei, and Candida auris by human innate immune cells. *Infection and drug resistance, 12,* 783-794. doi: https://doi.org/10.2147/IDR.S197531.

Nieto, M. C., Tellería, O. y Cisterna, R. (2015). Sentinel surveillance of invasive candidiasis in Spain: epidemiology and antifungal susceptibility. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 81*(1), 34-40. doi: https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2014.05.021.

Ochiuzzi, M. E., Arechavala, A., Guelfand, L., Maldonado, I., Soloaga, R. y Red de Micología CABA. (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. doi: https://doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70058-6.

Orozco, P., Cortés, J. y Parra, C. (2009). Colonización por levaduras en recién nacidos y personal de salud en la unidad de cuidados intensivos neonatales de un hospital universitario en Bogotá, Colombia. *Revista Iberoamericana de Micología, 26*(2), 108-111.

Pedraza, A., Olvera, C., Aguirre, J., Camarena, G. y Franco, J. (2017). Riesgo de desarrollo de Candida no Albicans en pacientes en terapia intensiva con uso previo de fluconazol. *Medica Critica, 31*(2), 55-59. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-89092017000200055&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

Pemán, J. y Salavert, M. (2013). Epidemiología y prevención de las infecciones nosocomiales causadas por especies de hongos filamentosos y levaduras. *Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clínica,* 31(5), 328-341.doi: https://doi.org/10.1016/j.eimc.2013.02.002.

Pfaller, M. A. y Castanheira, M. (2016). Nosocomial Candidiasis: Antifungal stewardship and the importance of rapid diagnosis. *Medical Mycology 54,* 1-22. doi: https://doi.org/10.1093/mmy/myv076.

Pimentel, P., Camargo, F., Rossoni, R., Campos, J. y Cardoso, J. (2016). Influence of Candida krusei and Candida glabrata on Candida albicans gene expression in in vitro biofilms. *Archives of Oral Biology, 64,* 92-101. doi: https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.01.005.

Pristov, K. E. y Ghannoum, M. A. (2019). Resistance of Candida to azoles and echinocandins worldwide. *Clinical Microbiology and Infection, 25*(7), 792-798. doi: https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.028.

Rafael, E., Sánchez, M., Maldonado, O. y Dueñas, C. (2019). Cuidado Intensivo. *Acta Colombiana de Cuidado Intensivo, 19*(1), 28-36. doi: https://doi.org/10.1016/j.acci.2018.06.010.

Rodríguez-Cerdeira, C., Carnero, M., Molares-Vila, A., López-Barcenas, A., Fabbrocini, G., Bardhi, B. y Hernandez-Castro, R. (2019). Biofilms and vulvovaginal candidiasis. Colloids and Surfaces B: *Biointerfaces, 174*(May 2018), 110-125. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.11.011.

Rodríguez, L., Bustamante, B., Huaroto, L., Agurto, C., Illescas, R., Ramirez, R., Diaz, A. y Hidalgo, J. (2017). A multi-centric Study of Candida bloodstream infection in Lima-Callao, Peru: Species distribution, antifungal resistance and clinical outcomes. *PloS one, 12*(4), e0175172.doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175172.

Rossoni, R. D., Pimentel, P., Freire, F., dos Santos, J. D., Cardoso, A., y Campos, J. (2017). Study of microbial interaction formed by Candida krusei and Candida glabrata: In vitro and In vivo

studies. *Brazilian Dental Journal, 28*(6), 669-674. doi: https://doi.org/10.1590/0103-6440201701393.

Sadeghi, G., Ebrahimi-Rad, M., Mousavi, S. F., Shams-Ghahfarokhi, M. y Razzaghi-Abyaneh, M. (2018). Emergence of non-Candida albicans species: Epidemiology, phylogeny and fluconazole susceptibility profile. *Journal de Mycologie Medicale, 28*(1), 51-58. doi. https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2017.12.008.

Salas, G., Travaglianti, M., Leone, A., Couceiro, C., Rodríguez, S. y Fariña, D. (2014). Hidrocortisona para el tratamiento de hipotensión refractaria: ensayo clínico controlado y aleatorizado. *Anales de Pediatría, 80*(6). doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.anpedi.2013.08.004.

Sharma, J., Rosiana, S., Razzaq, I. y Shapiro, R. (2019). Linking cellular morphogenesis with antifungal treatment and susceptibility in Candida pathogens. *Journal of Fungi, 5*(1), 17. doi: https://doi.org/10.3390/jof5010017.

Smith, B. y Steinbach, W. (2018). *Candida Species.* En Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases (Fifth Edit, pp. 1231-1237). Elsevier Inc. doi: https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-4801-3.00258-7.

Soto, G. L. (2019). El Paciente Crítico Crónico. *Revista Médica Clínica Las Condes, 30*(2), 160-170. doi: https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2019.03.004.

Tiraboschi, I. N., Pozzi, N. C., Farías, L., García, S. y Fernández, N. B. (2017). Epidemiología, especies, resistencia antifúngica y evolución de las candidemias en un hospital universitario de Buenos Aires, Argentina, durante 16 años. *Revista chilena de infectología, 34*(5), 431-440. doi: https://doi.org/10.4067/S0716-10182017000500431.

