

Artículo original

Aislamiento y susceptibilidad a fluconazol y voriconazol de especies de *Candida* provenientes de pacientes recluidos en la Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital Universitario de Coro, estado Falcón, Venezuela

Yotsabeth Saúl García*, Rosaura Hernández Valles

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

Recibido 29 de enero de 2013; aceptado 12 de junio de 2013

Resumen: El objetivo de este trabajo fue determinar la frecuencia de aislamiento de *Candida* spp. en muestras clínicas de pacientes ingresados en una unidad de cuidados intensivos y evaluar su perfil de susceptibilidad *in vitro* a fluconazol y voriconazol. Se evaluaron 60 pacientes, procesándose 194 muestras: 98 hemocultivos, 48 urocultivos cuantitativos, 46 secreciones traqueales y 2 puntas de catéter, mediante siembra en agar cromogénico para *Candida*. El género y especie fue confirmado mediante las características macroscópicas de crecimiento, producción de clamidoconidias, hidrólisis de la urea y asimilación de carbohidratos. Para la evaluación de la susceptibilidad antifúngica se utilizó el método de difusión en disco M44-A del Clinical and Laboratory Standard Institute. Se aislaron 37 levaduras (73,0% de urocultivo en recuento significativo, 24,3% de secreción traqueal y 2,7% de punta de catéter). *C. tropicalis* fue la especie más frecuente (43,2%) seguida de *C. glabrata* (21,6%) y *C. albicans* (13,5%), evidenciándose una distribución diferente a la reportada en la literatura. El 73% de los aislados fue sensible a fluconazol y el 89,2% al voriconazol. La frecuencia observada de candiduria, sugiere que el urocultivo cuantitativo pudiera emplearse como estudio rutinario en pacientes recluidos en UCI, a fin de establecer estrategias terapéuticas y profilácticas adecuadas.

Palabras clave: especies de *Candida*, UCI, susceptibilidad, fluconazol, voriconazol..

Isolation and fluconazol and voriconazol sensitivity of *Candida* species from patients hospitalized at the Intensive Care Unit, Coro University Hospital, Falcon State, Venezuela

Abstract: The aim of this work was to determine the frequency of isolation of *Candida* spp. in patients hospitalized in an intensive care unit and evaluate their *in vitro* susceptibility to fluconazol and voriconazol. Sixty patients were evaluated through 194 samples, 98 hemocultures, 48 quantitative urocultures, 46 tracheal secretions, and 2 catheter tips inoculated in *Candida* chromogenic agar. The genus and species was confirmed by the macroscopic growth characteristics, clamidoconidia production, urea hydrolysis, and carbohydrate assimilation. The anti-fungal susceptibility was determined by the disk diffusion method M44-A of the Clinical and Laboratory Standard Institute. Thirty seven yeasts were isolated (73.0% from urocultures with significant counts, 24.3% from tracheal secretion, and 2.7% from catheter tips). The most frequent species was *Candida tropicalis* (43.2%), followed by *C. glabrata* (21.6%) and *C. albicans* (13.5%), showing a different distribution from that reported in the literature. Regarding sensitivity, 73% of isolates were fluconazol sensitive and 89.2% voriconazol sensitive. The frequency of *Candida* in the urine suggests that quantitative urocultures could be used as a routine study of patients hospitalized in an ICU so as to establish adequate therapeutic and prophylactic strategies.

Keywords: *Candida* spp., ICU, susceptibility, fluconazol, voriconazol.

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

Introducción

La frecuencia de infecciones causadas por levaduras del

género *Candida* ha aumentado en los últimos años. Afecta principalmente a individuos inmunocomprometidos y pacientes internados en unidades de cuidados intensivos

(UCI). Estos últimos, pueden ser susceptibles debido a alteraciones intrínsecas del sistema inmunitario secundarias a desnutrición, translocación bacteriana, neutropenia y traumas mayores, así como también por factores extrínsecos relacionados con procedimientos invasores (catéter central, ventilación mecánica, cateterismo vesical), hospitalización prolongada y uso de nutrición parenteral, esteroides y antibióticos de amplio espectro [1,2].

Estudios nacionales e internacionales reflejan un incremento notable en el aislamiento de especies de *Candida* diferentes a *C. albicans* en muestras clínicas. Sin embargo, la distribución de las especies puede variar según el área geográfica, centro hospitalario, tipo de pacientes, edad y la muestra clínica analizada [3-6].

