



**UNIVERSIDAD PRIVADA NORBERT WIENER**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**“AGENTES FÚNGICOS EN PACIENTES SINTOMÁTICOS  
RESPIRATORIOS CON HEMOPTISIS. HOSPITAL NACIONAL  
HIPÓLITO UNANUE 2016”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO  
TECNÓLOGO MÉDICO EN LABORATORIO CLÍNICO  
Y ANATOMÍA PATOLÓGICA

**Presentado por:**

**CARBAJAL ARAUJO, MAYRA LORENA  
VILCHEZ ESCALANTE, ADA FLOR**

**Asesor**

**LIC. TM. CHAMPI MERINO, ROKY GOVANNI**

**LIMA – PERÚ**

**2017**

## **Agradecimiento**

A Dios

Por haber permitido llegar hasta este punto y darme salud para lograr mis objetivos, además de su infinita acción de bondad y amor.

A mis maestros quienes nunca desistieron al enseñarnos, a pesar de las circunstancias, a ellos que continuaron depositando su esperanza en nosotras.

A todos los que nos apoyaron en especial al Lic. Roky G. Champi Merino por su apoyo incondicional.

### **Dedicatoria**

A nuestros padres por ser el pilar fundamental para nuestra educación tanto académico, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.

Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.

**Mayra Lorena Carbajal Araujo**

**Ada Flor Vilchez Escalante**

**ASESOR DE TESIS**

**Lic. CHAMPI MERINO, ROKY GOVANNI**

## **JURADO**

### **Presidente**

Mg. ROJAS LEON, ROBERTO

### **Secretario**

Lic. OLIVO LOPEZ, JOSE MARIA

### **Vocal**

Mg QUISPE MANCO, MARIA DEL CARMEN

## ÍNDICE

	Pág.
<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>I. EL PROBLEMA</b> .....	3
1.1. Planteamiento del problema .....	3
1.2. Formulación del problema.....	4
1.3. Justificación.....	5
1.4. Limitaciones .....	6
1.5. Objetivos.....	7
1.5.1. Objetivos Generales.....	7
1.5.2. Objetivos Específicos.....	7
<b>II. MARCO TEÓRICO</b> .....	8
2.1. Antecedentes.....	8
2.2. Base teórica.....	11
2.3. Terminología básica.....	22
2.4. Hipótesis.....	23
2.5. Variables e indicadores.....	23
2.6 Definición operacional de términos .....	24
<b>III. DISEÑO METODOLÓGICO</b> .....	25
3.1. Tipo y nivel de Investigación.....	25
3.2. Población y muestra.....	25
3.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	27
3.4. Procesamiento de datos y análisis estadístico.....	29
3.5. Aspectos éticos.....	30

<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	31
4.1. Resultados.....	31
4.2. Discusión.....	42
<b>V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	48
5.1. Conclusiones.....	48
5.2. Recomendaciones.....	49
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	50
<b>ANEXOS</b> .....	54

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1.....	32
Tabla 2.....	34
Tabla 3.....	36
Tabla 4.....	38
Tabla 5.....	40



## ÍNDICE DE GRÁFICOS

	<b>Pág.</b>
Gráfico 1.....	31
Gráfico 2.....	33
Gráfico 3.....	35
Gráfico 4.....	37
Gráfico 5.....	39
Gráfico 6.....	41

## ÍNDICE DE IMAGENES

	<b>Pág.</b>
Figura1: Medios de cultivo con crecimiento de <i>Candida sp</i>	56
Figura 2: Identificación de <i>Candida</i> en tubo germinativo	56
Figura 3: Lectura e identificación de la especie de <i>Candida</i>	56
Figura 4: Confirmación de la especie <i>Candida</i> en chromagar	56
Figura 5: Medios de cultivo con crecimiento de <i>hongos filamentosos</i>	57
Figura 6: Examen directo con KOH de las colonias	57
Figura 7: Identificación del género y especie mediante Microcultivo	57
Figura 8: Identificación con azul de lactofenol de <i>Aspergillus fumigatus</i>	58
Figura 9: Identificación con azul de lactofenol de <i>Penicillium</i>	58
Figura 10: Identificación con azul de lactofenol de <i>Aspergillus fumigatus</i>	58

## RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la prevalencia de agentes fúngicos de pacientes sintomáticos respiratorios con hemoptisis en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, entre los meses de setiembre a noviembre del 2016. Para lo cual se realizó un estudio no experimental, observacional, prospectivo y de corte transversal; en pacientes sintomáticos respiratorios que presentaron hemoptisis procedentes de consulta externa y hospitalización. Se procesaron las muestras de esputo enviadas al área del Centro de Excelencia para el Control de la transmisión de la tuberculosis (CENEX) del servicio de Microbiología del Hospital Nacional Hipólito Unanue.

Se recolectaron 82 muestras que cumplieron los criterios de selección, aislándose 38 agentes fúngicos. Se encontró *Candida albicans/dubliniensis* en un 63%, *Penicillium sp.* 13%, *Aspergillus fumigatus* 11%, *Aspergillus sp.* 8% y *Aspergillus nidulans* 5%. La edad promedio de los pacientes fue de 48 +/-19.5 años, siendo el 82% procedente de consulta externa; no encontrándose diferencias significativas entre el sexo.

**Conclusión:** La prevalencia de agentes fúngicos aislados en muestras hemoptoicas de pacientes sintomáticos respiratorios fue de 46.3%. Entre los agentes fúngicos encontramos una predominancia del género *Candida albicans/dubliniensis*.

**Palabras clave:** Hemoptisis, agentes fúngicos, esputo, pacientes sintomáticos respiratorios.

## SUMMARY

The objective of the study was to determine the prevalence of fungal agents of respiratory symptomatic patients with hemoptysis at the Hospital Nacional Hipólito Unanue between September and November 2016. For this, a non-experimental, observational, prospective and cut study cross; in symptomatic respiratory patients who presented hemoptysis from outpatient clinic and hospitalization. Sputum samples sent to the Center of Excellence for Control of Tuberculosis Transmission (CENEX) of the Microbiology Service of the National Hospital Hipólito Unanue were processed.

Of 82 samples were collected, which met the selection criteria, and 38 fungal agents were isolated. *Candida albicans/dublinskiensis* was found in 63%, *Penicillium sp.* 13%, *Aspergillus fumigatus* 11%, *Aspergillus sp.* 8% and *Aspergillus nidulans* 5%. The mean age of the patients was 48 +/- 19.5 years, 82% of which was from an outpatient clinic; no significant differences were found between sex.

**Conclusion:** The prevalence of isolated fungal agents in hemoptoic samples of symptomatic respiratory patients was 46.3%. Among the fungal agents we found a predominance of the genus *Candida albicans/dublinskiensis*.

**Key words:** Hemoptysis, fungal agents, sputum, symptomatic respiratory patients

# I. EL PROBLEMA

## 1.1. Planteamiento del problema

La tuberculosis es una enfermedad infectocontagiosa que a pesar de los enormes esfuerzos en su control aún mantiene una alta tasa de morbilidad. Lima es el departamento que más casos de tuberculosis concentra en el país (60%), los distritos que reportan tasas de tuberculosis por encima del nivel nacional (más de 100 casos por cada 100 mil habitantes) son San Juan de Lurigancho, Rímac, La Victoria, El Agustino, Ate, San Anita y Barranco; puesto que su fuerte asociación con la pobreza hace que tenga mayor prevalencia e incidencia en zonas donde las personas tienen menores recursos económicos.<sup>1, 2, 3</sup>

Según la Norma Técnica de Salud para el Control de la Tuberculosis (NTSCTB) de Perú se considera como sintomático respiratorio a toda persona que presenta tos con expectoración por más de 15 días, sumado a esta sintomatología se presentan casos de pacientes con hemoptisis, que es la expectoración de sangre procedente del tracto respiratorio inferior, de relativa frecuencia que representa el 10 a 15% de casos en las salas de urgencias y en la consulta externa.<sup>3, 4, 5, 6</sup>

La hemoptisis constituye un signo muy inespecífico, puede revelar tuberculosis activa hasta en un 10% de los casos, también puede ocurrir como una complicación tardía de una infección tuberculosa previa o estar relacionada con una recidiva de una infección debida a *Mycobacterium tuberculosis* o una infección debida a micobacterias no tuberculosas, entre muchas otras causas;

en la actualidad se ha incrementado su frecuencia secundaria a una infección por agentes fúngicos. 7, 8, 9,10

La vía de ingreso de estas infecciones fúngicas es a través de la inhalación de esporas del hongo hacia el pulmón, a partir del que puede diseminarse a otros órganos. Por ello, frecuentemente, cursan con síntomas de un cuadro respiratorio que tiende a ser crónico. 9, 10, 11,12

En consecuencia, siendo la micosis pulmonar una patología que está provocando mayores índices de infecciones en pacientes con algún tipo de antecedente o sin antecedentes de enfermedad, provocando algunas alteraciones en el tejido pulmonar y desencadenando otros tipos de enfermedades, en la actualidad estas micosis pulmonares no son detectadas oportunamente y por lo tanto no son tratadas adecuadamente, por ello en este estudio queremos estimar la prevalencia de esta enfermedad, con un mayor énfasis para el diagnóstico y a fin que se pueda dar tratamiento oportuno al paciente.

## **1.2. Formulación del problema**

Por lo que se formula el siguiente problema:

¿Cuál es la prevalencia de agentes fúngicos en pacientes sintomáticos respiratorios con hemoptisis en el Hospital Nacional Hipólito Unanue 2016?

### **1.3. Justificación.**

En el diagnóstico de los procesos infecciosos de las vías respiratorias, se identifican diferentes agentes etiológicos, siendo los más frecuentes los de origen bacteriano. Sin embargo, las infecciones respiratorias por agentes fúngicos en nuestro medio se han reportado, en diversos estudios han demostrado su presencia y frecuencia en algunas zonas del país, aunque es poco lo que se conoce sobre su prevalencia actualmente. No se ha realizado en el Hospital Nacional Hipólito Unanue un estudio similar que valore la utilidad diagnóstica de los cultivos de hongos a partir de muestras de esputo hemoptoicas en pacientes sintomáticos respiratorios.

El conocimiento de la prevalencia de agentes fúngicos en este estudio permitirá obtener datos actuales para un adecuado manejo del diagnóstico de los pacientes sintomáticos respiratorios con muestras hemoptoicas, así como el desarrollo de investigaciones posteriores. Por lo que eventualmente si existe una prevalencia importante de este problema en la población se podría plantear la implementación de pruebas adicionales que permitan un adecuado manejo terapéutico.

El propósito final del estudio es tener datos actualizados concernientes al valor diagnóstico del cultivo de hongos en muestras de esputo hemoptoicas en pacientes hospitalizados y comunitarios del Hospital Nacional Hipólito Unanue.

#### **1.4 Limitaciones**

El procesamiento de muestras, recolección de datos, cultivo e identificación de agentes fúngicos fue realizado en el laboratorio de microbiología, contando con la experticia y competencia necesaria del personal profesional a cargo para el apoyo a la ejecución del proyecto. La aplicación de las técnicas descritas para la identificación de agentes fúngicos requiere de materiales específicos del laboratorio de microbiología, como el material de vidrio y medios de cultivo. Además del conocimiento de uso de equipamiento básico en microbiología para mantener la esterilidad como son incubadoras, estufas y autoclave.

El presente proyecto conto con el apoyo del uso de equipos, proporcionados por el Servicio de Microbiología, Inmunología y biología Molecular del Departamento de Patología Clínica, solicitándose el permiso correspondiente.

Por ser un trabajo prospectivo los registros de los datos se realizaron desde el software Whonet, que es utilizado por el personal del Servicio de Microbiología.



## **1.5. Objetivos**

### **1.5.1. Objetivos Generales**

- Determinar la prevalencia de agentes fúngicos en pacientes sintomáticos respiratorios con hemoptisis en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016.

