

Artículo original

Aislamiento de *Candida* spp. en ambiente y personal que labora en una unidad de cuidados intensivos

Yotsabeth Saúl García*, Rosaura Hernández Valles

Laboratorio de Micología, Centro de Investigaciones Biomédicas. Universidad Nacional Experimental "Francisco de Miranda", Coro, estado Falcón, Venezuela.

Recibido 1 de febrero de 2014; aceptado 1 de abril de 2014

Resumen: Las infecciones nosocomiales por especies de *Candida* son causa importante de morbilidad y mortalidad, especialmente en pacientes críticos, siendo relevante establecer la fuente potencial de infección en ambientes hospitalarios. El objetivo de este estudio fue aislar e identificar especies de *Candida* en equipos médicos, mobiliarios y manos del personal que labora en una unidad de cuidados intensivos y evaluar su susceptibilidad a fluconazol y voriconazol. Se obtuvieron muestras mediante hisopo estéril, humedecido en caldo cerebro corazón suplementado con cloranfenicol. La identificación se realizó mediante las características de crecimiento en agar cromogénico y por métodos convencionales; la susceptibilidad a fluconazol y voriconazol fue evaluada mediante el método de difusión del disco (CLSI M44-A). De mobiliario y equipos médicos se obtuvieron 26 (68,4%) aislados y de las manos del personal 12 (31,6%). *C. parapsilosis* fue la especie más frecuente (55,4%), seguida de *C. tropicalis*, *C. famata*, *C. glabrata* y *C. guilliermondii*; además, se aislaron otras levaduras, *Rhodotorula* spp. y el Complejo *Trichosporon* (23%). El 65,8% de los aislados fue sensible a fluconazol y el 81,6% a voriconazol. La presencia ambiental de especies de *Candida* sugiere que deben mejorarse las normas de higiene intrahospitalarias para prevenir su transmisión horizontal.

Palabras clave: *Candida*, personal de salud, infección intrahospitalaria, UCI, antifúngicos.

Isolation of *Candida* spp. in environment and staff of an intensive care unit

Abstract: Nosocomial infection by *Candida* species are an important cause of morbidity and mortality, especially in seriously ill patients, and it is important to establish the infection source in hospital environments. The purpose of this study was to isolate and identify *Candida* species in medical equipments, furniture, and hands of staff working in intensive care units and evaluate their susceptibility to fluconazole and voriconazole. Samples were obtained with sterile swabs humidified with brain-heart broth supplemented with chloramphenicol. Identification was done through growth characteristics in chromogenic agar and by conventional methods; fluconazol and voriconazole susceptibility was evaluated by the disk diffusion method (CLSI M44-A). Twenty-six (68.4%) of the isolates were obtained from furniture and medical equipments and 12 (31.6%) from the hands of the staff. The most frequent species was *C. parapsilosis* (55.4%), followed by *C. tropicalis*, *C. famata*, *C. glabrata* and *C. guilliermondii*; other yeasts were also evaluated, *Rhodotorula* spp. and the *Trichosporum* Complex (23%). Regarding sensitivity, 65.8% of the isolates were sensitive to fluconazole and 81.6% to voriconazole. The environmental presence of *Candida* spp suggests that intra-hospital hygiene regulations should be improved in order to prevent their horizontal transmission.

Keywords: *Candida*, health staff, intra-hospital infection, ICU, antifungals.

* Correspondencia:
E-mail: yotsabeth@gmail.com

Introducción

Las infecciones fúngicas nosocomiales se han convertido en causa importante de morbilidad y mortalidad en el ámbito hospitalario, especialmente en pacientes críticos [1,2]. La mayoría son producidas por especies de *Candida*, siendo *C. albicans* la especie más frecuente; sin embargo, en los últimos años se ha observado un cambio en la frecuencia

hacia especies no *albicans*, tales como *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei* y *C. lusitaniae*, emergiendo con ellas nuevos patrones de susceptibilidad a los antifúngicos [2]. Estas infecciones ocurren principalmente a partir de un foco de colonización endógeno, debido a que algunas especies son parte de la microbiota de piel y mucosas; en otras ocasiones, el origen es exógeno, tras la colonización de catéteres y dispositivos intravasculares o debido a

transmisión cruzada a través de las manos del personal de salud. Se ha reportado que *C. parapsilosis*, es un agente frecuente de brotes intrahospitalarios relacionados con el uso de catéteres [2,3].