Paralelamente al incremento de las infecciones por *Candida* spp. se han introducido nuevos agentes antifúngicos de mayor potencia y con un espectro más amplio, pero la elevada proporción de fracasos terapéuticos, la aparición frecuente de efectos adversos y la emergencia de especies fúngicas intrínsecas o secundariamente resistentes, son problemas crecientes que aún no han logrado resolverse [7,8].

A pesar de la relevancia de las infecciones invasoras por *Candida* spp. en pacientes reclusos en UCI, es escasa la información sobre el perfil de susceptibilidad y especies aisladas en nuestro medio. El objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia de estas especies, en muestras clínicas de pacientes ingresados en una unidad de cuidados intensivos y evaluar el perfil de susceptibilidad *in vitro* a fluconazol y voriconazol.

Materiales y métodos

Se realizó una investigación de tipo descriptiva y prospectiva, durante 6 meses (Abril–octubre de 2012), para aislar especies de *Candida* a partir de muestras de sangre, orina (urocultivo cuantitativo), secreción traqueal y puntas de catéter, de pacientes ingresados en la UCI del Hospital Universitario de Coro “Dr. Alfredo Van Grieken” (HUCAVG), estado Falcón, Venezuela, y evaluar el perfil de susceptibilidad a fluconazol y voriconazol.

Esta investigación fue aprobada por el Comité de Bioética del Área Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional Experimental “Francisco de Miranda” (Fecha 07/11/2011), manteniéndose lo estipulado en la Declaración de Helsinki de 1975, revisada en 1983.

Aislamiento e identificación: Los hemocultivos se recolectaron asépticamente tomando 10 mL de sangre venosa periférica, arterial o de catéter venoso central (según las condiciones clínicas del paciente), y fueron inoculados en frascos comerciales con 40 mL de caldo soya (Bact/Alert, Biorieux®, dilución 1/5). Las muestras fueron recolectadas al ingreso del paciente, a las 48 horas y luego una vez por semana. Posterior a la inoculación de la sangre en caldo soya, se extrajeron asépticamente 5 mL que fueron colocados en tubos de ensayo estériles y centrifugados a 3.000

rpm durante 10 minutos; una parte del sedimento se sembró en placas de Petri con agar cromogénico *Candida* (Oxoid brilliance™ *Candida* agar) suplementado con cloranfenicol, incubándose a 37 °C por 48 horas en aerobiosis; el resto se utilizó para realizar exámenes microscópicos directos con coloración de Gram. Los hemocultivos fueron incubados a 37 °C en aerobiosis durante 10 días y fueron evaluados diariamente para detectar signos macroscópicos de crecimiento (enturbiamiento del medio, hemólisis, producción de gas o formación de colonias en el fondo del frasco); en caso de positividad y al finalizar el tiempo de incubación, se realizaron subcultivos en agar cromogénico, incubado bajo las mismas condiciones descritas [9].

Las muestras de orina se obtuvieron semanalmente, en recolectores de orina estériles, al momento del cambio de la sonda vesical o por punción de la misma. Se realizó siembra con asa calibrada en agar cromogénico suplementado con cloranfenicol e incubación en las condiciones descritas anteriormente. Adicionalmente, se realizó examen microscópico al fresco del sedimento urinario. La presencia microscópica de leucocitos, piocitos, levaduras y pseudohifas en el sedimento urinario y el recuento de colonias superior a 10.000 UFC/mL se consideraron criterios para candiduria. Las infecciones mixtas fueron tomadas en cuenta debido a que estos pacientes permanecían con catéter vesical durante su hospitalización en la UCI [10,11].

Las muestras de secreción traqueal se obtuvieron semanalmente, por aspiración a través del tubo endotraqueal o del traqueotomo y se colectaron en tubos con tapa de rosca que contenían 1 mL de solución salina estéril. Se realizó examen microscópico directo al fresco y siembra en agar cromogénico suplementado con cloranfenicol e incubado a 37 °C durante 48 horas en aerobiosis [12].

Las puntas de catéter (segmento intravascular, 3-4 cm del extremo distal) se obtuvieron asépticamente al momento de su cambio. Fueron cultivadas dentro de las dos horas siguientes de haber sido removidas, para prevenir la desecación. En la técnica de siembra e interpretación de los resultados se siguió el método semicuantitativo de Maki [13].