### **1.5.2. Objetivos Específicos.**

- Identificar los agentes fúngicos a nivel de género y especie en muestras hemoptoicas de pacientes sintomáticos respiratorios.
- Determinar la distribución de agentes fúngicos identificados en muestras hemoptoicas de pacientes sintomáticos respiratorios; según sexo, procedencia y grupo etáreo.
- Determinar la prevalencia de agentes fúngicos en pacientes sintomáticos respiratorios con hemoptisis y baciloscopía negativa.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedente

Existen antecedentes sobre esta investigación, según la cronología y el espacio son:

En el año 2000 Contreras C. et al., realizó un estudio de las causas de hemoptisis en pacientes hospitalizados en el Hospital Dos de Mayo de Lima. En el que se destaca tuberculosis activa con 41,4 %, bronquiectasia con 29,8 %, cáncer pulmonar 7,9 %, Aspergilosis pulmonar 5,2 %, bronquitis crónica 3,6 % e hidatidosis pulmonar 2,3 %. Concluyendo que las causas de hemoptisis pueden variar de acuerdo al sexo, la edad y otros factores epidemiológicos.<sup>13</sup>

En el año 2000, Gómez W. et al., En un estudio sobre determinación de micosis profundas y oportunistas en usuarios con enfermedades de vías respiratorias en el Hospital "Tingo María" Perú, Estudió 209 pacientes mayores de 15 años con enfermedades infecciosas respiratorias agudas altas, bajas y crónicas; se realizó cultivo seriado de esputo y el examen directo que proporcionó un diagnóstico presuntivo. Siendo el cultivo el diagnóstico definitivo, el agente predominante fue *Aspergillus fumigatus*, patógeno más importante asociado a las enfermedades infecciosas respiratorias agudas altas y bajas. Concluyendo que los protocolos de atención y manejo de enfermedades respiratorias infecciosas agudas y crónicas deben incluir el cultivo de esputo como prueba de diagnóstico diferencial y tamizaje etiológico de hongos que probablemente puedan estar causando patologías respiratorias.<sup>14</sup>

En el año 2012, Mishra P. et al., En un estudio sobre las causas bacterianas y fúngicas de la hemoptisis en pacientes de un centro de atención terciaria en Uttar Pradesh La India, 31% tuvo positividad; 58% fueron varones y 42% mujeres. Encontrándose que la causa más frecuente fue tuberculosis pulmonar 38%, seguido de agentes bacterianos *Staphylococcus aureus* 9%, *Klebsiella* spp 9%, *Pseudomonas aeruginosa* 5% y *Streptococcus pneumoniae* 1%. Entre los agentes fúngicos *Aspergillus* spp 10% y *Mucor* 1%. Concluyendo que la hemoptisis es un síntoma potencialmente peligroso, una evaluación adecuada y eficiente de los agentes etiológicos que causan hemoptisis juega un papel fundamental en la gestión de este tipo de pacientes. <sup>15</sup>

En el año 2013, Krishnamurthy S. et al., En un estudio de micosis oportunistas en enfermedades pulmonares en un hospital de tercer nivel” La India; cuyo objetivo fue determinar la Infección micótica oportunista en las enfermedades pulmonares preexistentes como tuberculosis, abscesos pulmonares, EPOC; en pacientes hospitalizados, 66% tuvo resultado positivo; y de estos el 47% fueron de la especie *Candida albicans*, 10% *Candida tropicalis* y 43% *Aspergillus* sp. Concluyendo que la asociación de hongos oportunistas con enfermedades broncopulmonares tiene gran prevalencia, teniendo como agentes micóticos de mayor frecuencia a la especies de *Candida* y *Aspergillus*.<sup>16</sup>

En el año 2016, Kalyani C.S., Koripella RL, Madhu Ch., En un estudio sobre aislamiento de agentes fúngicos en muestras de esputo de pacientes con tuberculosis multidrogorresistente La India, en el 62% se obtuvo aislamiento de hongos de los cuales se obtuvo para *Candida spp.* 30%, *Cryptococcus spp.* 4%, *Aspergillus spp.* 22%, *Penicillium spp.* 4% y *Rhizopus spp.* 2%. El 54% de muestras presentaron baciloscopía positiva. Concluyendo que existe una alta prevalencia de infecciones fúngicas en pacientes con tuberculosis, la detección rutinaria de infección por hongos es recomendado para un diagnóstico adecuado y tratamiento oportuno.<sup>32</sup>

## **2.2. Base teórica**

### **2.2.1 Hemoptisis**

#### **Definición**

Contreras C. et al., la hemoptisis (de los vocablos griego hemo, sangre y ptysis, expectorar) es un síntoma de relativa frecuencia en las salas de urgencias y en la consulta externa. Se define como la expulsión de sangre proveniente del aparato respiratorio. En el enfoque diagnóstico de la hemoptisis es esencial determinar que la sangre procede del aparato respiratorio y no de la nasofaringe o del aparato digestivo.<sup>13</sup>

Cortez S. et al., la hemoptisis en función del volumen de sangre emitido y de la forma de presentación se clasifica en leve, si la cantidad de sangre expectorada y generalmente mezclada con el esputo no supera los 15 – 20 ml/día; moderada ante la expulsión de sangre pura con un volumen intermedio entre la hemoptisis leve y la masiva; y de esta última ante un volumen superior a 600ml/24-48h constituyendo una urgencia médica, amenazante poniendo en peligro la vida del paciente como consecuencia de la inundación hemática del árbol traqueo bronquial mas que por las posibles consecuencias propias de toda hemorragia.<sup>17</sup>

#### **Etiología**

Rueda C. et al., sostiene que entre las causas más frecuentes de hemoptisis se encuentran la bronquitis crónica, bronquiectasias, carcinomas pulmonares y tuberculosis representan más de las dos terceras partes de los casos de hemoptisis.<sup>18</sup>

No existe una clara relación entre la cantidad de la hemoptisis y su etiología, no obstante caso de hemoptisis moderada son las bronquiectasias-bronquitis

crónica y el carcinoma bronco génico las más frecuentes y cuando se trata de hemoptisis masivas son la tuberculosis (49%), bronquiectasias (22%), absceso de pulmón (12%), carcinoma (3%), aspergilosis y fibrosis quística.<sup>18</sup>

En cuanto a la edad del paciente puede ser un aspecto orientativo, por debajo de los 40 años las etiologías dominantes son las inflamatorias como la bronquitis, bronquiectasias, neumonías y tuberculosis, sólo el 0.8% de los pacientes con cáncer de pulmón tiene menos de 40 años. Por encima de 40 años es el cáncer de pulmón la primera causa de hemoptisis.<sup>18</sup>

### **Tipos de Hemoptisis**

Hemoptisis masiva: Cuando se expulsan más de 500 cc/hora y que se suele acompañar de bajada de la tensión arterial.<sup>17</sup>

Hemoptisis no masiva: Cuando la expulsión de sangre es menor de 500 cc/hora.<sup>17</sup>

### **Síntomas de infección por Hemoptisis**

La hemoptisis es más frecuente en el varón y la edad media de los pacientes que presentan este síntoma oscila entre los 50 a 60 años.<sup>18</sup>

Otros síntomas que debemos tener en cuenta son: tos, disnea o dificultad respiratoria, pérdida de peso y fiebre. Son síntomas que debemos preguntar al paciente y que nos orientan sobre la causa de la hemoptisis.<sup>18</sup>

### **Diagnostico**

La radiografía de tórax junto con una buena exploración física del paciente, así como unas preguntas adecuadas sobre las enfermedades anteriores y síntomas que tiene el paciente nos llevarán a un diagnóstico en el 70 % de los casos. Después de una buena historia clínica, preguntando al paciente sobre sus síntomas y enfermedades, se suele solicitar un análisis de sangre, una radiografía de tórax y una gasometría arterial.

En el análisis de sangre veremos si hay alguna alteración de la coagulación sanguínea y, sobre todo, será importante descartar una anemia como consecuencia del sangrado del pulmón. La gasometría arterial es un análisis especial de sangre que se hace en la muñeca para saber el nivel de oxígeno en la sangre del paciente y es una medida para saber cómo funciona el pulmón.

En la radiografía de tórax podemos ver si en el pulmón hay alguna imagen extraña que sea la causante del proceso.

Si con las anteriores pruebas no hemos llegado al diagnóstico enviamos al paciente al especialista de pulmón, el neumólogo, para realizar una broncoscopía (consiste en meter un tubo por la boca o nariz llegando hasta los bronquios) o bien una tomografía axial computadorizada del tórax (TAC torácica).<sup>21</sup>

### **2.2.2 Micosis Pulmonar**

Las micosis pulmonares son un conjunto de enfermedades del aparato respiratorio que son causadas por microorganismos del reino Fungi y pueden ser tanto invasoras como no invasoras, en pacientes inmunocomprometidos o con factores de riesgos específicos. Generalmente, se hallan en cuevas naturales, en el suelo y se limitan a ciertas áreas geográficas ubicadas en cuencas hidrográficas de clima cálido y húmedo. La vía de ingreso de estas infecciones fúngicas es a través de la inhalación de esporas del hongo hacia el pulmón, a partir del que puede diseminarse a otros órganos. Las especies involucradas en este tipo de infecciones comprenden un amplio grupo pertenecientes entre otros a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Scedosporium*, sin embargo, *Aspergillus fumigatus* es la especie de mayor frecuencia en los aislamientos. La inhalación de conidios provoca una infección pulmonar primaria que en el 95% de las personas es subclínica y pasajera. La inhalación de gran cantidad de conidios produce una infección más agresiva.<sup>19, 20</sup>

### **Etiología**

Gómez W. et al., sostiene que la prevalencia de estas infecciones muestran elevación constante; esta curva seguirá en aumento por el incremento de la esperanza de vida y en consecuencia, de las enfermedades geriátricas, uso de inmunosupresores cada vez más potentes, empleo de antibióticos de amplio espectro, complicaciones de las técnicas quirúrgicas modernas y presencia de síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Las micosis oportunistas son infecciones causadas por hongos saprofitos que están mediadas por factores pre disponentes (TBC cavitaria, neoplasia, infección-HIV, uso de antibióticos de amplio espectro, drogadicción, alcoholismo, diabetes, embarazo, etc.) presentes en el hospedero humano. Entre las principales infecciones tenemos:



Aspergilosis, Criptococosis, Candidiasis, y Fusariosis. La micosis profunda, denominada también micosis sistémica. La vía de ingreso es a través de la inhalación de esporas del hongo hacia el pulmón, a partir de la cual puede diseminarse a otros órganos llegando a producir la muerte del paciente.<sup>19</sup>

### **Signos y síntomas de micosis pulmonar**

En la mayoría de los casos, los síntomas de infección fúngica en los pulmones incluyen tos persistente por periodos prolongados, disnea, dolor torácico, fiebre que persiste incluso con medicación, escalofríos, pérdida de peso, sudores nocturnos, secreciones purulentas o hemoptoicas.

### **Aspectos Epidemiológicos**

Estas enfermedades son causadas por microorganismos que viven libres en la naturaleza, en el suelo o en el material orgánico en putrefacción y que con frecuencia están limitados a ciertas regiones geográficas. En dichas zonas, los individuos adquieren esta micosis, aunque la mayoría solo desarrollan síntomas menores o incluso cursan asintomáticos; solo una minoría de los afectados progresa a una enfermedad completamente desarrollada, que puede llegar a ser grave y mortal. Quizá esto podría ser una de las explicaciones de la baja frecuencia de casos positivos obtenidos (1,7%).

### **Tipos de agentes micóticos**

Entre los principales agentes fúngicos que se observan en infecciones pulmonares tenemos: *Aspergillus spp*, *Candida spp*, entre otros.