La transmisión de levaduras a los pacientes y entre pacientes, con frecuencia comienza en el ambiente y de las manos del personal de salud [3,4]. Se ha estimado que la presencia de levaduras en las manos de personas sanas es baja (menos del 5%); sin embargo, en trabajadores de la salud, la prevalencia puede variar entre el 20% para el personal médico y el 80% para el de enfermería; las especies que se reportan con mayor frecuencia son *C. parapsilosis* y/o *Rhodotorula* spp. [3-7]. Si las manos pueden cumplir un papel importante en la transmisión exógena de levaduras hacia el paciente y como cada vez se reportan con mayor frecuencia infecciones fúngicas nosocomiales, se consideró relevante determinar la frecuencia de aislados de levaduras a partir de las manos de trabajadores de la salud y del ambiente en un servicio hospitalario, y evaluar su perfil de susceptibilidad *in vitro* a fluconazol y voriconazol, con la finalidad de fundamentar en el futuro, la implementación de estrategias de prevención de infecciones fúngicas nosocomiales y el uso profiláctico y terapéutico de antifúngicos en los pacientes.

Materiales y métodos

Se realizó una investigación de tipo descriptivo y prospectivo con un diseño experimental, en donde se recolectaron y cultivaron muestras de mobiliario, equipos médicos y manos del personal (médicos, enfermeras y personal de limpieza) que labora en la unidad de cuidados intensivos (UCI) del Hospital Universitario “Dr. Alfredo Van Grieken”, Coro, estado Falcón, Venezuela. Esta investigación fue aprobada por el Comité de Bioética del Área Ciencias de la Salud, Universidad Nacional Experimental “Francisco de Miranda”.

Aislamiento e identificación: Las muestras fueron recolectadas con hisopo estéril humedecido en caldo infusión cerebro corazón suplementado con cloranfenicol, según técnicas descritas con algunas modificaciones [5-7]. En mobiliario y equipos médicos se pasó el hisopo por toda su superficie, en algunos casos se utilizaron varios hisopos para cubrir toda el área de un mismo objeto. Las muestras de las manos del personal se tomaron durante su turno de trabajo, mediante frotación con el hisopo en la palma, dorso, pliegue interdigital y uñas. Todas las muestras se recolectaron una sola vez. Posteriormente, cada hisopo fue colocado en tubos de ensayo con caldo infusión cerebro corazón suplementado con cloranfenicol para su transporte al laboratorio. A partir de los hisopos se realizó siembra en agar cromogénico para *Candida* (Oxoid brilliance™ *Candida* agar) y tanto este medio como los caldos fueron incubados a 37 °C, en aerobiosis, durante 48 horas. Los caldos que no mostraron crecimiento en ese tiempo fueron dejados en incubación por 8 días, con evaluación visual diaria en busca de signos de positividad (turbidez

del medio, presencia de gas o formación de colonias); los caldos positivos y los que permanecieron en incubación hasta los 8 días, se subcultivaron en agar cromogénico e incubaron en las mismas condiciones anteriores. Los aislados se identificaron mediante las características macroscópicas de crecimiento en agar cromogénico y por métodos convencionales: hidrólisis de la urea, producción de clamidoconidias y asimilación de carbohidratos [8-10].

Estudio de susceptibilidad a fluconazol y voriconazol: Se utilizó el método de difusión del disco descrito por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standard Institute, CLSI) en su documento M44-A [11]. Se utilizaron placas de 90 mm de diámetro, que contenían agar Müeller-Hinton (BBL, Cockeysville, EE.UU) suplementado con 2% de glucosa y 0,5 µg/mL de azul de metileno, con una profundidad de 4,0 mm. El inóculo utilizado consistió en una suspensión de la levadura a evaluar, ajustada a la turbidez del estándar 0,5 McFarland. Las placas con el agar Müeller-Hinton fueron inoculadas mediante diseminación uniforme con hisopo estéril humedecido en la suspensión de levaduras. Los discos de fluconazol (25 µg) y voriconazol (1 µg) (Bioanalyse ®) se colocaron sobre la superficie de las placas inoculadas, las cuales fueron incubadas en aerobiosis, a 37 °C; los resultados se evaluaron a las 18-24 horas y la lectura fue visual, midiendo el diámetro (mm) del área donde ocurrió una reducción del 80% del crecimiento fúngico. Los aislados se clasificaron como Sensible (S), Intermedio (I), Sensible Dosis Dependiente (SDD) o Resistentes (R). Los puntos de corte de referencia, expresados en milímetros (mm) fueron: fluconazol $S \geq 17$, SDD entre 14-16, $R \leq 13$ para *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y SDD ≥ 15 y $R \leq 14$ para *C. glabrata* [12]. En el caso del voriconazol, $S \geq 17$, I entre 15-16, $R \leq 14$ para *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y $S \geq 15$, I entre 13-14, $R \leq 12$ para *C. krusei* [13].

