

## Susceptibilidad a fluconazol y voriconazol por el método de difusión, de cepas de *Candida*, aisladas de hemocultivos en Maracaibo, Venezuela

*Susceptibility to Fluconazole and Voriconazole in Candida Strains Isolated from Blood Culture by Disk Diffusion Method. Maracaibo, Venezuela*

**Perozo, Armindo<sup>1\*</sup>; Calvo, Belinda<sup>2</sup>; Mesa, Luzmila<sup>3</sup> y Pineda, Maritza<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina.  
Centro de Referencia Bacteriológica,  
Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo (SAHUM)

<sup>2</sup>Departamento de Enfermedades Infecciosas.

<sup>3</sup>Departamento de Microbiología, Escuela de Bioanálisis.

<sup>4</sup>Departamento de Medicina Interna, Escuela de Medicina.  
Centro de Referencia Bacteriológica (SAHUM)

Universidad del Zulia

\*aperozomena@cantv.net; aperozomena@interlink.net.ve;

### Resumen

Para determinar la susceptibilidad de cepas de *Candida* aisladas de hemocultivos en nuestro medio, se estudiaron 78 cepas obtenidas de pacientes hospitalizados en diferentes servicios del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo (SAHUM), Venezuela. Para la identificación de especies se usó el medio cromogénico Brilliance *Candida* Agar y Vitek-YBC. Adicionalmente, los cultivos fueron identificados por el método tradicional. La susceptibilidad fue determinada por el método de difusión con discos de fluconazol y voriconazol según la metodología M44-A2 del Clinical Laboratory Standard Institute. La frecuencia de las especies de *Candida* fue: *C. parapsilosis* 51,28%, *C. tropicalis* 15,38%, *C. guilliermondii* 11,54%, *C. albicans* 10,26%, *C. famata* 6,41%, *C. glabrata* 3,85% y *C. krusei* 1,28%. La susceptibilidad fue de 96,15% y 100% para fluconazol y voriconazol, respectivamente. Tres de las 78 cepas, identificadas como *C. albicans*, *C. guilliermondii* y *C. krusei* fueron resistentes a fluconazol. Estos resultados sugieren que fluconazol y voriconazol

---

Recibido: 08-10-11 / Aceptado: 17-11-11

pueden ser utilizados en el tratamiento de pacientes con candidemia en SAHUM, sin embargo, la vigilancia epidemiológica y la determinación de la susceptibilidad de *Candida* deben mantenerse.

**Palabras clave:** Especies de *Candida*, candidemia, hemocultivos, fluconazol, voriconazol.

### Abstract

To determine the susceptibility of *Candida* strains isolated from blood cultures in Maracaibo, Venezuela, 78 strains obtained from hospitalized patients in different services of the autonomous Maracaibo University Hospital, Venezuela, were studied. Chromogenic Medium Brilliance *Candida* Agar and Vitek-YBC were used for species identification. In addition, cultures were assessed using the traditional identification method. Susceptibility was determined by the diffusion method with fluconazole and voriconazole disks, according to the Clinical and Laboratory Standard Institute, Document M44-A2. Frequency of the *Candida* species was: *C. parapsilosis* 51.28%, *C. tropicalis* 15.38%, *C. guilliermondii* 11.54%, *C. albicans* 10.26% *C. famata* 6.41%, *C. glabrata* 3.85% and *C. krusei* 1.28%. Susceptibility was 96.15% and 100% for fluconazole and voriconazole, respectively. Three isolates identified as *C. albicans*, *C. guilliermondii* and *C. krusei* were resistant to fluconazole. These results suggest that fluconazole and voriconazole can be useful in the treatment of patients with candidemia; however, epidemiological surveillance and susceptibility pattern determination of *Candida* must be maintained.

**Keywords:** *Candida* species, candidemia, blood culture, fluconazole, voriconazole.

### Introducción

Las levaduras del género *Candida* se encuentran entre las causas más importantes de las infecciones fúngicas invasoras (1, 2). El uso de los antifúngicos como profilaxis o tratamiento ha influenciado en la aparición de cambios en la epidemiología de la candidemia, y en la sensibilidad de algunas especies, que han sido señaladas como agentes etiológicos de dicha infección (3-5). Por lo antes expuesto se hace necesario determinar la sensibilidad *in vitro* de los antifúngicos en especies de *Candida*, para hacer una selección más adecuada de su uso.