- ***Aspergillus spp***: es un hongo filamentoso hialino que se encuentra en alimentos, desechos orgánicos y polvo. Existen aproximadamente 200 especies de este género, pero sólo algunas son patógenas, como es el caso principalmente de *A.fumigatus*, *A.flavus* y *A.niger*. El pequeño tamaño de sus esporas (2 -3  $\mu\text{m}$ ) son inhaladas fácilmente y se depositan en el pulmón, ocasionando una variedad de tipos de aspergilosis pulmonares, como el aspergiloma (Esferas de hifas contenidas en quistes o cavidades, que se ubican en lóbulos pulmonares superiores, pueden alcanzar varios centímetros).<sup>20,22</sup>
- ***Candida spp***: Es un hongo cosmopolita. Se considera una de las infecciones oportunistas más frecuente en seres humanos. Las levaduras son causantes del 7,45% de las micosis, el 25% de las micosis superficiales y entre el 75 y 88% de las infecciones fúngicas nosocomiales. Afecta a individuos de cualquier edad, sexo o grupo étnico. Las levaduras del género *Candida* existen en la naturaleza, en el suelo y agua dulce, vegetales, frutas, exudado de árboles, granos y en general toda sustancia rica en hidratos de carbono simples. Además, son habitantes habituales del aparato digestivo, respiratorio y regiones mucocutáneas del hombre y animales domésticos.<sup>23</sup>

En el pulmón la enfermedad se manifiesta frecuentemente como un nódulo o masa pulmonar solitaria, aunque también pueden ser múltiples. En algunos pacientes, la lesión primaria pulmonar tiende a la progresión, dando un cuadro inespecífico de naturaleza crónica y variada severidad. Un foco pulmonar activo representa peligro constante de diseminación, no sólo al sistema nervioso central sino también a riñón, piel, huesos, próstata, glándulas adrenales y otros órganos.

### **2.2.3 Diagnóstico de Micosis Pulmonar**

El diagnóstico de las micosis comienza con la sospecha clínica, adecuada obtención de la muestra y correcta manipulación para mantener la viabilidad del agente etiológico y evitar posibles contaminaciones; estos son aspectos fundamentales que siempre deben tenerse en cuenta para la obtención de un correcto diagnóstico micológico. Es importante rotular adecuadamente la solicitud de examen, de forma que refleje los factores predisponentes del paciente; destacando, la existencia de tratamientos que pudieran interferir en el aislamiento de ciertos microorganismos.

#### **a) Procesamiento de la muestra**

Para realizar un buen diagnóstico micológico es importante que la muestra se recoja y se transporte en condiciones idóneas de bioseguridad que son mencionadas a continuación:

- Se recomienda recolectar la muestra en un recipiente de boca ancha, con tapa rosca y estéril un volumen no menor a 1 mL hasta 3 mL para estudio micológico.
- La muestra debe transportarse en un plazo no mayor a dos horas desde su obtención.
- Para el transporte de la muestra, el personal debe hacer uso de sus materiales de bioseguridad (guantes, respirador N95 y mandil descartable).
- Una vez recibido el espécimen en el laboratorio se procesa de inmediato o conserva en refrigeración a 4 °C hasta por cuatro a seis horas.

## **b) Preparación de las muestras**

La utilidad diagnóstica del esputo se medirá de acuerdo con su calidad valorada en función del número de leucocitos polimorfonucleares (más de 25) y células epiteliales (menos de diez células por campo) presentes en la muestra.

Todas las muestras deben observarse macroscópicamente y seleccionar la parte más representativa.

## **c) Observación macroscópica**

Todos los procesamientos deben iniciar con un examen macroscópico de la muestra, para evaluar la hemoptisis, después de localizar las zonas donde se observe sangre se separa para el estudio microscópico, el examen directo (KOH) y el cultivo.

## **d) Examen microscópico**

La observación microscópica se realiza mediante un montaje en fresco con hidróxido de potasio (KOH), observándose levaduras y/o elementos miceliares.

## **e) Medios de cultivo**

El diagnóstico definitivo de la mayoría de las micosis requiere el aislamiento e identificación del hongo a partir del cultivo, lo que supone, con frecuencia, varios días o semanas. El cultivo sigue siendo el "gold standard" o patrón de oro del diagnóstico microbiológico, ya que permite la identificación del agente etiológico y la realización del estudio de sensibilidad. En los medios de cultivo para el aislamiento de hongos, los antimicrobianos se utilizan con frecuencia, tanto para inhibir el crecimiento bacteriano como el de otros hongos ambientales. Siendo el

agar glucosado de Sabouraud el que se utiliza frecuentemente para el aislamiento a partir de la muestra y para la descripción de las características de la mayoría de los hongos.

**Agar Sabouraud con cloranfenicol:** Es un medio selectivo utilizado para el aislamiento de hongos patógenos a partir de muestras muy contaminadas con hongos saprofitos y bacterias. Se utiliza fundamentalmente en el aislamiento de dermatofitos, levaduras, mohos hialinos y hongos dimórficos.

### **Incubación**

La temperatura óptima de crecimiento de la mayoría de los hongos patógenos es 30 °C o temperatura ambiente por un periodo de tres semanas.

### **Identificación**

#### **Hongos filamentosos**

Cuando el crecimiento detectado corresponda a un hongo filamentoso, la identificación se realizara de la siguiente manera:

- 1) Examen macroscópico de la colonia: forma, color, textura, velocidad de crecimiento y reverso.
- 2) Si el hongo tiene abundantes formas de reproducción se emplea la técnica de la cinta adhesiva o papel de celofán, que consiste en tocar la superficie de la colonia con la cinta y colocarla sobre una lámina portaobjeto, en el que se ha depositado una gota de azul de lactofenol y observar al microscopio. Mejora ostensiblemente la visión microscópica si se añade, además, una gota de azul de lactofenol sobre el celofán y se coloca una lámina cubreobjeto. Cuando no se

puede conseguir una buena observación de las formas de reproducción por las técnicas anteriores, es necesario hacer un microcultivo.

## **Levaduras**

Si se observa crecimiento que sugiera levaduras, se realiza una extensión en fresco, si se observan levaduras, se procede a la identificación mediante cultivo en un medio cromogénico y pruebas de identificación bioquímica basada en reacciones enzimáticas.

## **Otros medios diagnósticos complementarios**

**Prueba del tubo germinal o filamentación precoz:** el tubo germinal es una extensión filamentososa de la levadura, sin estrechamiento en su origen, cuyo ancho suele ser la mitad de la célula progenitora y su longitud tres o cuatro veces mayor que la célula madre. Sólo *C. albicans* y en menor medida *C. dubliniensis*, son capaces de producir verdaderos tubos germinales.

## **Identificación mediante criterios bioquímicos y enzimáticos:**

### **1. Asimilación de carbohidratos**

Los patrones de asimilación de azúcares (glucosa, lactosa, sacarosa, maltosa, galactosa y rafinosa) permiten identificar las diferentes especies de *Candida spp*, *Rhodotorula rubra*, *Trichosporon spp.* y *Geotrichum spp.*

Se interpreta cuando el viraje del medio cambia a color amarillo.

## 2. Producción de ureasa

Se basa en la capacidad de producir la enzima ureasa, la cual desdobla la urea en dióxido de carbono y amonio, incrementando el pH del medio y produciendo un cambio de color rojo – púrpura en el indicador rojo de fenol.

La prueba se considera positiva cuando se alcaliniza el medio lo que produce un cambio de color original (amarillo) a rosa o rojo.

Una reacción positiva a la prueba ureasa es sugestiva de pertenecer al género *Cryptococcus*, la cepa de *C. neoformans* son productoras de ureasa.

## 3. Identificación bioquímica enzimática

Entre estas metodologías tenemos a los medios de cultivo que emplean sustratos cromogénicos que permiten el aislamiento e identificación de algunas especies del género *Candida*.

Se describen sistemas enzimáticos que usan un sustrato cromogénico para detectar las enzimas MUGAL y PRO por lo que no requieren el uso de lámpara ultravioleta, entre ellos tenemos a *Candida albicans*.

El medio CHROM agar *Candida*, es importante para identificar las especies del género *Candida* en función de los colores como: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* y *C. glabrata*.

### 2.3. Terminología básica

**Procedencia:** Es el origen de algo o el principio de donde nace o deriva. Pabellón o Servicio de hospitalización del Hospital Nacional Hipólito Unanue donde se hospitaliza el paciente.

**Edad:** (edad biológica) es el tiempo transcurrido desde el nacimiento de un ser vivo. En caso de un ser humano, generalmente se expresa como un número entero de años o como un número entero de años y meses.

**Sexo:** Es el conjunto de características físicas, biológicas, anatómicas y fisiológicas de los seres humanos, que los definen como hombres y mujeres.

**Identificación de Agentes fúngicos:** Medios de apoyo por el cual se va aislar e identificar los agentes fúngicos procedentes de los pacientes.

**Sintomático respiratorio:** Es toda persona que presenta tos y flema por 15 o más días.

**CENEX:** Centro de Excelencia, para el Control de la transmisión de la tuberculosis ubicado en el hospital nacional Hipólito Unanue.

**NTSCTB:** Norma Técnica de Salud para el Control de la Tuberculosis

**Sp:** Se emplea cuando de una especie sólo conocemos el género.

**Spp:** Cuando queremos referirnos a varias especies de un género.



## **2.4. Hipótesis**

En esta investigación no se plantea una hipótesis al ser un trabajo descriptivo.

## **2.5. Variables e indicadores**

### **Primarias**

- Paciente sintomático respiratorio
- Agentes fúngicos.
- Muestra hemoptoica.

### **Secundarias**

- Edad.
- Sexo.
- Procedencia.

## 2.6. Definición operacional de términos

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensión	Indicadores
Agentes Fúngicos	Determinación de las características fenotípicas y/o genotípicas y la comparación de estas características con los diferentes taxones, asignándole uno.	Identificación a nivel de género y especie, usando la macroscopía y microscopía de las colonias, pruebas funcionales según el género de los aislados a partir de los cultivos de las muestras hemoptoicas.	Laboratorio	Microorganismo identificado según género y especie
Muestra hemoptoica	Muestra con un aspecto macroscópico de hemoptoica por la presencia de sangre.	Muestras de esputo de pacientes sintomático respiratorio, con aspecto macroscópico hemoptoica por la presencia de sangre.	Clínica	Cantidad de muestra con sangre presente.
Paciente sintomático respiratorio	Pacientes atendidos por el servicio de consultorio de neumología, con sospecha clínica de tuberculosis.	Paciente que presenta tos y flema por más de 15 días.	Clínica	Si  No
Edad	Tiempo transcurrido en años desde el nacimiento hasta la actualidad.	Como aparece en los registros médicos, estimándose en número de años cumplidos.	biológica	Datos de la edad como aparece en los registros médicos
Sexo	Diferencia física y caracteres sexuales constitutiva del hombre y mujer	Como aparece en los registros médicos, estimándose en Femenino y Masculino	biológica	Femenino  Masculino
Procedencia	Lugar de donde procede el paciente con la indicación de baciloscopia.	Historial de los pacientes en los registros del hospital	demográfica	Hospitalizado  Comunitario

### III. DISEÑO METODOLÓGICO

#### 3.1 Tipo de Investigación

Se realizó un estudio de tipo no experimental, con diseño observacional, prospectivo y transversal.

#### 3.2. Población y Muestra

**Universo.-** Estuvo constituido por todas las muestras de pacientes que ingresaron al área del Centro de Excelencia para el Control de la transmisión de la tuberculosis (CENEX) del servicio de Microbiología, durante el periodo de estudio.

**Población.-** Estuvo conformada por todas las muestras de esputo hemoptoicas que cumplieron con los criterios de elegibilidad que ingresaron al servicio del Centro de Excelencia para el Control de la transmisión de la tuberculosis (CENEX) del servicio de Microbiología del Hospital Nacional Hipólito Unanue.

**Muestra.-** En el año 2015 se obtuvieron 23000 muestras para estudio de baciloscopia, de los cuales 743 muestras de esputo fueron hemoptoicas (3.2 %). Con la prevalencia de referencia 3.2%, un margen de error de 5% y un nivel de confianza de 99%, utilizando la siguiente formula se calculó una muestra mínima de 82 unidades muestrales para el estudio.

$$n = \frac{N\sigma^2 Z_{\alpha}^2}{e^2(N-1) + \sigma^2 Z_{\alpha}^2}$$

N = tamaño de la población.

$\sigma$  = Desviación estándar de la población, en población desconocida suele utilizarse un valor constante de 0,5.

$Z_{\alpha}$ : Valor obtenido mediante niveles de confianza. Es un valor constante que, si no se tiene su valor, se lo toma en relación al

95% de confianza equivale a 1,96 (como más usual) o en relación al 99% de confianza equivale 2,58, valor que queda a criterio.

e = Límite aceptable de error muestral que, generalmente cuando no se tiene su valor, suele utilizarse un valor que varía entre el 1% (0,01) y 9% (0,09), valor que queda a criterio.