Control de calidad del estudio de susceptibilidad: Se realizó utilizando las cepas *C. parapsilosis* ATCC 22019 y *C. krusei* ATCC 6258, suministradas por el Departamento de Micología, del Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”, Caracas, Venezuela. Para la interpretación de los resultados se emplearon los puntos de corte descritos por Barry *et al.* y por Krisher *et al.* [14,15].

Análisis estadístico: Se calculó la frecuencia absoluta y porcentual de los aislados obtenidos por especie de *Candida*, tipo de muestra y los porcentajes de susceptibilidad a los antifúngicos, de forma global y por especie aislada.

Resultados y discusión

Fueron procesadas 78 muestras, 46 de mobiliario y equipos médicos (59%) y 32 de manos del personal (41%), obteniéndose 38 aislados: 26 (68,4%) de equipos médicos y mobiliario y 12 del personal (31,6%). En la Tabla 1 se muestran las especies de *Candida* según la muestra

Tabla 1. Especies de *Candida* aisladas en equipos médicos, mobiliario y manos del personal de salud. Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital Universitario "Dr. Alfredo Van Grieken". Coro estado Falcón, Venezuela.

Especie	Equipos médicos y mobiliario	Manos del personal	Total
<i>C. parapsilosis</i>	12 (46,2 %)	9 (75 %)	21 (55,3 %)
<i>C. famata</i>	4 (15,4 %)	-	4 (10,5 %)
<i>C. tropicalis</i>	2 (7,7 %)	2 (16,6 %)	4 (10,5 %)
<i>C. glabrata</i>	1 (3,8 %)	-	1 (2,6 %)
<i>C. guilliermondii</i>	1 (3,8 %)	-	1 (2,6 %)
<i>Rhodotorula</i> spp.	3 (11,5 %)	1 (8,3 %)	4 (10,5 %)
Complejo <i>Trichosporon</i>	3 (11,5 %)	-	3 (7,9 %)
Total	26 (100 %)	12 (100 %)	38 (100 %)

evaluada.

De los aislados obtenidos de equipos médicos y mobiliario, 46,2% correspondió a *C. parapsilosis* (n= 12), 15,4% *C. famata* (n= 4), 7,7% *C. tropicalis* (n= 2) y 3,8% tanto *C. glabrata* como *C. guilliermondii* (n= 1); otras levaduras aisladas fueron *Rhodotorula* spp. y el Complejo *Trichosporon* (ambas 11,5%, n= 3). La mayor frecuencia de *C. parapsilosis*, coincide con lo reportado por otros autores, quienes la han asociado con infección nosocomial de transmisión exógena [16,17]. En un estudio realizado en Venezuela se reportó aislamiento importante de *Candida* spp. en áreas hospitalarias de emergencia y unidades de cuidados intensivos, utilizando la técnica de sedimentación en placa para obtener microorganismos del aire [18]; la metodología empleada en esa investigación y la no caracterización de las especies aisladas, dificulta establecer comparaciones. Es importante destacar el aislamiento de *C. famata*, *C. glabrata*, *Rhodotorula* spp. y el Complejo *Trichosporon*, ya que se consideran patógenos emergentes de importancia clínica debido a la resistencia antifúngica reportada *in vitro* [19,20]. Aunque no se han señalado con frecuencia como causantes de brotes de infección nosocomial, su presencia en el ambiente podría considerarse un factor de riesgo para pacientes críticos. Las especies del Complejo *Trichosporon* se consideran saprófitos ambientales que también pueden formar parte de la microbiota humana al colonizar transitoriamente piel, vías respiratorias y vagina [21]. Aunque su hallazgo en el ambiente hospitalario no es frecuente, existen algunos informes que reportan su aislamiento de la porción distal del catéter colector de orina [22]. *Rhodotorula* spp. está ampliamente distribuida en la naturaleza y puede formar parte de la microbiota gastrointestinal, urinaria y cutánea del hombre. Se ha descrito que tiene fuerte afinidad por el plástico y ha sido aislada de equipos médicos tales como equipos de diálisis y broncoscopios de fibra óptica [23]. Debido a su bajo poder patógeno, ocasionalmente se describe como agente de infecciones graves en pacientes inmunocomprometidos,