Métodos de dilución para evaluar la susceptibilidad han sido propuestos por Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI/NCCLS) y European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), los cuales permiten determinar las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM); sin em-

bargo, son laboriosos y costosos para los laboratorios clínicos (6, 7).

Otro método basado sobre una combinación de los conceptos de dilución y difusión es E-test. Este método consiste en una tira, la cual presenta un gradiente estable, predefinido y constante de la droga. Este gradiente lo diferencia de los métodos de dilución y difusión (8).

No obstante, ambos métodos son costosos para ser utilizados rutinariamente para la determinación de susceptibilidad de levaduras. Ante la necesidad de un método alternativo más sencillo, rápido, y menos costoso para determinar la susceptibilidad a los antifúngicos, y que pueda ser disponible en los laboratorios de Microbiología Clínica, las investigaciones han sugerido el uso de difusión con discos (9-12). Los resultados son concordantes al compararlo con los métodos de referencia por dilución en caldo (10-15). El CLSI desarrolló un método de difusión con

discos para especies de *Candida*. La ventaja más significativa de este método es que resultados cualitativos pueden ser obtenidos después de 20 a 24 horas de incubación, en oposición a los métodos de dilución que requieren mayor tiempo y son más laboriosos. El método está aprobado para fluconazol, voriconazol y caspofungina. Es sencillo y más económico, ya que los discos son colocados sobre agar Mueller-Hinton con glucosa y azul de metileno (CLSI documento, M44 A2) (16).

En Venezuela se ha determinado la susceptibilidad levaduras a los antifúngicos, no obstante, un cambio en la epidemiología de especies de *Candida* ha sido notado (17-19).

Con el objetivo de evaluar la susceptibilidad a los antifúngicos de cepas de *Candida* aisladas a partir de hemocultivo en nuestro medio, se utilizó el método de difusión con discos de fluconazol y voriconazol.

## Material y método

Se estudiaron setenta y ocho (78) aislados de *Candida*, obtenidas a partir de hemocultivos del Centro de Referencia Bacteriológica (CRB) del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo (SAHUM), Venezuela; de los Servicios de UCI adulto y pediátrico, y Servicios no UCI con especialidades y subespecialidades de Medicina Interna, Cirugía, Pediatría y Obstetricia, y fueron obtenidos entre 2007 y 2010. Las patologías más frecuentemente observadas fueron sepsis, tumores sólidos y patología abdominales.

Los hemocultivos fueron procesados con el sistema automatizado Bact-Alert (bioMérieux).

### Identificación de los microorganismos

Los cultivos de *Candida* spp. fueron identificados por el medio cromogénico Brilliance *Candida* Agar (Oxoid) y la tarjeta YBC

del sistema automatizado Vitek (bioMérieux) (20), en el CRB. Adicionalmente, las cepas fueron evaluadas mediante el uso del método tradicional, empleando pruebas morfológicas y fisiológicas en el Laboratorio de Micología de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia. Los resultados de especies de *Candida* obtenidos por Vitek-YBC y el método tradicional que no coincidían fueron estudiados por ID 32 (bioMérieux) (21, 22). Se siguieron las recomendaciones del fabricante para la metodología empleada con los medios o equipos comerciales antes mencionados.

Las pruebas morfológicas y fisiológicas utilizadas para la metodología tradicional fueron: pruebas de filamentización (técnica de Dalmau) en Agar Tween 80 Crema de Arroz, la fermentación de azúcares por la técnica de Wickerham y la asimilación de carbohidratos por la técnica auxonográfica en placa (23).