Se tomó como referencia las muestras de esputo hemoptoicas recibidas en el área del Centro de Excelencia para el Control de la transmisión de la tuberculosis (CENEX) de pacientes de consultorio externo de Neumología y hospitalización que fueron solicitadas desde setiembre a noviembre del 2016.

Durante el periodo de estudio se registraron 2382 muestras de esputo que ingresaron para estudio de baciloscopia, de las cuales 82 muestras fueron hemoptoicas y cumplieron con los criterios de inclusión, siendo consideradas para nuestro estudio.

#### **Criterios de inclusión:**

- Muestra con solicitud que presento datos demográficos completos del paciente.
- Muestras de esputo con aspecto macroscópico hemoptoico recolectado con previas indicaciones del personal y que cumplan con los criterios de validación.
- Muestra de esputo que presente más de 25 leucocitos polimorfonucleares y menos de diez células epiteliales por campo.

#### **Criterios de exclusión:**

- Solicitud con datos demográficos incompleta.
- Muestras de esputo con evidente grado de contaminación (restos alimenticios).

### 3.3. Técnicas e Instrumentos de recolección de datos

La técnica se realizó mediante la observación y el instrumento fue una ficha de recolección de datos (Anexo 1). En las 82 muestras de pacientes de ambos sexos con previa indicación de recolección de muestra, que se registraron en el laboratorio del Cenex se seleccionaron como muestras de esputo hemoptoicas, en el periodo comprendido entre setiembre y noviembre del 2016.

Se obtuvo información necesaria (edad, sexo y procedencia) de cada paciente, utilizándose una ficha de registro para cada muestra. Los cultivos y aislamientos de agentes fúngicos se realizaron siguiendo las normativas del manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico micológico del Instituto Nacional de Salud<sup>39</sup> y del servicio de microbiología del Hospital Nacional Hipólito Unanue.

Para el procesamiento de las muestras se realizó:

1. Validación de la muestra. Se midió la calidad de las muestras de esputo de pacientes sintomático respiratorio, con aspecto macroscópico hemoptoica por la presencia de sangre, y fue valorada por microscopia en función del número de leucocitos (más de 25 polimorfonucleares) y la escasa presencia de células epiteliales (menos de diez células por campo) en campo microscópico de menor aumento, siguiendo los criterios de Murray-Washington.<sup>40</sup>

2. Examen directo en fresco. En una lámina portaobjeto, se colocó con asa de siembra estéril, una porción de la muestra de esputo hemoptoica, cubriéndose con una lámina cubreobjetos, a temperatura ambiente por tres minutos. Se observó al microscopio con objetivo de 10X y 40X. Reportándose como negativo por la ausencia de elementos fúngicos, o como Positivo, si se observaron

elementos fúngicos (presencia de hifas hialinas, tabicadas, levaduras, pseudohifas, hifas, etc.).

3. Cultivo e identificación de la muestra. Las muestras de esputo se cultivaron con asa de siembra estéril por estría en Agar Saboraud dextrosa (ASD) con Cloranfenicol (cuatro tubos), se incubaron a temperatura de 25 a 30°C por tres semanas, evaluando el crecimiento.

Para la identificación de hongos levaduriformes se consideró la morfología macroscópica en el ASD, que presentaron colonias convexas o planas, de consistencia mantecosa, lisas y sin micelio aéreo. El color de las colonias, de color claro, tonos blanquecinos amarillentos, poco elevadas de bordes definidos. Al examen microscópico directo se observó morfología de levaduras como característica del género *Candida*. Se realizó la prueba del tubo germinativo para diferenciar las especies de *Candida albicans* de las no *albicans*, suspendiendo un inóculo de la cepa pura de *Candida* con 24 horas de desarrollo en 0,5 mL de suero humano o de conejo, incubándose a 37°C por 2 horas y 30 minutos, colocando 2 gotas de la suspensión en una lámina portaobjeto, cubierta en portaobjeto se observó al microscopio con objetivo de 40X; la prueba fue positiva al visualizar una estructura elongada o tubo germinal que se originó a partir de la levadura.

Asimismo se utilizó el medio CHROM agar *Candida*®, para identificar las especies del género *Candida* en función de su actividad bioquímica o enzimática, que se visualiza por presencia de colores en las colonias que desarrollan. Se realizó la siembra de las cepas y como control la cepa *Candida albicans* ATCC 90028, *C. tropicalis* ATCC 750 y *C. krusei* ATCC 6258. Se incubó a 37°C durante

48 horas. *C. albicans*, presento colonias lisas y de color verde esmeralda. No se realizó pruebas para la diferenciación de especie entre *Candida albicans* y *C. dubliniensis*,

Para la identificación de hongos filamentosos se consideró la morfología macroscópica en el ASD, a través del color de las colonias, colores claros desde tonos blanquecinos, verdes, amarillentos a marrón claro o negro. Se realizó examen microscópico directo y microcultivo donde se observó la morfología característica de cada género. Para el género *Aspergillus sp.* cabezas conidiales (uniseriadas, biseriadas, radiadas, columnares, formando columna compacta), ascosporas; para el género *Penicillium sp.* la presencia de conidioforos (ramificados y no ramificados), fiálides, conidias (paredes verrugosas o lisas, esporulación abundante o escasa, elipsoidales, esféricos).

Se registraron los datos obtenidos del cultivo e identificación de agentes fúngicos en las fichas de recolección de datos (Anexo 1).

### **3.4. Procesamiento de datos y análisis estadístico**

El análisis estadístico se realizó mediante el registro de datos en el programa Whonet 5.6. Se calculó los estadísticos descriptivos de la media y desviación estándar obteniéndose tablas de las variables de estudio y se realizaron los gráficos en Microsoft Excel 2010.

### **3.5. Aspectos éticos**

Todos los procedimientos del estudio se realizaron en muestras de esputo para el aislamiento de agentes fúngicos. No se trabajó directamente con pacientes sino con muestras que cumplieron con los criterios de inclusión. Se mantuvo la confidencialidad de los datos demográficos obtenidos del estudio utilizando una codificación para las muestras, de acuerdo con los lineamientos de las buenas prácticas clínicas de ética en investigación biomédica y el código de ética del Tecnólogo Médico (Título X y artículo 50). Se garantizó la confidencialidad de los datos obtenidos. Se contó con la aprobación del Comité institucional de Ética en investigación del Hospital Nacional Hipólito Unanue, autorizando la ejecución de la investigación.

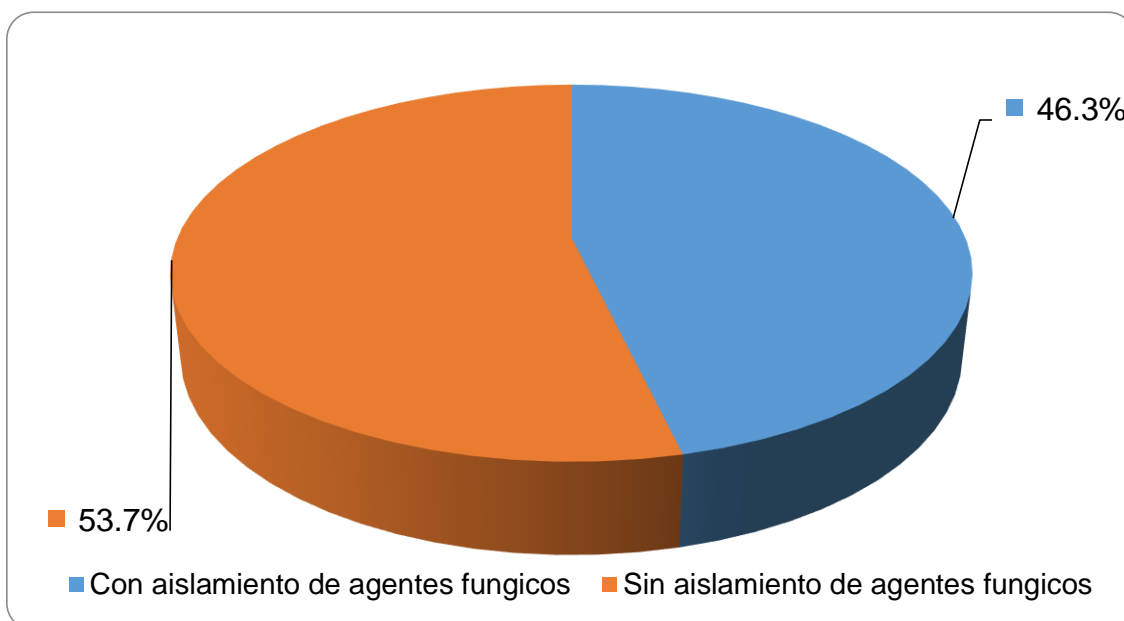


## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Resultados

En el periodo del 01 de setiembre al 30 de noviembre del 2016, ingresaron 2382 muestras de esputo al Centro de Excelencia para el Control de la transmisión de la tuberculosis (CENEX) de las cuales se recolectaron 82 muestras de esputo hemoptoicas para la identificación de agentes fúngicos de pacientes atendidos en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. A partir de los cuales se aislaron agentes fúngicos en 38 muestras que represento el 46.3%, y en 44 cultivos (53.7%) no se observó crecimiento de algún agente fúngico.

**GRÁFICO 1.** Distribución de aislamiento de agentes fúngicos en cultivos de esputo hemoptoicos de pacientes sintomáticos respiratorio. Hospital Nacional Hipólito Unanue. Setiembre – Noviembre 2016.



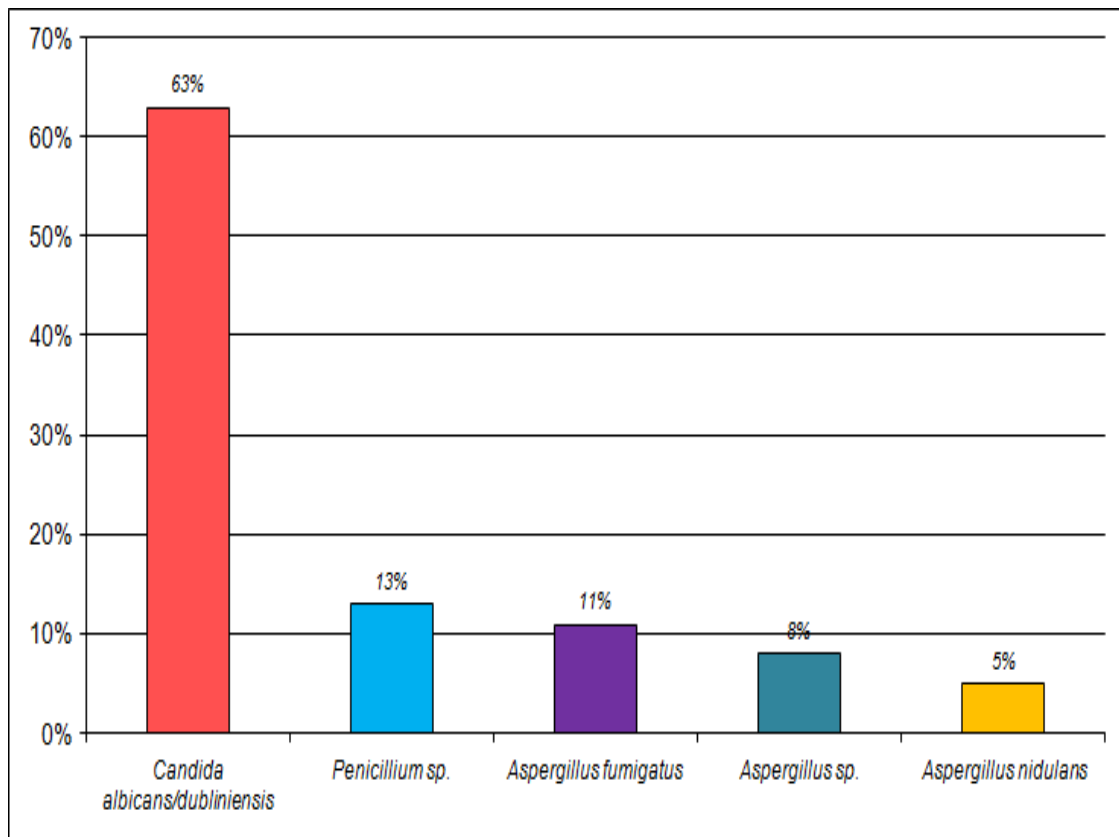
A partir de 82 muestras se aislaron 38 agentes fúngicos que estuvieron distribuidos en: 24 aislamientos de *Candida albicans/dubliniensis* 63%, 5 aislamientos de *Penicillium sp* 13%, 4 aislamientos de *Aspergillus fumigatus* 11%, 3 aislamientos de *Aspergillus sp.* 8% y 2 aislamientos de *Aspergillus nidulans* 5%.