Los aislamientos fueron identificados mediante las características macroscópicas de crecimiento en agar cromogénico y por métodos convencionales: hidrólisis de la urea, producción de clamidoconidias y asimilación de carbohidratos [14].

Estudio de susceptibilidad a fluconazol y voriconazol: Se realizó por el método de difusión en disco, descrito por el Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) en su documento M44-A [15]. Se utilizó agar Müeller-Hinton (BBL, Cockeysville, EE.UU) suplementado con glucosa al 2% y 0,5 µg/mL de azul de metileno. La superficie del agar se inoculó con hisopo estéril humedecido en una suspensión de levaduras, ajustada a la turbidez del estándar 0,5 McFarland. Se utilizaron discos de fluconazol (25µg) y voriconazol (1µg) (Bioanalyse®), los cuales fueron colocados sobre la superficie de las placas inoculadas y estas se incubaron en

aerobiosis, a 37 °C; los resultados fueron evaluados a las 18-24 horas y la lectura se realizó visualmente, midiendo el diámetro (mm) del área donde se produjo 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 ≥ 17 , SDD entre 14-16, R ≤ 13 para *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y SDD ≥ 15 y R ≤ 14 para *C. glabrata* [16]. En el caso del voriconazol: S ≥ 17 , I entre 15-16, R ≤ 14 para *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y S ≥ 15 , I entre 13-14, R ≤ 12 para *C. krusei* [17].

Para la evaluación de la susceptibilidad a fluconazol y voriconazol de otras especies de *Candida*, así como levaduras de otros géneros, se emplearon los puntos de corte descritos por el CLSI en su documento M44-S2: fluconazol S ≥ 19 , SDD entre 15-18, R ≤ 14 y voriconazol S ≥ 17 , I entre 14-16 y R ≤ 13 [18].

Control de calidad del estudio de susceptibilidad: Se realizó para cada ensayo, utilizando las cepas *C. parapsilosis* ATCC 22019 y *C. krusei* ATCC 6258, suministradas por el Departamento de Micología, del Instituto Nacional de Higiene, Caracas, Venezuela.

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

Resultados

Se evaluaron 60 pacientes, procesándose 194 muestras: 98 hemocultivos (50,5%), 48 urocultivos cuantitativos (24,7%), 46 secreciones traqueales (23,7%) y 2 puntas de catéter (1%). En la tabla 1 se muestran las especies de *Candida* aisladas según el tipo de muestra clínica. Se

Tabla 1. Distribución de las especies de *Candida* aisladas según el tipo de muestra clínica. Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital Universitario de Coro "Dr. Alfredo Van Grieken", abril-octubre 2012. Coro-Falcón, Venezuela.

Especie de <i>Candida</i>	Muestra clínica				Total
	Urocultivo	Secreción traqueal	Punta de catéter	Hemocultivo	
<i>C. tropicalis</i>	13	2	1	-	16 (43,2%)
<i>C. glabrata</i>	5	2	-	-	8 (21,6%)
<i>C. albicans</i>	2	3	-	-	5 (13,5%)
<i>C. parapsilosis</i>	2	3	-	-	2 (5,4%)
<i>C. guilliermondii</i>	2	-	-	-	2 (5,4%)
<i>C. kefyri</i>	-	-	-	-	1 (2,7%)
*Otras levaduras no <i>Candida</i>	3	1	-	-	3 (8,1%)
Total	27 (73,0%)	9 (24,3%)	1 (2,7%)	0	37 (100,0%)

*Complejo *Trichosporon*.

aislaron en total 37 levaduras, de las cuales, el 73% (n=27) se obtuvo de urocultivos en recuento significativo; el resto fue aislado de secreción traqueal (24,3%) y punta de catéter (2,7%). Todos los hemocultivos resultaron negativos. De los urocultivos positivos, en el 76,2% (n=16) se aisló un solo tipo de levadura y en el 23,8% hubo aislamiento mixto (hasta 2 levaduras). Las especies aisladas en orina fueron: *C. tropicalis* (48,2%), *C. glabrata* (18,5%), *C. albicans*, *C. parapsilosis* y *C. guilliermondii* (7,4% c/u) y 3 aislados no *Candida*, correspondientes al Complejo *Trichosporon* (11,1%). De las muestras de secreción traqueal, en la mitad de los casos (n= 3), se aisló un solo tipo de levaduras y en el resto se obtuvieron hasta 2 aislados, identificándose las siguientes especies: *C. albicans* y *C. glabrata* (33,3% c/u), *C. tropicalis* (22,2%) y *C. kefyri* (11,1%). En punta de catéter se aisló, de una muestra, *C. tropicalis*.