### Método de susceptibilidad por difusión con disco

La determinación de la susceptibilidad a fluconazol y voriconazol por el método del disco a las cepas de levaduras estudiadas, se realizaron en el CRB del SAHUM, se siguieron las recomendaciones del documento M44-A2 del CLSI. Para ello, a partir de un cultivo de 24 horas a 35°C en agar Sabouraud, se preparó una suspensión en solución salina (0,85%), la cual se ajustó por comparación al patrón 0,5 de la escala McFarland equivalente a  $1-5 \times 10^6$  UFC/mL. Posteriormente se inoculó con un hisopo esta suspensión en la superficie de una placa de agar Müller Hinton suplementado con 2% de glucosa y 0,5 µg/mL de azul de metileno. Luego se colocaron los discos de fluconazol (25µg) y Voriconazol (1µg) (Oxoid). Se incubaron las placas de 20 a 24 horas a 35°C. Se procedió a la lectura, y en el caso de observar

crecimiento insuficiente a las 24 horas, las placas se reincubaron 24 horas más antes de la lectura final.

Para la lectura e interpretación de los resultados, se utilizaron los puntos de corte señalados en el documento M44-A2 del CLSI. La Tabla 1 muestra los criterios de interpretación utilizados para la lectura de la prueba. Para el control de calidad del método del disco se utilizaron las cepas *C. krusei* ATCC 6258, *C. albicans* ATCC 90028 y *C. parapsilosis* ATCC 22019, siguiendo los lineamientos del CLSI. La susceptibilidad a fluconazol y voriconazol fue expresada en porcentajes.

## Resultados

Se identificaron ocho (8) *Candida albicans*, y setenta (70) *Candida no C.albicans*. Las especies no *C. albicans* correspondieron a cuarenta (40) *Candida parapsilosis*, doce

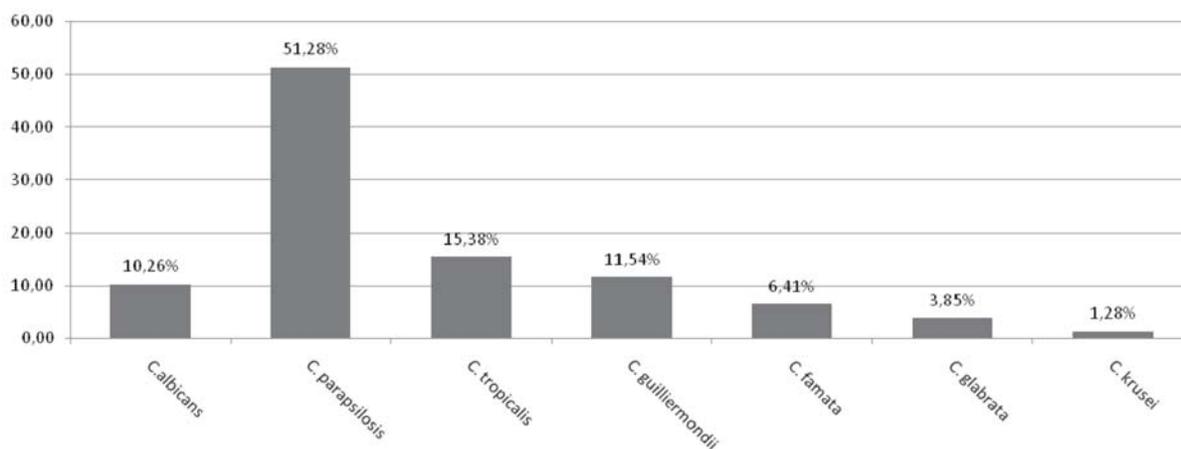
(12) *Candida tropicalis*, nueve (9) *Candida guilliermondii*, cinco (5) *Candida famata*, tres (3) *Candida glabrata*, y una (1) *Candida krusei* (Figura 1).

La determinación de la susceptibilidad por el método de difusión con discos mostró que los aislados estudiados fueron 96,15% y 100% susceptibles (S) a fluconazol y voriconazol, respectivamente. No hubo aislados susceptibles dosis dependiente (SDD) a fluconazol, ni voriconazol. En la categoría resistente (R) se encontró el 3,84% de los aislados al fluconazol, sin embargo, ninguno fue resistente a voriconazol (Tabla 2).

Al estudiar la susceptibilidad según la especie se observó que entre los aislados de *C. albicans* 87,50% fueron S para fluconazol, y 100% a voriconazol. Entre las especies no *C. albicans* se encontró que los aislamientos de *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. famata* y *C. glabrata* fueron 100% S a las dos drogas.