**TABLA 1.** Frecuencia de agentes fúngicos aislados en cultivos de esputo hemoptoicos de pacientes sintomáticos respiratorios. Hospital Nacional Hipólito Unanue. Setiembre – Noviembre 2016.

<b>Agente fúngico</b>	<b>Número Nº</b>	<b>Porcentaje %</b>
<i>Candida albicans/dubliniensis</i>	24	63 %
<i>Penicillium sp.</i>	5	13 %
<i>Aspergillus fumigatus</i>	4	11 %
<i>Aspergillus sp.</i>	3	8 %
<i>Aspergillus nidulans</i>	2	5 %
<b>Total</b>	<b>38</b>	<b>100%</b>

Fuente: Datos de la investigación.

**GRÁFICO 2.** Distribución de agentes fúngicos en cultivos de esputo hemoptoicos de pacientes sintomáticos respiratorio. Hospital Nacional Hipólito Unanue. Setiembre – Noviembre 2016



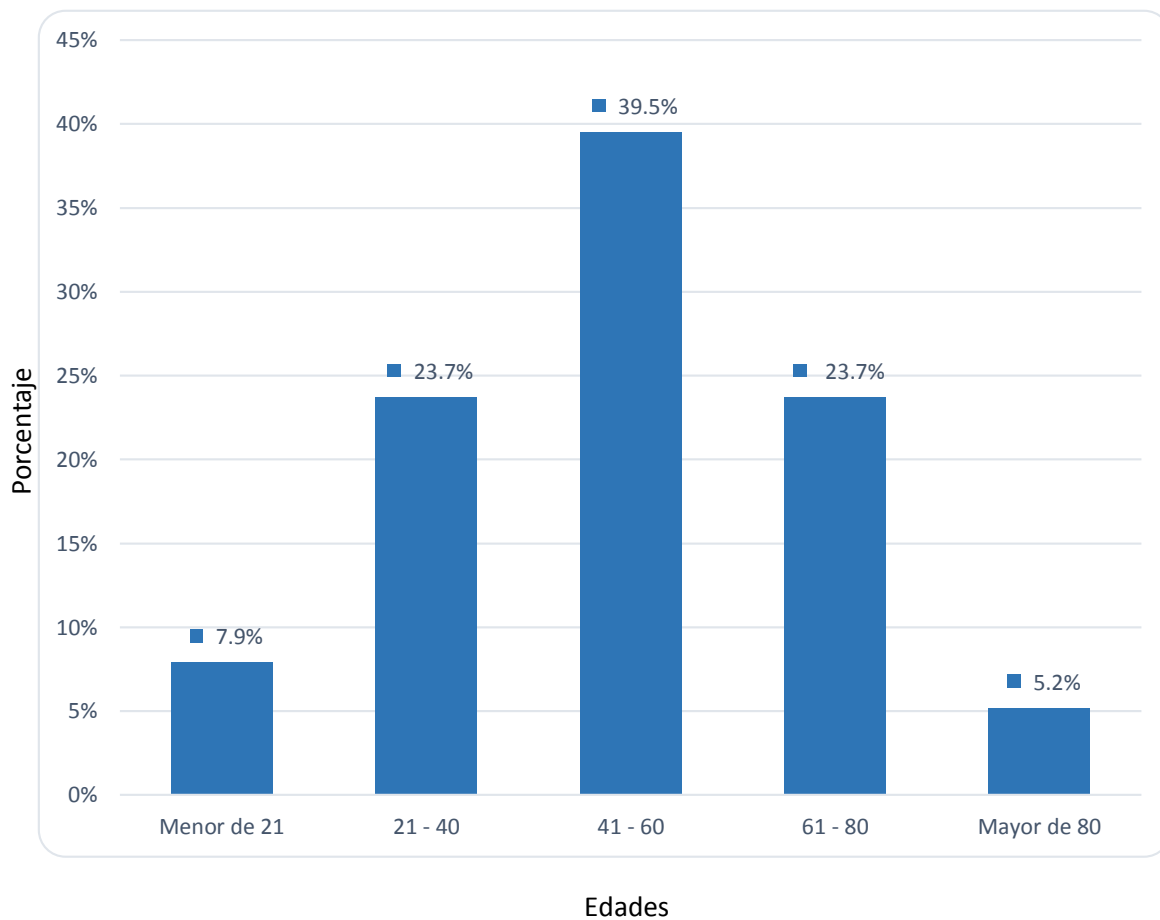
La distribución según grupo de edad se realizó en los siguientes rangos: en menores de 20 años 7,9%, de 21-40 años 23,7%, de 41-60 años 39,5%, de 61-80 años 23,7%, y mayores de 80 años 5,3%.

**TABLA 2.** Distribución según grupo etario en aislamientos de agentes fúngicos en cultivos de esputo hemoptoicos de pacientes sintomáticos respiratorios Hospital Nacional Hipólito Unanue. Setiembre – Noviembre 2016.

Edad	Total		Con aislamiento	
	N°	( % )	N°	( % )
Menor de 20 años	6	7.3%	3	7.9 %
21 - 40	27	32.9%	9	23.7 %
41 - 60	34	41.5%	15	39.5 %
61 - 80	12	14.6%	9	23.7 %
Mayor a 81 años	3	3.7%	2	5.2 %
<b>Total</b>	<b>82</b>	<b>100%</b>	<b>38</b>	<b>100 %</b>

Fuente: Datos de la investigación

**GRAFICO 3.** Distribución según grupos de edad en aislamientos de agentes fúngicos en cultivos de esputo hemoptoicos de pacientes sintomáticos respiratorio. Hospital Nacional Hipólito Unanue. Setiembre – Noviembre 2016.



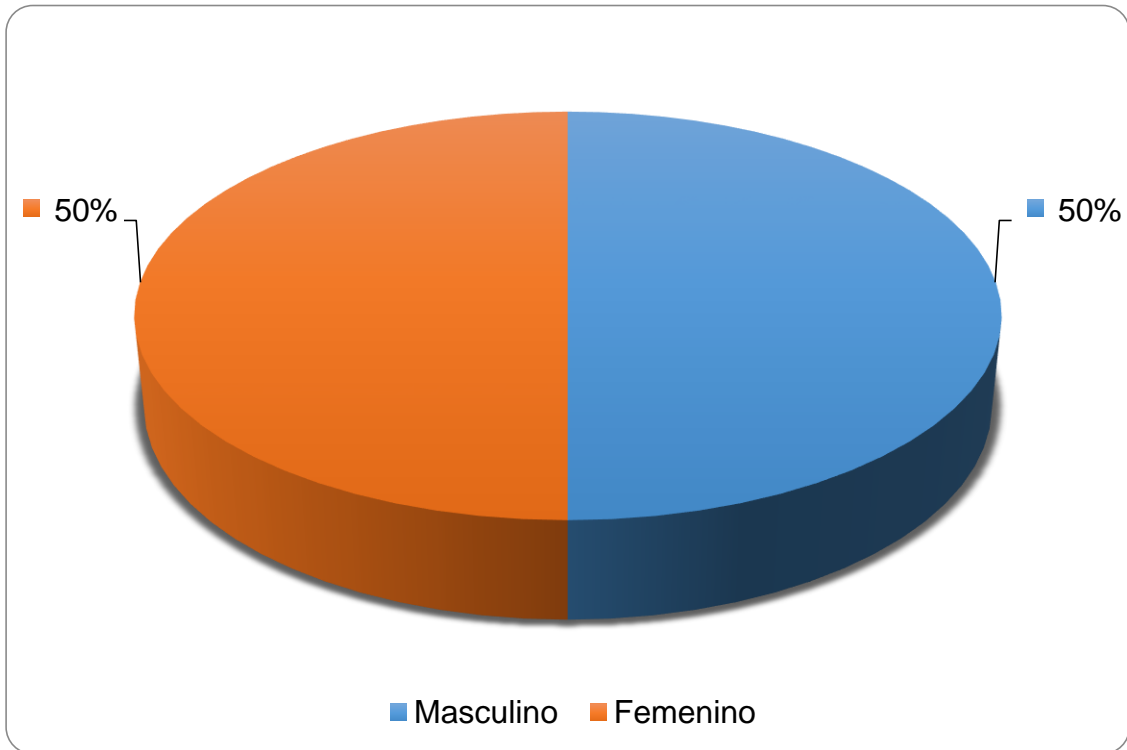
La distribución según género con aislamiento de agentes fúngicos en muestras de esputo hemoptoicas de pacientes sintomáticos respiratorios se presentó de manera equitativa con 19 cultivos para cada uno que representaron el 50%.

**TABLA 3.** Distribución de agentes fúngicos en cultivos de esputo hemoptoicos de pacientes sintomáticos respiratorio según sexo. Hospital Nacional Hipólito Unanue. Setiembre – Noviembre 2016

<b>Sexo</b>	<b>Nº</b>	<b>(%)</b>
Masculino	19	50
Femenino	19	50
<b>Total</b>	<b>38</b>	<b>100%</b>

Fuente: Datos de la investigación

**GRÁFICO 4.** Distribución según género de agentes fúngicos en cultivos de esputo hemoptoicos de pacientes sintomáticos respiratorio Hospital Nacional Hipólito Unanue. Setiembre – Noviembre 2016



Según procedencia se observó que el mayor porcentaje de aislamientos fue para los pacientes comunitarios con un 81.6 % donde el 44.7 % fue para *Candida albicans/dublinskiensis*; el 18.4 % fueron de pacientes hospitalizados.

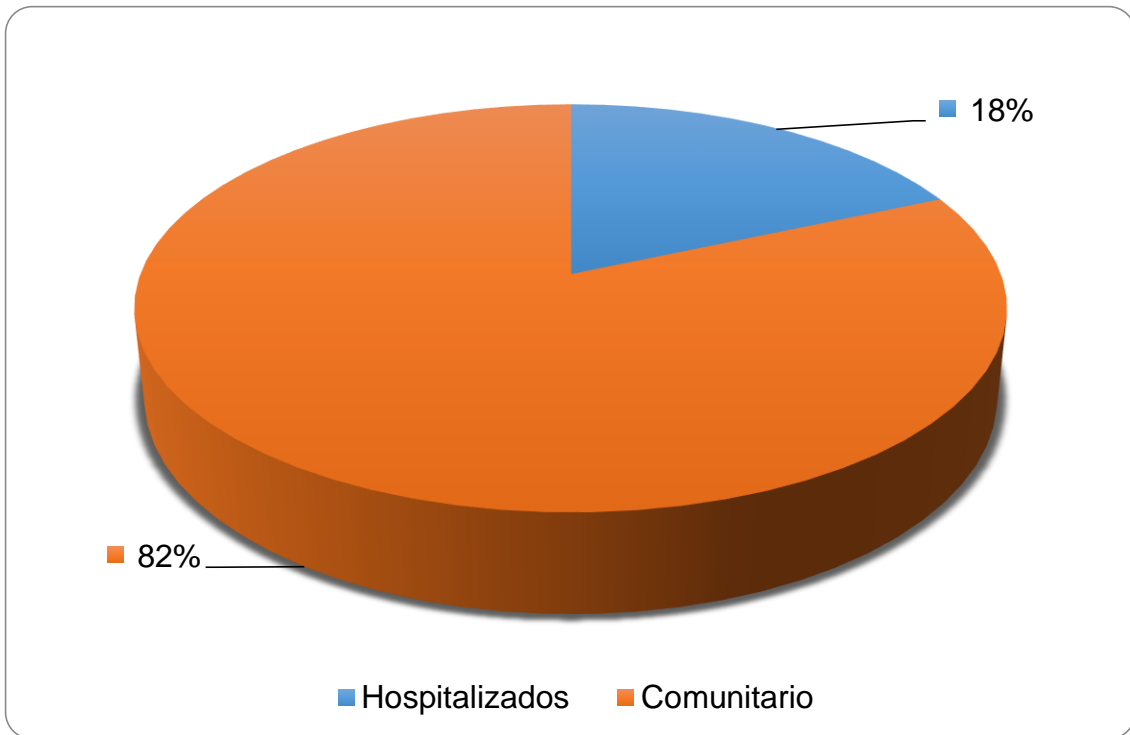
**TABLA 4.** Distribución según procedencia de agentes fúngicos en cultivos de esputo hemoptoicos de pacientes sintomáticos respiratorio. Hospital Nacional Hipólito Unanue. Setiembre – Noviembre 2016

Microorganismo	Comunitario		Hospitalizados	
	N°	%	N°	%
<i>Candida albicans/dublinskiensis</i>	17	44.7%	7	18.4%
<i>Penicillium sp.</i>	5	13.2%		
<i>Aspergillus fumigatus</i>	4	10.5%		
<i>Aspergillus sp.</i>	3	7.9%		
<i>Aspergillus nidulans</i>	2	5.3%		
<b>Total</b>	<b>31</b>	<b>81.6 %</b>	<b>7</b>	<b>18.4 %</b>

Fuente: Datos de la investigación



**GRÁFICO 5.** Distribución según procedencia de agentes fúngicos en cultivos de esputo hemoptoicos de pacientes sintomáticos respiratorio. Hospital Nacional Hipólito Unanue. Setiembre – Noviembre 2016.