C. tropicalis fue la especie más aislada (43,2%), seguida de *C. glabrata* (21,6%), *C. albicans* (13,5%), *C. parapsilosis* (5,4%), *C. guilliermondii* (5,4%) y *C. kefyri* (2,7%) (Tabla 1). Se consideró que esta investigación debería extenderse a pacientes de otros centros de salud regionales, con la finalidad de determinar si esta distribución es autóctona o existen variaciones locales en la frecuencia de las especies de *Candida* señaladas.

Las infecciones mixtas solo se observaron en muestras de orina y secreción traqueal (Tabla 2); no se observó el predominio significativo de alguna combinación de especies en particular y el Complejo *Trichosporon* solo se aisló en muestras de orina, acompañado de otras especies de *Candida*.

Tabla 2. Combinación de aislados obtenidos en muestras de orina y secreción traqueal. Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital Universitario de Coro "Dr. Alfredo Van Grieken", abril-octubre 2012. Coro-Falcón, Venezuela.

Muestra clínica	Combinación de especies aisladas
Orina	<i>C. tropicalis</i> , <i>C. glabrata</i> , Complejo <i>Trichosporon</i>
	<i>C. albicans</i> , Complejo <i>Trichosporon</i>
	<i>C. parapsilosis</i> , Complejo <i>Trichosporon</i>
	<i>C. tropicalis</i> , <i>C. glabrata</i>
Secreción traqueal	<i>C. tropicalis</i> , <i>C. guilliermondii</i>
	<i>C. albicans</i> , <i>C. kefyri</i>
	<i>C. glabrata</i> , <i>C. tropicalis</i>
	<i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i>

El estudio de susceptibilidad a fluconazol evidenció que, de todas las especies de *Candida* evaluadas, el 73% fue sensible, 21,6% sensible dosis dependiente y 5,4% resistente. Para el voriconazol, el 89,2% de los aislados fue sensible, el 8,1% mostró sensibilidad intermedia, mientras que el 2,7% presentó resistencia al antimicótico (Tabla 3).

Tabla 3. Perfil de susceptibilidad de las especies de *Candida* a fluconazol y voriconazol. Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital Universitario de Coro "Dr. Alfredo Van Grieken", abril-octubre 2012. Coro-Falcón, Venezuela.

Especie	Fluconazol				Voriconazol			
	S	S-DD	R	Total	S	I	R	Total
<i>C. tropicalis</i>	15 (93,7%)		1(6,2%)	16	13 (81,2%)	3(18,7%)	-	16
<i>C. glabrata</i>	-	8(100,0%)	-	8	7 (87,5%)	-	1 (12,5%)	8
<i>C. albicans</i>	5 (100,0%)	-	-	5	5(100,0%)	-	-	5
<i>C. parapsilosis</i>	2 (100,0%)	-	-	2	2(100,0%)	-	-	2
<i>C. guilliermondii</i>	1 (50,0%)	-	1(50,0%)	2	2(100,0%)	-	-	2
<i>C. kefyi</i>	1 (100,0%)	-	-	1	1(100,0%)	-	-	1
*Otras levaduras no <i>Candida</i>	3 (100,0%)	-	-	3	3(100,0%)	-	-	3
Total	27 (73,0%)	8 (21,6%)	2 (5,4)	37 (100,0%)	33 (89,2%)	3 (8,1%)	1 (2,7%)	37 (100,0%)

S: Sensible, SDD: sensible dosis dependiente, I: intermedio, R: resistente. *Complejo *Trichosporon*.

El 93,7% de los aislados de *C. tropicalis* fue sensible a fluconazol, observándose resistencia en el 6,2%; todos los aislados de *C. glabrata* fueron SDD, mientras que el 50% de la especie *C. guilliermondii* fue sensible. El resto de los aislados, *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. kefyi* y otras levaduras diferentes a *Candida* (Complejo *Trichosporon*) fueron totalmente sensibles a fluconazol (Tabla 3).