asociadas al uso de catéter venoso central [24].

De los aislados obtenidos de manos del personal, 75% correspondió a *C. parapsilosis* (n= 9), 16,6% *C. tropicalis* (n= 2) y 8,3 % *Rhodotorula* spp. (n= 1) (Tabla 1). A pesar de que se obtuvieron menos especies de levaduras, la mayor frecuencia de *C. parapsilosis* coincide con lo observado en muestras de equipos médicos, mobiliario y con lo reportado en la literatura [3-7,16]. En los últimos años se ha señalado que esta especie, a pesar de ser menos virulenta que *C. albicans*, en muchas ocasiones produce candidemia de origen exógeno a partir de las manos del personal de salud, originando brotes de infección hospitalaria [6,16,17]. Las epidemias intrahospitalarias por *C. parapsilosis* se han relacionado con el mal manejo de los catéteres centrales o periféricos y con la contaminación de las soluciones de perfusión, que junto con su particular afinidad por los materiales sintéticos, contribuye a explicar su asociación a infección relacionada con catéteres [16,25]. En un estudio realizado en pacientes ingresados en la UCI del hospital donde se llevó a cabo esta investigación, se reportó que *C. parapsilosis* fue una de las especies menos frecuente y se aisló solo en urocultivos [26]; sin embargo, su presencia prevalente en el ambiente y manos del personal que allí labora, podría constituir un factor de riesgo para la transmisión horizontal de infección nosocomial. En la literatura revisada no se refiere a *C. tropicalis* entre las especies aisladas del personal de salud, desconociéndose su asociación con infección de transmisión horizontal intrahospitalaria. Se ha reportado que *C. tropicalis* es capaz de colonizar dispositivos vasculares, tiene mayor capacidad invasora que *C. albicans*, generalmente la infección en los pacientes es de origen endógeno y entre el 50-60% de los colonizados desarrollan candidiasis invasora (tasa de mortalidad del 16%) [27]. Esta especie ha sido la más aislada en urocultivos de pacientes críticos ingresados en el hospital donde se realizó la investigación [26]; sería interesante establecer comparación genotípica, mediante técnicas moleculares, entre los aislados provenientes de los pacientes y los obtenidos en el ambiente (equipos médicos, mobiliario y manos del personal sanitario) a fin de determinar si existe transmisión horizontal de clones produciendo infección nosocomial. Según algunos autores, *Rhodotorula* spp. es una de las levaduras más frecuentemente aislada de manos del personal de salud junto con *C. parapsilosis*, lo cual difiere con los hallazgos de este estudio, donde solo se obtuvo un aislado [3-7,28]. El aislamiento de *Rhodotorula* spp. podría ser un indicador de la colonización transitoria de otras levaduras con mayor importancia clínica en las manos del personal que labora en instituciones sanitarias.

El estudio de susceptibilidad a fluconazol mostró que de todos los aislados evaluados, el 65,8% (n= 25) fue sensible, 7,9% (n= 3) SDD y 26,3% resistente (n= 10) (Tabla 2). El 71,4% de *C. parapsilosis* fue sensible a fluconazol (n= 15), observándose un 14,3% tanto SDD como resistente (n= 3). El 75% de *C. tropicalis* y *C. famata* fue sensible al igual que todos los aislados de *C. guilliermondii* y del Complejo *Trichosporon* pero *C. glabrata* y *Rhodotorula*

Tabla 2. Distribución de la susceptibilidad de las especies de *Candida* a fluconazol y voriconazol. Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital Universitario "Dr. Alfredo Van Grieken". Coro estado Falcón, Venezuela.