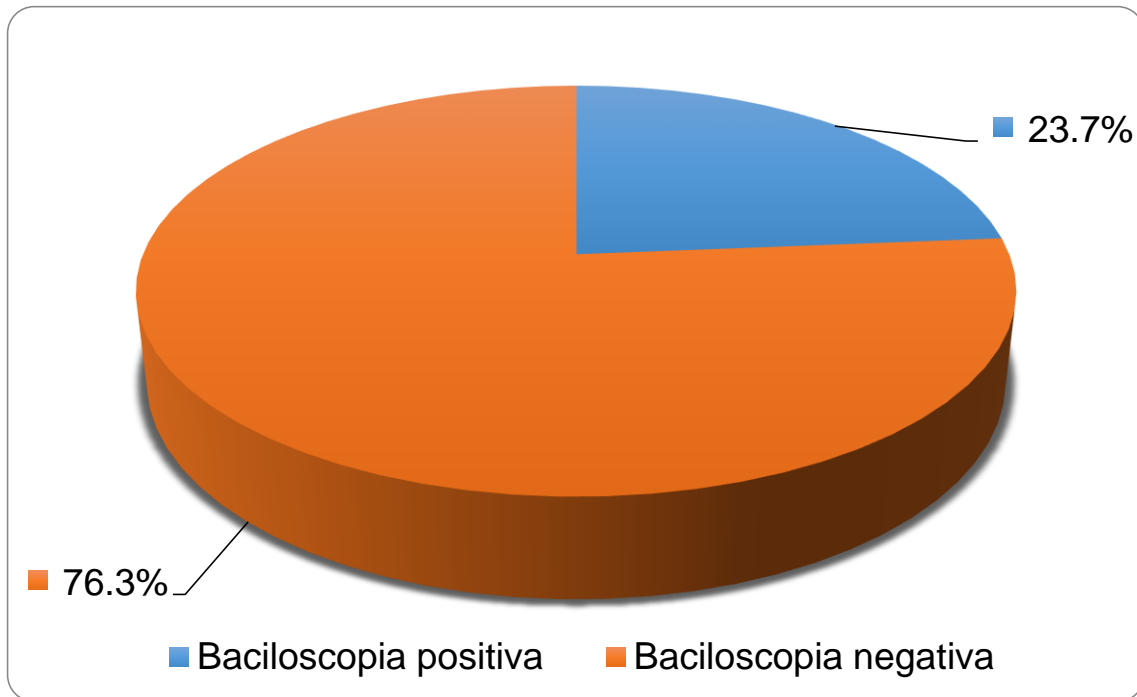
La distribución según el resultado de baciloscopía de los cultivos que tuvieron aislamiento de agentes fúngicos fue: 29 aislamientos tuvieron baciloscopía negativa que representó el 76.3% de los cuales 39.5% fue para *Candida albicans/dublinskiensis*, 13.2 % *Penicillium sp.*, 10.5% *Aspergillus fumigatus*, 7.9% *Aspergillus sp.* y 5.2% *Aspergillus nidulans*. Para baciloscopía positiva 9 aislamientos que represento el 23.7% presentando coinfección con *Candida albicans/dublinskiensis*.

**TABLA 5.** Frecuencia de agentes fúngicos en pacientes con hemoptisis según baciloscopía. Hospital Nacional Hipólito Unanue. Setiembre – Noviembre 2016

Microorganismo	Baciloscopía Positiva		Baciloscopía Negativa	
	N°	%	N°	%
<i>Candida albicans /dublinskiensis</i>	9	23.7%	15	39.5%
<i>Penicillium sp.</i>			5	13.2%
<i>Aspergillus fumigatus</i>			4	10.5%
<i>Aspergillus sp.</i>			3	7.9%
<i>Aspergillus nidulans</i>			2	5.2%
<b>Total</b>	<b>9</b>	<b>23.7%</b>	<b>29</b>	<b>76.3%</b>

Fuente: Datos de la investigación

**GRÁFICO 6.** Distribución de agentes fúngicos aislados en pacientes sintomáticos respiratorios con hemoptisis según baciloscopia. Hospital Nacional Hipólito Unanue. Setiembre – Noviembre 2016.



## 4.2. Discusión

En nuestro estudio la prevalencia de agentes fúngicos en pacientes sintomáticos respiratorios con hemoptisis fue de 46.3%, similar a lo reportado por Bandele<sup>30</sup> que encontró una prevalencia de 42.3% en pacientes sintomáticos respiratorios con sospecha de infección fúngica; además difiere con los resultados obtenidos por Madhusudan<sup>31</sup> que obtuvo una prevalencia de 60% de agentes fúngicos oportunistas en pacientes con tuberculosis pulmonar, Krishnamurthy<sup>16</sup> que encontró un 66% de micosis oportunista en pacientes con enfermedades pulmonares, el de Kalyani<sup>32</sup> que tuvo un 62% de aislamiento de hongos en muestras de esputo de pacientes con sospecha de tuberculosis multidrogorresistente, Gupta<sup>33</sup> obtuvo 54.4% de aislamiento de hongos en pacientes con trastornos broncopulmonares. Encontrándose que nuestros resultados fueron superiores a los reportados por Babita<sup>34</sup>, que menciona una prevalencia de 24% de flora micótica en pacientes con tuberculosis pulmonar, Khanna<sup>35</sup> encontró una prevalencia de 36.4% en pacientes con secuelas de tratamiento de tuberculosis prolongada.

Otras investigaciones reportaron una prevalencia menor a nuestro estudio como la de Misbah<sup>36</sup> que menciona una prevalencia de 28 % de infecciones fúngicas pulmonares en pacientes con enfermedad respiratoria crónica, Campano<sup>37</sup> encontró una prevalencia de 24% en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica, Ocaña<sup>38</sup> obtuvo 32% en pacientes con infecciones respiratorias y enfermedades inmunodeficientes; esto debido a que en estos estudios se recolectaron muestras como lavado broncoalveolar, hisopado faríngeo y secreción faríngea las cuales tienen menor flora asociada.

En nuestro estudio la distribución de agentes fúngicos fue variable, encontrando como agente levaduriforme a *Candida albicans/dubliniensis* y mohos filamentosos. Con respecto a los hongos levaduriformes, encontramos una mayor frecuencia de *Candida albicans/dubliniensis* con 63%, resultados similares a los reportados por otros autores como Khanna<sup>35</sup> que reporta a *Candida albicans* con una frecuencia de 62%, en pacientes con secuelas al tratamiento de tuberculosis. Ocaña<sup>38</sup> reporta a *Candida albicans* con 69% en pacientes con infecciones respiratorias y enfermedades inmunodeficientes; valores relacionados a la deficiencia funcional del sistema inmunitario debido a que reciben una gran variedad de tratamientos terapéuticos; descartándose la posibilidad de estar asociada a la flora del tracto respiratorio.

Los resultados de nuestro estudio son inferiores a los encontrados por Madhusudan<sup>31</sup> que reportó a *Candida albicans* con un 81% en pacientes con tuberculosis pulmonar; además lo reportado en nuestro estudio supera a otros autores como Misbah<sup>36</sup> que menciona *Candida albicans* en un 57% de infecciones fúngicas pulmonares en pacientes con enfermedad respiratoria crónica, Babita<sup>34</sup> reportó *Candida albicans* en un 44%, de flora micótica en pacientes con tuberculosis pulmonar, Gupta<sup>33</sup> reportó *Candida albicans* con 30%, de aislamiento de hongos en pacientes con trastornos broncopulmonares y, Kalyani<sup>32</sup> reporta menor prevalencia de *Candida albicans* con un 22%, en muestras de esputo de pacientes con sospecha de tuberculosis multidrogorresistente.

En cuanto a otras investigaciones que encontraron agentes levaduriformes como *Candida sp*; tenemos a Krishnamurthy<sup>16</sup> que reportó *Candida sp*. 57%, Bandele<sup>30</sup>

*Candida sp.* 60%, Campano<sup>37</sup> reporto *Candida sp* en un 54%; en nuestro estudio el único agente levaduriforme fue *Candida albicans* con 63% valor superior a los reportados por estos autores.

Con respecto a los agentes fúngicos filamentosos en nuestro estudio se obtuvo una frecuencia de 24% en *Aspergillus sp.* y 13% en *Penicillium sp*, siendo estos resultados similares a los reportados por Khanna<sup>35</sup> que aisló 24% de *Aspergillus sp* en pacientes con secuelas de tratamiento de tuberculosis prolongada; además nuestros resultados tuvieron menor frecuencia con respecto a los obtenidos por Babita<sup>34</sup> que menciona un 55 % de aislamientos de *Aspergillus sp* en pacientes con tuberculosis pulmonar, Krishnamurthy<sup>16</sup> con 43% de *Aspergillus sp*, en su estudio de micosis oportunista en pacientes con enfermedades pulmonares, Bandele<sup>30</sup> con 40% de *Aspergillus sp* en pacientes sintomáticos respiratorios con sospecha de infección fúngica, también Kalyani<sup>32</sup> reporta 36% en *Aspergillus sp* y 6% en *Penicillium sp* en muestras de esputo de pacientes con sospecha de tuberculosis multidrogorresistente. Además en nuestro estudio la frecuencia fue superior a Misbah que reporta 14% en *Aspergillus sp*, Astekar con 8% de *Aspergillus sp* y Gupta con 8% de *Aspergillus sp*.

La edad de los pacientes con aislamiento de agentes fúngicos en muestras de esputo hemoptoicas presenta una distribución variable con 7,9% en menores de 20 años, de 21-40 años 23,7%, de 41-60 años 39,5%, de 61-80 años 23,7%, y mayores de 80 años 5,3%, resultado comparable con los hallados por Krishnamurthy<sup>16</sup> en menores de 20 años obtuvo 7,1 % y de 41 – 60 años 35.3%;

pero entre las edades de 21 – 40 años se obtuvo un 50.5% resultado superior a los obtenidos en nuestro estudio, y en mayores de 60 años el autor obtuvo 7.1% resultados menores a los obtenidos en nuestro estudio, en otros estudios se encuentran diferencias significativas como Gomez<sup>10</sup> que encontró un 70.8% entre las edades de 15 a 44 años, seguido por el grupo de edad de 45 a 64 años con un 27.3% y en mayores de 65 años 1.9% . Madhusudan<sup>31</sup> obtuvo una frecuencia entre 20 – 40 años de 15.2 %, de 40 – 60 años 30.3% y de 60 – 80 años una frecuencia de 54.5%.