**Tabla 1.** Criterios de interpretación del CLSI para las pruebas de susceptibilidad por el método de difusión con disco.

Antimicrobiano	Concentración (µg/mL)	Susceptible	Susceptible Dosis Dependiente	Resistente
Fluconazol	25	≥19	15-18	≤14
Voriconazol	1	≥17	14-16	≤13



**Figura 1.** Distribución de las especies de *Candida* aisladas a partir de hemocultivos de pacientes del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo.

Respecto a *C. guilliermondii*, 88,88% y 100% de las cepas fueron S a fluconazol y voriconazol, respectivamente. En relación a *C. krusei*, el único aislado obtenido fue R a fluconazol, pero S a voriconazol (Tabla 3).

Los aislamientos SDD y R fueron investigados adicionalmente por el método de microdilución (método de referencia), y correspondieron a un aislamiento de *C. krusei*, uno de *C. albicans*, y uno de *C. guilliermondii*. Se observó cambios en la categoría de susceptibilidad en la cepa de *C. albicans*.

## Discusión

El aumento de aislamientos de *Candida* no *C. albicans*, y cambios en la distribución de *Candida* spp. ha sido descrito, principal-

mente en estudios realizados en América Latina (24-29). En nuestro medio nosotros encontramos en datos publicados en 2010, que especies de *Candida* no *albicans*, aisladas de hemocultivos representaron 89,7% del total de levaduras del género *Candida*, con predominio de *C. parapsilosis* (19). Estos resultados confirman el incremento de las cepas *Candida* no *albicans* con respecto a nuestra publicación anterior en 2005, en la cual a estas especies les correspondió 66,3% de las candidemias, con predominio de *C. tropicalis* (24). Ambas investigaciones fueron realizadas en la misma institución. Estos cambios sugieren la necesidad de una vigilancia constante de la epidemiología de candidemia, así como también del conocimiento de la susceptibilidad a los antifúngicos más usados.

**Tabla 2.** Porcentajes de susceptibilidad a fluconazol y voriconazol, según categorías, obtenidos con el grupo de aislados de *Candida* spp., por el método de difusión con Disco-CLSI. Maracaibo, Venezuela.

Categoría de Susceptibilidad	Fluconazol Nº (%)	Voriconazol Nº (%)
Susceptibles	75/78 (96,15%)	78/78 (100%)
Susceptibles Dosis Dependiente	0/78 (0%)	0/78 (0%)
Resistentes	3/78 (3,84%)	0/78 (0%)

**Tabla 3.** Porcentaje de susceptibilidad a fluconazol y voriconazol, según especie de *Candida*, determinada por el método de difusión con disco-CLSI. Maracaibo, Venezuela.

Especie de <i>Candida</i>	Susceptibilidad	
	Fluconazol Nº (%)	Voriconazol Nº (%)
<i>C. albicans</i>	7/8 (87,50%)	8/8 (100%)
<i>C. parapsilosis</i>	40/40 (100%)	40/40 (100%)
<i>C. tropicalis</i>	12/12 (100%)	12/12 (100%)
<i>C. guilliermondii</i>	8/9 (88,88%)	9/9 (100%)
<i>C. famata</i>	5/5 (100%)	5/5 (100%)
<i>C. glabrata</i>	3/3 (100%)	3/3 (100%)
<i>C. krusei</i>	0/1 (0%)	1/1 (100%)