El patrón de susceptibilidad a voriconazol fue diferente: el 81,2% de los aislados de *C. tropicalis* fueron sensibles y 18,7% mostraron sensibilidad intermedia; en *C. glabrata* el 87,5% se mostró sensible y 12,5% resistente, mientras que *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. kefyi* y otras levaduras diferentes a *Candida* (Complejo *Trichosporon*) fueron todas sensibles (Tabla 3).

Discusión

Los resultados de este estudio mostraron un mayor aislamiento de especies de *Candida* diferentes a *C. albicans* en muestras clínicas, similar a la tendencia reportada por otros autores [3-6]. La distribución de las especies de *Candida* puede variar según el área geográfica, el centro hospitalario, el tipo de muestra clínica analizada, incluso hasta el año del reporte, lo que hace difícil comparar los resultados de esta investigación con las frecuencias reportadas en otros países. Estudios multicéntricos realizados en Canadá, Europa, Estados Unidos y Latinoamérica reportan mayor aislamiento de *C. albicans*, sin embargo, la frecuencia en la distribución de las especies diferentes a *C. albicans* varía: en Canadá, Europa y Estados Unidos, *C. glabrata* y *C. parapsilosis* son la segunda y tercera especie más aislada, mientras que en Latinoamérica lo son *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* [6].

Estas variaciones geográficas también se pueden evidenciar a nivel nacional. Estudios realizados en Venezuela señalan que *C. albicans* ocupa el primer lugar (46,7%), seguida de *C. tropicalis* (19%), *C. glabrata* y *C. parapsilosis* (9,2% y 6%, respectivamente) [19]; en esta investigación, *C.*

albicans fue la tercera especie más frecuentemente aislada.

Según el tipo de muestras clínicas, la frecuencia de especies de *Candida* aisladas puede variar. En este estudio, *C. tropicalis* fue la más frecuente en muestras de orina, coincidiendo con lo reportado por De Oliveira *et al* [20]. Sin embargo, en investigaciones nacionales y algunas internacionales, se señala que *C. albicans* es la especie más frecuente, seguida de *C. tropicalis* [19,21,22]. En muestras de secreción traqueal hay coincidencia parcial con los resultados de otros investigadores, siendo *C. albicans* y *C. glabrata* las especies más frecuentemente aisladas [19,23].

C. tropicalis posee la mayor capacidad invasora y se considera que entre el 50-60% de quienes la adquieren desarrollan candidiasis diseminada [24]. Los pacientes más afectados son aquellos con enfermedades hematológicas o receptores de médula ósea y la adquisición es endógena, durante los primeros días de hospitalización en ausencia de profilaxis antifúngica [25,26]. *C. glabrata*, se aísla con mayor frecuencia de pacientes con antecedentes de profilaxis antifúngica con fluconazol y sin terapia antibiótica previa [25].

Se ha estimado que la candiduria afecta hasta al 25% de los pacientes críticos con estancia superior a una semana en UCI y se asocia con mayor mortalidad. El riesgo de candiduria en estos pacientes se relaciona con el sexo femenino, edad superior a 65 años, el tiempo de estancia hospitalaria antes del ingreso en la UCI, diabetes mellitus, ventilación mecánica y el tratamiento antibiótico previo [23,27]. El aislamiento de especies de *Candida* en orina de estos pacientes se considera factor de riesgo para candidiasis invasiva y si a esto se le suma la presencia de *C. tropicalis*, el riesgo pudiera ser mayor. A pesar de que en este estudio no se observó candidiasis diseminada en los pacientes evaluados, la mayoría de los aislados se obtuvieron principalmente de muestras de orina, por lo que se considera que el urocultivo cuantitativo para especies de *Candida*, pudiera ser implementado como prueba de rutina

en pacientes recluidos en UCI, con la finalidad de establecer estrategias terapéuticas y profilácticas adecuadas.

En el 28,6% de las muestras positivas para *Candida* (orina y secreción traqueal) se aislaron dos tipos de levaduras. Los pacientes afectados tenían más de 15 días hospitalizados en UCI, recibían ventilación mecánica y tenían sonda vesical, factores de riesgo para esta condición. La utilización de agar cromogénico permitió detectar las infecciones mixtas, debido a que facilita la visualización de las características macroscópicas de las diferentes especies de *Candida*, situación que se dificulta al realizar el aislamiento en agar Sabouraud u otros medios de cultivo. Es escasa la información en la literatura acerca de la frecuencia de infecciones mixtas por especies de *Candida*, del aislamiento del Complejo *Trichosporon* en orina y sus implicaciones en el pronóstico y tratamiento del paciente.