En nuestro estudio la distribución según el género fue del 50% para el sexo femenino y 50% para el sexo masculino, que difiere con los resultados obtenidos por otros autores donde hubo predominio del sexo masculino como lo reportado por Krishnamurthy<sup>16</sup> que encontró 76% de micosis oportunista en pacientes con enfermedades pulmonares siendo del sexo masculino, Misbah<sup>36</sup> que obtuvo 64%, en infecciones fúngicas pulmonares en pacientes con enfermedad respiratoria crónica, siendo del sexo masculino, Casquero<sup>20</sup> con 80% en frecuencia de aspergiloma en pacientes del sexo masculino con antecedentes de tuberculosis, hemoptisis, radiografía de tórax anormal y baciloscopía negativa en el Hospital Nacional Hipólito Unanue.

Con respecto al sexo femenino hubo un predominio en el estudio de Gomez<sup>14</sup> que obtuvo 57.4% en pacientes del sexo femenino con micosis profundas y oportunistas que presentaban enfermedades de vías respiratorias. Casquero<sup>20</sup> reporto una frecuencia del 57% en pacientes del sexo femenino, de su estudio, frecuencia de aspergiloma en pacientes con antecedentes de tuberculosis,

hemoptisis, radiografía de tórax anormal y baciloscopía negativa en el Hospital Belén de Trujillo.

En nuestro estudio la distribución de pacientes según su procedencia, nos muestra un predominio de aquellos pacientes que ingresaron por emergencia y consulta externa, los cuales agrupamos como pacientes comunitarios presentando una frecuencia de 81.6% con respecto a los pacientes hospitalizados con un 18.4%, esto puede explicarse por la condición clínica que pueden tener debido a que los pacientes que presentan síntomas iniciales de una enfermedad pulmonar aguda requieren de varios estudios ( diagnóstico por imágenes y diagnóstico por el área de laboratorio clínico) para dar un diagnóstico y posterior tratamiento.

Bandele<sup>30</sup>, Madhusudan<sup>31</sup>, Kalyani<sup>32</sup>, Gupta<sup>33</sup>, Babita<sup>34</sup>, Khanna<sup>35</sup>, Misbah<sup>36</sup>, Campano<sup>37</sup>, Ocaña<sup>38</sup> trabajaron en sus estudios con muestras de pacientes de consulta externa, a diferencia de Krishnamurthy<sup>16</sup> que trabajó solo con muestras provenientes de pacientes hospitalizados.

*Candida albicans/dublinskiensis* fue el agente fúngico aislado en pacientes comunitarios con (44.7%) y hospitalizados (18.4 %), que se relaciona con factores como las posibles secuelas de enfermedades pulmonares, enfermedades inmunodeficientes, tratamientos prolongados, entre otras causas que favorecen el crecimiento y reproducción de la flora micótica.

Según el resultado de la investigación de la baciloscopía, en las muestras de de nuestro estudio, se registraron baciloscopía positiva en un 14.6% y la



baciloscopía negativa represento un 85.4%, resultados que difieren del estudio realizado por Contreras<sup>18</sup>, donde las principales causas de hemoptisis de pacientes hospitalizados hallados fueron tuberculosis activa 41,4 %. A partir de esto en nuestro estudio se observó un 23.7% de coinfección de tuberculosis activa y presencia de *Candida albicans/dubliniensis*, resultados superiores a los obtenidos por Sehar<sup>40</sup> que obtuvo un 6.8% de *Candida albicans* en prevalencia de coinfección de *Candida* oportunista en pacientes con tuberculosis pulmonar.

## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

- La prevalencia de agentes fúngicos en muestra hemoptoicas de pacientes sintomáticos respiratorios en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, durante el periodo Setiembre - Noviembre 2016 fue de 46.3%.
- El agente fúngico con mayor prevalencia fue *Candida albicans/dublinskiensis* 63%, seguido de *Aspergillus sp.* 24% y *Penicillium sp.* 13%.
- En la distribución de agentes fúngicos según sexo no existen diferencias significativas con un 50% de aislamiento para ambos sexos.
- El promedio de edad de los pacientes fue de  $48 \pm 19,5$  años y estuvo comprendido entre 17 - 89 años.
- Se obtuvo la mayor frecuencia de aislamientos de agentes fúngicos en pacientes comunitarios con un 81.6%.
- La baciloscopía negativa de pacientes sintomáticos respiratorios con hemoptisis que tuvieron aislamiento de agentes fúngicos fue de 76.3%.

## 5.2. Recomendaciones

- El presente estudio puede ser tomado como base para futuros estudios.
- Se sugiere realizar más estudios relacionados con este tema, por la prevalencia de agentes fúngicos encontrada que están relacionados con la presencia de hemoptisis en pacientes sintomáticos respiratorios.
- Plantear a futuro un estudio más prolongado en instituciones de nivel de complejidad similar con el fin de evaluar el impacto de dicha estrategia a una escala mayor.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud, Global tuberculosis report 2015 [Internet]. 2016 [citado abril 2016]. Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059_eng.pdf). 2015
2. Análisis de la Situación Epidemiológica de la Tuberculosis en el Perú 2015 Ministerio de Salud de Salud, Dirección General de Epidemiología. [Internet]. 2016 [citado abril 2016] Disponible en: <http://www.dge.gob.pe/portal/docs/tools/tbc/asistbc.pdf>
3. MINSA/DGSP. Norma técnica de salud para la atención integral de las personas afectadas por tuberculosis 2014. 2016; 1:2-6, 72-74.
4. Middleton JR, Sen P, Lange M, Salaki J, Kapila R, Louria DB. Death-producing hemoptysis in tuberculosis. *Chest* 1977; 72: 601-604. Disponible en: <http://www.antimicrobe.org/e52.asp#r125>
5. Piñeiro G. Hemoptisis. *Rev Med Uruguay*. 2002 (citada abril 2016; 3: 156-170).
6. Douglas W.M, Hemoptysis season. *Chest* 2000 (citada octubre 2015; 288-290).
7. Ros Lucas J.A, Malia A.D, Fernández S.B, Sánchez C.M, Lorenzo C.M, Sánchez G.M. Hemoptisis: revisión de 70 casos. *Rev Clin Esp (Murc)*. 2006 (citada diciembre 2015;18: 87-93).
8. Cuenca C.C, Gómez A.M, López GC.C y Villalba G.M. Protocolo de manejo de la hemoptisis en Urgencias. Madrid. *Intern Emerg Med*. 2007 (citada febrero 2016; 9(90):5820-5823)
9. Villar A.F, Jareño E.J, Álvarez-Sala W.R. Patología Respiratoria. Manual de procedimientos de diagnóstico y control. 2007 (citada julio 2016: 2(5): 22-26; 150-172).
10. Chen KY, KO SC, Hsueh PR, Luh KT, Yang PC. Pulmonary fungal infection. Emphasis on microbiological spectra, patient outcome and prognostic factors. *Chest* 2001 (citada noviembre 2015; 120:177-84).

11. Pemán J, Martín-Mazuelos E, Rubio M.C. Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica. *Rev Iberoam Micol.* 2007 (citada abril 2016; 4:607-650).
12. Gassiot N.C, Pino A.PP, Rodríguez V.JC, Ramos G.M, Páez P.I, Gundián G.J. A propósito de las micosis pulmonares. *Acta Med Acad.* 2000 (citada abril 2016; 9(1-2):59-66).
13. Contreras C, Castro R, Pascacio M, Jave O, Llanos F. Causas de hemoptisis en pacientes hospitalizados. *Rev Soc Perú Med Interna.* 2013 (citada enero 2016; Vol. 26 (3)).
14. Górnex G.W, Obregón A.P, Lévano C.J, Antholveg S.N. Determinación de micosis profundas y oportunistas en usuarios con enfermedades de vías respiratorias en el Hospital I Tingo María. *Rev Peru Med.* 2000 (citada abril 2016; Vol. 45: 53-61).
15. Mishra P, Prakash Sharma V, Patial R, Mohan N, Shekhar V. Bacterial and fungal causes of hemoptysis in patients of a tertiary care center in western uttar pradesh. *Natl J Integr Res Med.* 2013 (citada abril 2016; Vol. 4(6)).
16. Krishnamurthy S, Rashid K, Fatemi K, Sabarinathan T. A study of opportunistic mycosis in pulmonary diseases in a tertiary care hospital. *Natl J Integr Res Med.* 2013 (citada abril 2016; Vol. 4(6): Nov- Dec).
17. Cortés S, Cossío SJ, Miñambres A, Rodríguez P, Puyo G. Actitud diagnóstica y terapéutica ante el paciente que acude con hemoptisis. *Perú: Medicam Hist Soc.* 2013 (citada febrero 2016; Vol. 13(4): 288-264).
18. Rueda R.C, Perez P.M, Bujalance Z.J. Hemoptisis. (publicación en línea) 2006 (citada marzo 2016). Se consigue en:  
URL:<http://www.medynet.com/usuarios/jraguilar/Manual%20de%20urgencias%20y%20Emergencias/hemopti.pdf>
19. Gomez W, Guevara M, Cortegana C, Obregon P, Motta J, Antolveg N. Seroprevalencia de micosis pulmonares en pacientes con sintomatología de enfermedad respiratoria crónica baja. Alto Huallaga Perú. *An Programa Acad Med (Lima)* 2004 (citada enero 2016;134-141).
20. Casquero C.J, Guevara R.M, Urcia A.F, Navarro M.A, Linares F.N, Acurio U.V, et al. Frecuencia de aspergiloma en pacientes con antecedentes de tuberculosis, hemoptisis, radiografía de tórax anormal y baciloscopia negativa. *Rev Perú Med Exp Salud Pública.* 2010 (citada marzo 2016; 23(2)).

21. García P., Manejo del paciente con hemoptisis. Lima. *Rev Med Perú* (publicación en línea) 2010 (citada marzo 2016; 243-255). Disponible en: <http://www.neumosur.net/files/EB04-19%20Hemoptisis.pdf>
22. Valle J, Gonzales-Barcala F, Alvarez-Doraño J, Valdez C. La aspergilosis pulmonar invasiva en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. *Rev Med Chile* (publicación en línea) 2010 (citado marzo 2016; 138: 612-620). Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rmc/v138n5/art13.pdf>
23. Castañón L. Acerca de micosis por *Candida*. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM (sitio en Internet). Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/micologia/candidosis.html>
24. Mendez T. Acerca de micosis por *Aspergillus*. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM (sitio en Internet). Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/micologia/aspergilosis.htm>
25. Gassiot C, Pino P, Rodriguez J, Ramos M, Páez P, Guandian J. Aspergilosis pulmonar: un nuevo enfoque en la reemergencia. (publicación en línea) 2004 (citada julio 2016; 9(1-2):67-72). Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/act/vol9\\_1\\_00/act10100.pdf](http://bvs.sld.cu/revistas/act/vol9_1_00/act10100.pdf)
26. Guevara R.M, Urcia A.F, Casquero C.J. Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio para la identificación de los principales hongos oportunistas causantes de micosis humanas. Lima: Instituto Nacional de Salud; 1997. Serie de Normas Técnicas N° 23. (publicación en línea) (citada julio 2016). Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Manual%20Hongos.pdf>
27. Cruz CH, Vieille O, Fuentes H, Ponce E, Piontelli L. Micosis pulmonares en pacientes de la Quinta Región. Período 2007-2010. *Rev Med Chile* (publicación en línea) 2012 (citada marzo 2016; 140: 595-60). Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rmc/v140n5/art06.pdf>
28. Cuenca E.M, Gadea G.I, Martin M.E, Pemán G.J, Pontón J.J, Rodríguez T.L. Diagnóstico microbiológico de las micosis y estudios de sensibilidad a los antifúngicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. (citada julio 2016).
29. Rodríguez OJ, Miranda TJ, Morejón LH, Santana GJ. Candidiasis de la mucosa bucal. Revisión bibliográfica. *Rev Cubana Estomatol* 2002 (citada marzo 2016).
30. Bandele EO, Odugbemi T, Nwobu RA. Fungal chest infections at the Lagos University Teaching Hospital. *East Afr Med J*. 1993 Mar; 70(3):146-50.