Especie	Fluconazol (%)				Voriconazol (%)			
	S	S-DD	R	Total	S	I	R	Total
<i>C. parapsilosis</i>	15 (71,4%)	3 (14,3%)	3 (14,3%)	21	18 (85,7%)	1 (4,8%)	2 (9,5%)	21
<i>C. tropicalis</i>	3 (75%)	-	1 (25%)	4	4 (100%)	-	-	4
<i>C. famata</i>	3 (75%)	-	1 (25%)	4	4 (100%)	-	-	4
<i>C. glabrata</i>	-	-	1 (100%)	1	1 (100%)	-	-	1
<i>C. guilliermondii</i>	1 (100%)	-	-	1	1 (100%)	-	-	1
<i>Rhodotorula</i> spp.	-	-	4 (100%)	4	-	-	4 (100%)	4
Complejo <i>Trichosporon</i>	3 (100%)	-	-	3	3 (100%)	-	-	3
Total	25	3	10	38	31	1	6	38

S: Sensible, S-DD: sensible dosis dependiente, I: intermedio, R: resistente.

spp. resultaron resistentes.

Para el voriconazol, el patrón de susceptibilidad fue diferente: el 81,6% (n= 31) de los aislados resultó sensible, 2,6% (n= 1) mostró sensibilidad intermedia, mientras que 15,8% (n= 6) presentó resistencia al antimicótico (Tabla 2). Según la especie estudiada, el 85,7% de *C. parapsilosis* fue sensible (n= 18), 4,8% mostró sensibilidad intermedia (n= 1) y 9,5% fue resistente (n= 2); el resto de las especies de *Candida* y el Complejo *Trichosporon* resultaron sensibles, mientras que *Rhodotorula* spp. fue resistente (n= 4).

La susceptibilidad antifúngica de especies de *Candida* obtenidas del ambiente o del personal de salud no se señala con frecuencia en la literatura. En un estudio realizado en Costa Rica se reportó que todas las especies de *Candida* aisladas de las manos del personal sanitario, fueron sensibles a fluconazol, superior a los resultados de esta investigación [7]. De igual forma, en otro estudio se señala que más del 90% de los aislados de *C. parapsilosis* provenientes de las manos del personal sanitario fueron sensibles a fluconazol [5]. El patrón de susceptibilidad observado en *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* contrasta con lo que se ha reportado en aislados obtenidos de muestras clínicas. Según Pfaller *et al.* en un estudio multicéntrico de evaluación de la susceptibilidad antifúngica por el método de difusión del disco en especies de *Candida*, la resistencia a fluconazol no es tan frecuente y variable en *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*, estimando una tasa de resistencia entre el 2-4,2% y 3-6,6%, respectivamente [2]; esta tasa de resistencia fue mayor en los aislados de esta investigación. Por otra parte, los mismos autores refieren variaciones importantes y altas tasas de resistencia en aislados de *C. glabrata* (14,3-22,8%), *C. guilliermondii* (6,3-26,1%) y *C. famata* (9,8-47,4%) [2]; similares a las variaciones observadas en este estudio. En cuanto al voriconazol, la susceptibilidad se ha estimado entre el 97-100% para las diferentes especies de *Candida* excepto *C. glabrata* y *C. krusei*, que muestran una mayor tasa de resistencia [2,13]. Se ha reportado que las especies de *Candida* con susceptibilidad disminuida al fluconazol pueden presentar resistencia cruzada con

voriconazol [2]; es posible que a esto se deba lo observado en los aislados de *C. parapsilosis*, que fueron los que mostraron menor susceptibilidad y mayor resistencia a ambos antifúngicos. A pesar de que el antifungigrama por la técnica de difusión del disco es un método validado para el estudio de susceptibilidad a fluconazol y voriconazol en *Candida* spp. se considera conveniente que los aislados SDD, intermedios y resistentes sean reevaluados por un método estándar de dilución como el de microdilución en caldo, a fin de determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) y verificar la existencia de cepas ambientales resistentes. Además, sería conveniente ampliar este tipo de investigación con la finalidad de evaluar el patrón de susceptibilidad en un número mayor de aislados.