La susceptibilidad de *C. tropicalis* y *C. glabrata* a fluconazol y voriconazol fue superior a lo reportado por otros autores. Todos los aislados de *C. albicans* y *C. parapsilosis* fueron sensibles a ambos antifúngicos, lo cual está por encima de lo reportado para fluconazol y similar a lo encontrado en la literatura para voriconazol [19,28,29]. El perfil de susceptibilidad observado en las diferentes especies de *Candida* para ambos compuestos, indica que pudieran ser una alternativa terapéutica si las circunstancias del paciente lo permiten.

Es interesante resaltar que *C. glabrata* fue la segunda especie más frecuentemente aislada en este estudio. Probablemente se deba al uso de fluconazol como terapia profiláctica o empírica, lo que trae como consecuencia la selección observada en las especies de *Candida*, coincidiendo con lo reportado por Trick *et al.* [30]. Los constantes informes acerca de la resistencia que desarrolla esta levadura frente a los azoles justifican la evaluación rutinaria de su susceptibilidad a los antifúngicos.

El perfil epidemiológico de las especies de *Candida* aisladas en este estudio se caracterizó por una mayor frecuencia de especies no *albicans*, mostrando un buen patrón de susceptibilidad a fluconazol y voriconazol. Sin embargo, el aislamiento de especies con resistencia intrínseca o secundaria a los antifúngicos y las variaciones en la distribución de la frecuencia de los aislados, hacen necesario extender los estudios de identificación y susceptibilidad de especies de *Candida* a cada centro hospitalario, con la finalidad de conocer su realidad epidemiológica y de esta manera obtener una guía para la instauración del tratamiento antifúngico adecuado y oportuno.

Agradecimientos

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

ejecución de esta investigación.

Referencias

1. Fridkin SK. The changing face of fungal infections in health care setting. *Clin Infect Dis.* 2005; 41:1455-60.
2. Del Palacio A, Alhambra A, Cuétara MS. Factores de riesgo de la candidiasis invasora: estratificación. *Rev Iberoam Micol.* 2006; 23:29-31.
3. Cantón E, Viudes A, Pemán J. Infección sistémica nosocomial por levaduras. *Rev Iberoam Micol.* 2001; 18:51-5.
4. Mujica MT, Finquelievich JL, Jewtuchowicz V, Iovannitti CA. Prevalencia de *Candida albicans* y *Candida no-albicans* en diferentes muestras clínicas. Período 1999-2001. *Rev Arg Microbiol.* 2004; 36:107-12.
5. Messer SA, Jones RN, Fritsche TR. International surveillance of *Candida* spp. and *Aspergillus* spp.: report from SENTRY antimicrobial surveillance program (2003). *J Clin Microbiol.* 2006; 44:1782-7.
6. Pfaller MA, Diekema DJ: Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev.* 2007; 20:133-63.
7. Reboli A, Rotstein C, Pappas P, Chapman S, Kett D, Kumar D, *et al.* Anidulafungin versus fluconazole for invasive candidiasis. *N Engl J Med.* 2007; 356:2472-82.
8. Kett D, Shorr A, Reboli A, Reisman A, Biswas P, Schlamm H. Anidulafungin compared with fluconazole in severely ill patients with candidemia and other forms of invasive candidiasis: support for the 2009 IDSA treatment guidelines for candidiasis. *Crit Care.* 2011; 15:R253.
9. Pemán J, Ramos P, Iglesias I. Capítulo 6. Procesamiento de las muestras de sangre, líquidos estériles y tejidos. En: Pemán J, Martín-Mazuelos E, Rubio M, editores. *Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica.* 1^{era} ed. España: Revista Iberoamericana de Micología; 2001. pp 1-8.
10. Sobel JD, Kauffman CA, McKinsey D, Zervos M, Vázquez JA, Karchmer AW, *et al.* Candiduria: a randomized, double-blind study of treatment with fluconazole and placebo. The National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) Mycoses Study Group. *Clin Infect Dis.* 2000; 30:19-24.
11. García P, Hernández J. Capítulo 7. Procesamiento de las muestras genitourinarias. En: Pemán J, Martín-Mazuelos E, Rubio M, editores. *Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica.* 1^{era} ed. España: Revista Iberoamericana de Micología; 2001. pp 1-9.
12. Sánchez F. Capítulo 5. Procesamiento de las muestras del tracto respiratorio inferior. En: Pemán J, Martín-Mazuelos E, Rubio M, editores. *Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica.* 1^{era} ed. España: Revista Iberoamericana de Micología; 2001. pp 1-12.
13. Maki D, Weise E, Sarafin H. A semiquantitative method for identifying intravenous catheter related infection. *N Engl J Med.* 1977; 23:1305-9.
14. Linares M, Solís F. Capítulo 11. Identificación de levaduras. En: Pemán J, Martín-Mazuelos E, Rubio M, editores. *Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica.* 1^{era} ed. España: Revista Iberoamericana de Micología; 2001. pp 1-18.
15. 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. 2004; 24:1-23.