Toka, T., Durmaz, S. y Yula, E. (2016). Antifungal susceptibilities of Candida species isolated from urine culture. *Journal of Infection and Chemotherapy, 22*(9), 629-632. doi: https://doi.org/10.1016/j.jiac.2016.06.012.

Vieira de Melo, A., Zuza-Alves, D., da Silva - Rocha, W., Ferreira, L., Francisco, E. C., Salles, A. y Maranhao, G. (2019). Virulence factors of Candida spp . obtained from blood cultures of patients with candidemia attended at tertiary hospitals in Northeast Brazil. *Journal de Mycologie Médicale,* (2018).doi: https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2019.02.002.

Villalobos-Vindas, J., Castro-Cordero, J., Avilés-Montoya, Á., Peláez-Gil, M., Somogyi-Pérez, T. y Sandoval-Carpio, L. (2016). Epidemiología de la candidemia en el Hospital México. *Acta Médica Costarricense*. ISSN:, 58(1), 15-21.

Whibley, N. y Gaffen, S. L. (2015). Beyond Candida albicans: Mechanisms of immunity to non-albicans Candida species. *Cytokine, 76*(1), 42-52. doi: https://doi.org/10.1016/j.cyto.2015.07.025.

Willaert, R. (2018). Adhesins of Yeasts: Protein Structure and Interactions. *Journal of Fungi*, *4*(4), 119. doi: https://doi.org/10.3390/jof4040119.

Wohlmeister, D., Barreto, D., Etges, V., Noal, L., Buffon, A., Meneghello, A., Antonio, V., Pilger, D. (2017). Differentiation of Candida albicans, Candida glabrata , and Candida krusei by FT-IR and chemometrics by CHROMagar TM Candida. *Journal of Microbiological Methods*, *141*, 121-125.doi: https://doi.org/10.1016/j.mimet.2017.08.013.

Zheng, Q., Zhang, Q., Bing, J., Ding, X. y Huang, G. (2017). Environmental and genetic regulation of white-opaque switching in Candida tropicalis. *Molecular Microbiology*, *106*, 999-1017. doi: https://doi.org/10.1111/mmi.13862.

Zurita, S., Urcia, F. y Navarro, A. Manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico micológico, Repositorio Institucional – INS. (2017). Recuperado de https://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/INS/915/Manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico micologico.final.pdf?sequence=1%0Ahttp://repositorio.ins.gob.pe/handle/INS/915%0Ahttp://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/INS/915/Manual de.

# ANEXOS

## Anexo 01

## AGAR HARINA DE MAÍZ

Manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico micológico, (Zurita, Urcia y Navarro, 2017) y Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio para la identificación de los principales hongos oportunistas causantes de micosis humanas del ministerio de Salud con algunas modificaciones (Guevara, Urcia y Casquero, 2007)

COMPOSICIÓN

| | | |
|---|---|---|
| a. | Harina de maíz | 40 g |
| b. | Agar | 20 g |
| c. | Tween 80 | 3 mL |
| d. | Agua destilada | 1000 mL |

PROCEDIMIENTO

- Disolver la harina de maíz en el agua destilada.
- Dejar reposar a temperatura ambiente durante 15 minutos.
- Filtrar a través de papel filtro y reconstituir el anterior volumen.
- Añadir el agar.
- Añadir el tween 80.
- Esterilizar a 120 ºC durante 20 minutos.

**Anexo 02**

## DECLARACIÓN INFORMADA DEL HOSPITAL REGIONAL DE LAMBAYEQUE

GOBIERNO REGIONAL LAMBAYEQUE
DIRECCIÓN REGIONAL DE SALUD
HOSPITAL REGIONAL LAMBAYEQUE - CHICLAYO

"AÑO DEL BUEN SERVICIO AL CIUDADANO

PERÚ Ministerio de Salud

## CONSTANCIA DE APROBACIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

El Comité de Ética en Investigación, luego de haber revisado el proyecto de investigación titulado: **"PREVALENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD A ANTIFÚNGICOS DE CANDIDA NO-ALBICANS AISLADA DEPACIENTES DE UNIDADES CRÍTICAS (UCI, UCIN). HOSPITAL REGIONAL LAMBAYEQUE FEBRERO –DICIEMBRE 2018.",** y al haberse levantado las observaciones realizadas por nuestro comité, se otorga la presente constancia al autor**:**

**KARINA VILLALOBOS BARBOZA.**

Y se resuelve:

1. Aprobar la ejecución del mencionado proyecto.
2. Extender ésta constancia para que pueda ser ejecutado en las unidades operativas pertinentes.
3. Los investigadores deberán presentar el avance trimestral de la investigación en desarrollo.

Chiclayo, 20 de Noviembre del 2018

**Código_Inv: 0211-055-18 CEI**

GOBIERNO REGIONAL LAMBAYEQUE
HOSPITAL REGIONAL LAMBAYEQUE
Emma Vanesa Arriaga Deza
Pte. Comité Ético en Investigación HRL
CBP. N° 6789

Prolg.Augusto B.Leguía N°100 -Esquina Av.Progreso N°110-120 – Lambayeque-Chiclayo

Teléfono: 074- 480420 Anexo: 1060