La sensibilidad del Complejo *Trichosporon* a fluconazol y voriconazol coincide con lo reportado por otros autores en aislados provenientes de pacientes [26,29]. Son pocos los estudios publicados acerca de la susceptibilidad *in vitro* de *Rhodotorula* spp. a los antifúngicos sistémicos; habitualmente es sensible a anfotericina B y 5-fluorocitosina, pero resistente a los azoles [24], similar a lo observado en esta investigación donde todos los aislados fueron resistentes.

Conclusiones y recomendaciones

Los resultados presentados evidencian aislamiento importante de levaduras en el ambiente (equipos médicos y mobiliario) y manos del personal de salud, en la unidad de cuidados intensivos (UCI) del Hospital Universitario "Dr. Alfredo Van Grieken", especialmente *C. parapsilosis*, agente asociado a infección nosocomial de transmisión exógena. Esto sugiere que deben mejorarse las normas de higiene hospitalarias a fin de contribuir con la prevención de brotes nosocomiales de infección fúngica por transmisión horizontal. El patrón de susceptibilidad antifúngica observado requiere ser verificado mediante la determinación de la CIM, con la finalidad de confirmar la frecuencia de especies de *Candida* resistentes que pudieran transmitirse

a los pacientes ingresados en UCI, lo cual sería un factor de riesgo importante debido a la condición clínica en que ellos se encuentran. Se recomienda extender este estudio a otros centros de salud del país, abarcando incluso la genotipificación de las especies aisladas, para compararlas con las obtenidas en pacientes a fin de establecer si existen clones ocasionando brotes de infección intrahospitalaria.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento al personal que labora en la Unidad de Cuidados Intensivos “Dr. David Isea Trompiz” del Hospital Universitario “Dr. Alfredo Van Grieken”, por su apoyo y cooperación en la recolección de las muestras evaluadas. Así como también, a la Sra. Zaida Bracho y la Sra. Margot Colina, personal del Laboratorio de Micología, CIB/UNEFM, por su incondicional ayuda en la ejecución de esta investigación.