16. Pfaller MA, Andes D, Diekema DJ, 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 Update*. 2010; 13:180-95.
17. Pfaller MA, Andes D, Arendrup M, Diekema D, Espinel-Ingroff A, Alexander B, *et al*. 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.
18. Clinical and Laboratory Standards Institute. Zone diameter interpretive standards, corresponding minimal inhibitory concentration (MIC) interpretive breakpoints, and quality control limits for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; Informational supplement M44-S2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa. 2007.
19. Dolande M, Reviákina V, Panizo M, Macero C, Moreno X, Calvo A, y col. Distribución y sensibilidad a los antifúngicos de aislamientos clínicos de *Candida* en seis centros de salud del área metropolitana de Caracas, Venezuela (años 2003-2005). *Rev Iberoam Micol*. 2008; 25:17-21.
20. De Oliveira R, Maffei C, Martínez R. Infecção urinária hospitalar por leveduras do gênero *Candida*. *Rev Ass Med Brasil*. 2001; 47:231-5.
21. Voss A, Meis J, Hoogkamp-Korstanje J. Fluconazole in the management of fungal urinary tract infections. *Infection*. 1994; 22:247-51.
22. Febré N, Silva V, Medeiros E, Wey SB, Colombo AL, Fischman O. Microbiological characteristics of yeasts isolated from urinary tracts of intensive care units patients undergoing urinary catheterization. *J Clin Microbiol*. 1999; 37:1584-6.
23. Passos X, Souza W, Maciel P, Rodrigues C, Carvalho K, De Aquino J, *et al*. *Candida* colonization in intensive care unit patients' urine. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005; 100:925-8.
24. Abi-Said D, Anaissie E, Uzun O, Raad I, Pinzowski H, Vartivarian S. The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida* species. *Clin Infect Dis*. 1997; 24:1122-8.
25. Mendoza M. Importancia de la identificación de levaduras. *Rev Soc Ven Microbiol*. 2005; 25:13-21.
26. Sánchez M. Espectro clínico de la candidiasis invasora en el paciente crítico no neutropénico. *Rev Iberoam Micol*. 2006; 23:8-11.
27. Álvarez-Lerma F, Nolla-Salas J, León C, Palomar M, Jordá R, Carrasco N, *et al*. Candiduria in critically ill patients admitted to intensive care medical units. *Intensive Care Med*. 2003; 29:1069-76.
28. Arcaya N, Mesa L, Pineda M, Beltrán-Luengo H, Calvo M. Perfil de sensibilidad antifúngica de especies de *Candida* aisladas de hemocultivos en un Hospital Universitario, Maracaibo, Venezuela. *Rev Iberoam Micol*. 2006; 23:97-100.
29. Zuluaga A, Bedout C, Agudelo C, Hurtado H, Arango M, Restrepo A, Gonzalez A. Sensibilidad a fluconazol y voriconazol de especies de *Candida* aisladas de pacientes provenientes de unidades de cuidados intensivos en Medellín, Colombia (2001-2007). *Rev Iberoam Micol*. 2010; 27:125-9.
30. Trick WE, Fridkin K, Edwards JR, Hajjeh RA, Gaynes RP, and the National Nosocomial Infections Surveillance System Hospitals. Secular trend of hospital-acquired candidemia among intensive care unit patients in the United States during 1989-1999. *Clin Infect Dis*. 2002; 35:627-30.