31. Madhusudan A, Sharma PB, Sowmya GV. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2016 May-Aug; 20(2): 183–189.
32. Kalyani CS, Koripella RL, Madhu Ch. Fungal Isolates in Sputum Samples of Multidrug-resistant Tuberculosis Suspects. *Int J Sci Stud* 2016; 4(2):164-166.
33. Gupta BK, Sidhu U, Kumar R, Khurana S. Study of fungi associated with broncho-pulmonary disorders. *Indian J Med Sci.* 1996 Sep; 50(9):333-6.
34. Babita, Sanjeev S, Prabhat K.. Prevalence of mycotic flora with pulmonary tuberculosis patient in a tertiary care hospital. *Int J of Contemporary Med Research* 2016; 3(9): 2563-2564.
35. Khanna BK, Nath P, Ansari AH. A study of mycotic flora of respiratory tract in pulmonary tuberculosis. *Ind. J. Tub.,* 2010 4(24). 160- 168.
36. Misbah Uk, Gopi A, Huliraj N, Jagadeesd HK. Mycological profile of bronchoalveolar lavage fluid in patients with chronic respiratory diseases. Kempegowda Institute of medical sciences, Bengaluru. 2010;7: 163–168.
37. Campano CE. Descripción de la microbiota fúngica presente en el tracto respiratorio de sujetos con enfermedad pulmonar obstructiva crónica. (Tesis doctoral). Universidad de Sevilla, Sevilla.
38. Ocaña H, Jason M. Determinación de la flora micótica asociada a infecciones respiratorias con secreciones faríngeas en pacientes con riesgo oncohematológico, UCI, VIH y sida en el hospital “Carlos Andrade Marín” durante el periodo de enero a junio del 2015. 2016. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional de Chimborazo.
39. Zurita MS, Urcia AF, Navarro AM. Manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico micológico. Instituto Nacional de Salud. Ministerio de Salud del Perú. Lima 2017.
40. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR. Diagnóstico Microbiológico. 3 ed. México: Edición Médica Panamericana; 1998:334-342.
41. Arenas Roberto. Micología medica ilustrada. 5° Ed. Mc Graw-Hill Interamericana México 2014: 297.

## ANEXOS

### ANEXO N°1. FICHA DE REGISTRO DE DATOS

Nº de Ficha:

#### TRABAJO DE INVESTIGACIÓN:

#### PREVALENCIA DE AGENTES FÚNGICOS EN SINTOMÁTICOS RESPIRATORIOS CON HEMOPTISIS. Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016

Fecha de ingreso: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

1) Sexo: M  F

2) Edad: \_\_\_\_\_

3) Antecedentes de TB:

- a) Nunca Tratado ( )
- b) Antes tratado ( )
- c) Recaída ( )
- d) Fracaso ( )
- e) Rx Anormal (SI) (NO)

4) Procedencia

- a) Consultorio externo: \_\_\_\_\_
- b) Consultorio de Neumología: \_\_\_\_\_
- c) Hospitalización: \_\_\_\_\_
- d) Emergencia: \_\_\_\_\_

5) Examen directo (KOH)

- a) Negativo: ( )
- b) Positivo: ( ) \_\_\_\_\_

6) Cultivo:

CULTIVO	1	2	3
A. Saboraud + Cloranfenicol			

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN	
TUBO GERMINATIVO	
EX. DIRECTO	
CHROM agar Candida®	

7) Agente aislado:

- a) Negativo: ( )
- b) Positivo: ( ) \_\_\_\_\_



## **ANEXO N°2:**

### **MEDIO DE CULTIVO AGAR SABOURAUD con Cloranfenicol**

#### **COMPOSICIÓN**

- Dextrosa: 40.0g.
- Pancreático recopilación de caseína: 5.0g.
- Péptica recopilación de tejidos de animales: 5.0g.
- Cloranfenicol: 50.0g.
- Agar: 15.0g.

#### **MÉTODO DE PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO DESHIDRATADO:**

- Suspender 65g del medio de cultivo deshidratado en 1 litro de agua destilada o desionizada.
- Calentar hasta ebullición y mezclar hasta disolver completamente.
- Traspasar a un Erlenmeyer o a una botella de vidrio, ambos limpios y estériles.
- Esterilizar en el autoclave a 121°C durante 15 minutos.
- Distribuir tubos de ensayo 16 x 150 mm estériles.

#### **CONSIDERACIONES:**

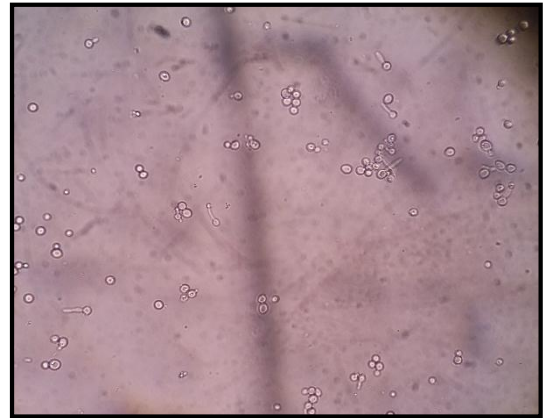
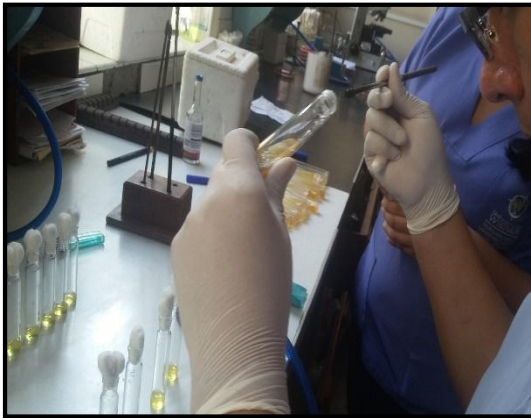
- Su pH final es de 5,6 +/- 0,2 a 25°C.
- Almacenar los medios preparados en 2-8°C.
- Guardar la botella que contiene el medio de cultivo, con la tapa bien cerrada y a 30.2°C. Proteger de la humedad y la luz.

## ANEXO N°3

### RECONOCIMIENTO E IDENTIFICACION DE *Candida*



Figura 1: Medios de cultivo con crecimiento de *Candida sp*



*Candida* en tubo germinativo

Figura 3: Lectura e identificación de la especie de *Candida*

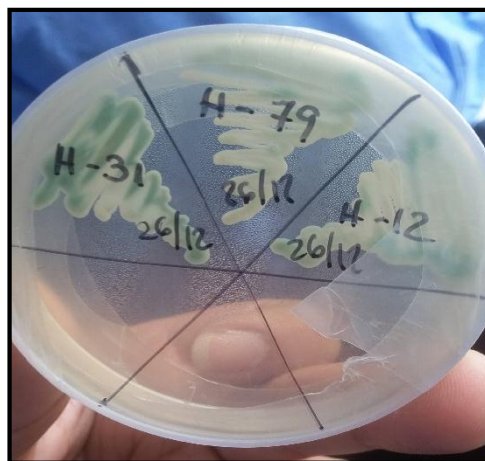


Figura 4: Confirmación de la especie *Candida* en chromagar

## ANEXO Nº4

### RECONOCIMIENTO DE AGENTES FUNGICOS FILAMENTOSOS



Figura 5: Medios de cultivo con crecimiento de *Agentes Fúngicos Filamentosos*

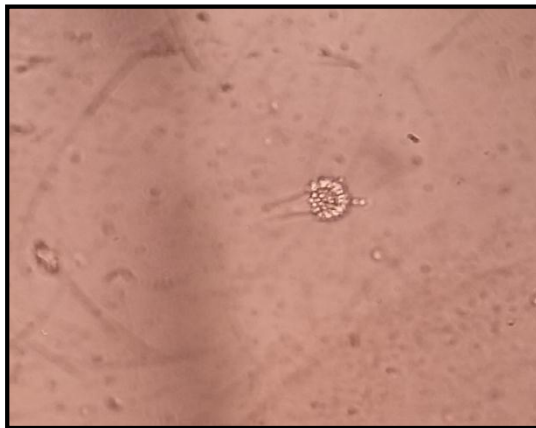


Figura 6: Examen directo con KOH de las colonias

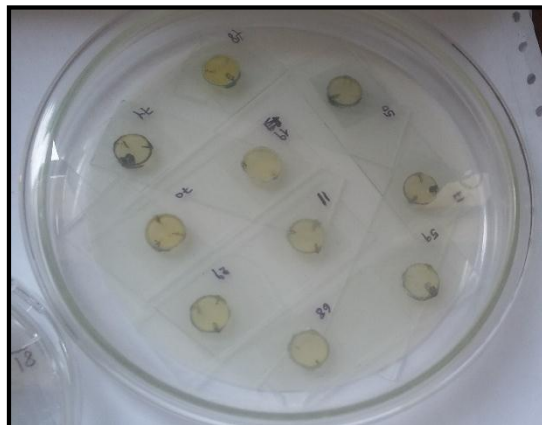


Figura 7: Identificación del género y especie mediante Microcultivo

## ANEXO N°5

### IDENTIFICACION DE AGENTES FUNGICOS FILAMENTOSOS

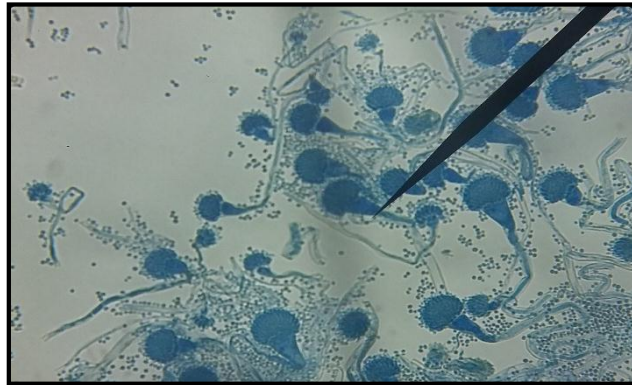


Figura 8: Identificación con azul de lactofenol de *Aspergillus fumigatus*



Figura 9: Identificación con azul de lactofenol de *Penicillium*

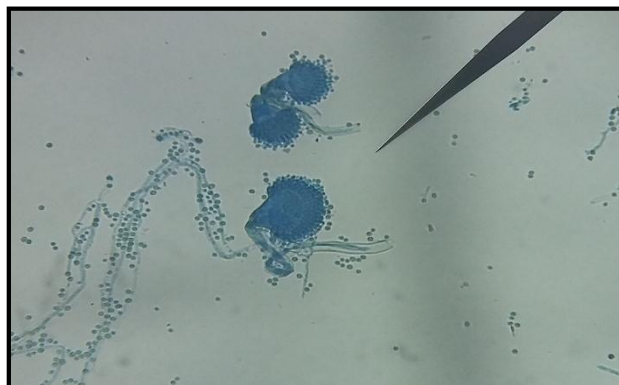


Figura 10: Identificación con azul de lactofenol de *Aspergillus fumigatus*

## ANEXO N°6

### Características de identificación de las especies de *Aspergillus*

		<i>A. fumigatus</i>	<i>A. nidulans</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. niger</i>
Colonia	Aspecto	Plano, aterciopelado, algodonoso	Plano, aterciopelado	Pulverulento	Punteado negro
	Color	Verde botella, blanco grisáceo	Verde amarillento	Verde amarillento	Blanco amarillento
	Reverso	Incoloro, rojo amarillento	Rojo púrpura	Incoloro, café amarillento	Incoloro, amarillento
Reproducción asexuada	Conidióforo	Corto, liso, incoloro. 300 micrómetros	Muy corto, liso, café, 600 micrómetros	Regular, pared rugosa	Largo, 1.5 a 3 mm
	Vesícula	Mazo o domo	Hemiesférica	Esférica	Globosa
	Fiálides	Una serie, paralelas	Dos series, paralelas	1 a 2 series radiadas	Dos series radiadas
	Conidios	Globosos, equinulados, verdes	Globosos, equinulados, verdes	Piriformes o globosos, verdes amarillentos	Globosos, negros
	Cleistotecios		Globoso, café, 130 micrómetros		
Reproducción sexual	Ascosporas		Rojizas		
	Células en avellana		20 micrómetros		
	Esclerotes			Blanco a negro	
	Otras	Temperatura de desarrollo óptimo	37 a 50 °C	30 a 37 °C	37 °C