Referencias

- Galván B, Mariscal F. Epidemiología de la candidemia en UCI. Rev Iberoam Micol. 2006; 23:12-5.
- Pfaller M, Diekema D. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clin Microbiol Rev. 2007; 20:133-63.
- Yildirim M, Sahin I, Kucukbayrak A, Ozdemir D, Tevfik M. Hand carriage species and risk factors in hospital personnel. Mycoses 2007; 50:189-92.
- Silva V, Zepeda G, Rybak M, Febré N. Portación de levaduras en manos de estudiantes de Medicina. Rev Iberoam Micol. 2003; 20:41-5.
- Bonassoli L, Bertoli M, Svidzinski T. High frequency of *Candida parapsilosis* on the hands of healthy hosts. J Hosp Infect. 2005; 59:159-62.
- Orozco P, Cortés J, Parra C. Colonización por levaduras en recién nacidos y personal de salud en la unidad de cuidados intensivos neonatales de un hospital universitario en Bogotá, Colombia. Rev Iberoam Micol. 2009; 26:108-11.
- Carrillo P, Álvarez C, Salas I, Mora N. Aislamiento de *Candida* spp. y otras levaduras en el personal que labora en áreas críticas del Hospital San Juan de Dios. Acta Méd Costarric. [online] 2009; 51:165-71.
- Linares M, Solís F. Identificación de levaduras. Pemán J, Martín E, Rubio M. Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica. Rev Iberoam Micol. 2001: 5-12.
- Godoy P, Almeida L, Lopes A. Identificación de *Candida albicans* utilizando el medio cromogénico Albicans ID. Rev Iberoam Micol. 2001; 18:197-9.
- Pincus D, Orenga S, Chatellier S. Yeast identification past, present and future methods. Med Mycol. 2007; 45:97-121.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeast. Approved guideline M44-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa 1987-1998. 2004; 24:1-23.
- Pfaller M, Andes D, Diekema D, Espinel-Ingroff A, Sheehan D. Wild-type MIC distributions, epidemiological cutoff values and species-specific clinical breakpoints for fluconazole and *Candida*: Time for harmonization of CLSI and EUCAST broth microdilution methods. Drug Resist Updat. 2010; 13:180-95.
- Pfaller M, Andes D, Maiken C, Arendrup M, Diekema D. Clinical breakpoints for voriconazole and *Candida* spp. revisited: review of microbiologic, molecular, pharmacodynamic, and clinical data as they pertain to the development of species-specific interpretive criteria. Diagn Microbiol Infect Dis. 2011; 70:330-43.
- Barry A, Pfaller M, Brown S, Espinel A, Ghannoum M, Knapp C *et al.* Quality control limits for broth microdilution susceptibility test of ten antifungals. J Clin Microbiol. 2000; 38:3457-9.
- Krisher K, Brown S, Traczewski M. Quality control parameters for broth microdilution test of anidulafungin. J Clin Microbiol. 2004; 42:420.
- Lupetti A, Tavanti A, Davini P, Ghelardi E, Corsini V, Merusi I. Horizontal transmission of *Candida parapsilosis* candidemia in a neonatal intensive care unit. J Clin Microbiol. 2002; 40: 2363-9.
- Durán E, Ramírez I, Ventura P, Gil J, Rubio C. Candidemia: *Candida parapsilosis* en una unidad de neonatología. Rev Iberoam Micol. 2005; 22:1-15.
- Perelli A, Calzolaio V, González L, Kirchner E, Lamper D, Leonardo S. Presencia de flora fúngica en áreas internas del Hospital “Dr. Adolfo Prince Lara”, Puerto Cabello, estado Carabobo. Durante el período 2006-2007. VITAE (publicación periódica en línea) 2009; 38. Disponible en URL: http://vitae.ucv.ve/index_pdf.php?module=articulo_pdf&n=2604&rv=71.
- Silva V, Díaz C, Febré N and Chilean Invasive Fungal Infections Group. Invasive fungal infections in Chile. A multicenter study of fungal prevalence and susceptibility during 1-year period. Med Mycol. 2004; 42: 333-9.
- Silva V, Zepeda G, Alvarado D. Infección urinaria por *Trichosporon asahii*. Primeros dos casos en Chile. Rev Iberoam Micol. 2003; 20:21-3.
- Zhang E, Sugita T, Tsuboi R, Yamazaki T, Makimura K. The opportunistic yeast pathogen *Trichosporon asahii* colonizes the skin of healthy individuals: analysis of 380 healthy individuals by age and gender using a nested polymerase chain reaction assay. Microbiol Immunol. 2011; 55:483-8.
- Stone J, Manasse R. Pseudoepidemic of urinary tract infections due to *Trichosporon beigelii*. Infect Control Hosp Epidemiol. 1989; 10:312-5.
- Miceli M, Díaz J, Lee S. Emerging opportunistic yeast infections. Lancet Infect Dis. 2011; 11:142-51.
- Zaas A, Boyce M, Schell W, Lodge B, Miller J, Perfect J. Risk of fungemia due to *Rhodotorula* and antifungal susceptibility testing of *Rhodotorula* isolates. J Clin Microbiol. 2003; 41:5233-5.
- Matsumoto F, Gandra R, Ruiz L, Auler M, Marques S, Pires M *et al.* Yeasts isolated from blood and catheter in children from a public hospital of São Paulo, Brazil. Mycopathologia. 2002; 154:63-9.
- Saúl Y, Hernández R. Aislamiento y susceptibilidad a fluconazol y voriconazol de especies de *Candida* provenientes de pacientes reclusos en la Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital Universitario de Coro, estado Falcón, Venezuela. Rev Soc Ven Microbiol. 2013; 33:140-5.
- Weinberger M, Leibovici L, Perez S, Samra Z, Ostfeld I *et al.* Characteristics of candidaemia with *Candida-albicans*

- compared with *non-albicans Candida* species and predictors of mortality. J Hosp Infect. 2005; 61:146-54.
28. Strausbaugh L, Sewell D, Tjoelker R. Comparison of three methods for recovery of yeasts from hands of health-care workers. J Clin Microbiol. 1996; 34:471-3.
29. Paphitou N, Ostrosky-Zeichner L, Paetznick V, Rodríguez J, Chen E, Rex J. *In vitro* antifungal susceptibilities of *Trichosporon* species. Antimicrob Agents Chemother. 2002; 46:1144-6.