En el presente estudio, al determinar la susceptibilidad de especies de *Candida* se obtuvieron 96,15% y 100% cepas S a fluconazol y voriconazol, respectivamente. Cabe resaltar que todas las especies estudiadas fueron susceptibles a voriconazol. Elevados porcentajes (>90%) de susceptibilidad a ambas drogas estudiadas, fueron reportados en previas investigaciones, no obstante, algunas especies han mostrado disminución de la susceptibilidad (4, 5, 15, 28, 30-32). Además, al comparar los resultados de S al fluconazol de esta serie, con los obtenidos para este mismo antifúngico en nuestros datos publicados en 2006, analizados por microdilución (33) encontramos que son similares, lo cual sugiere que no se modificó la susceptibilidad a fluconazol. Sin embargo, notamos diferencias con otros autores en casuísticas recientes de Venezuela y Colombia, las cuales presentan una susceptibilidad menor de fluconazol y voriconazol con respecto a nuestros resultados (18, 29). La diferencia pudo estar influenciada porque en estos últimos hubo un mayor número de muestras. En el trabajo de Reyes y cols. en Venezuela (18), con cepas obtenidas de candidemias, se señala que hubo una mayor actividad del voriconazol en relación al fluconazol contra todas los aislamientos, excepto para *C. tropicalis*; y una variada susceptibilidad a fluconazol, de cepas de *Candida* no *albicans*. Así mismo, Zuluada y col. (29), con aislamientos de pacientes hospitalizados en varias unidades de cuidados intensivos en Colombia, que incluyó hemocultivos (57,9%), líquidos peritoneales (32,9%) y otros sitios corporales (biopsia de órganos profundos, abscesos cerrados, líquidos pleurales, líquido cefalorraquídeo), se encontró para fluconazol 78,3% de S, 11,9% de SDD y 9,8% de R; y para voriconazol, 94% de S, 2,4% de SDD y 3,6% de R. La diferencia encontrada con nuestros resultados podría de-

berse a que en este último estudio se analizaron cepas de otros sitios diferentes a hemocultivos, y en el cual todos los pacientes se encontraban en unidades de cuidados intensivos, en las cuales el uso de antibióticos y antifúngicos es mayor, a diferencia que en nuestra investigación en la cual hubo pacientes de UCI y servicios no UCI.

Ha sido observado que el método de difusión con disco no separa bien los aislados SDD y R, por lo que ha sido recomendado, repetir el estudio de esas cepas con el método de referencia (9, 11). Los aislados SDD y R de la presente investigación fueron estudiados por microdilución y la cepa de *C. albicans* se ubicó en otra categoría de susceptibilidad para ambos antifúngicos, este aislamiento fue SDD por el método difusión con disco y se ubicó como R al estudiarlo por el método de referencia para fluconazol; la misma cepa fue S al método de difusión con disco, pero SDD en microdilución, para voriconazol. Por lo antes señalado, algunos autores han considerado que aislamientos procedentes de pacientes con falla de tratamiento y episodios recidivantes deben ser analizadas con el método de referencia (30).

En este estudio cabe resaltar la disminución aislamientos de *C. albicans* y el aumento de la frecuencia de aislamientos de *C. parapsilosis* y *C. guilliermondii*, estos dos últimos considerados como patógenos emergentes (34,35). En una casuística de candidemia se encontró a *C. parapsilosis* como la especie de *Candida* no *albicans* con más bajo porcentaje de letalidad (36).

Al analizar los resultados de susceptibilidad según la especie de *Candida*, algunos investigadores (4, 5) han referido que *C. glabrata*, *C. krusei*, y más recientemente *C. parapsilosis* y *C. guilliermondii*, entre otras, presentan susceptibilidad disminuida a fluconazol. En nuestro país (18) ha sido obser-

vado resistencia a fluconazol en 8,3%, 16,4% y 100% para cepas de *C. guilliermondii*, *C. glabrata* y *C. krusei*, respectivamente. También en el trabajo de Zuloaga y cols. (29) se encontraron cepas R a fluconazol en 14,9%, 18,8%, 50% y 100% de *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii* y *C. krusei*, respectivamente. Todas las cepas de *C. parapsilosis* y *C. glabrata* de esta serie presentaron 100% de susceptibilidad a fluconazol y voriconazol; sin embargo, el único aislamiento de *C. krusei* y uno de los aislados de *C. guilliermondii* resultaron resistentes a fluconazol. Un mayor número de casos son necesarios para confirmar estos hallazgos.

En conclusión, a pesar que en nuestro medio se ha observado un cambio en la epidemiología de la distribución de las especies de *Candida* en hemocultivos, se mantiene una buena actividad de fluconazol y voriconazol a las especies de *Candida* más comúnmente aisladas, según el método de difusión con discos del CLSI, por lo tanto el uso de ambos antifúngicos pueden ser utilizados en pacientes con candidemia, hasta que la identificación y determinación de pruebas de susceptibilidad sean disponibles, o según los antecedentes y evolución clínica del paciente lo permitan. Estos resultados sugieren además, que es necesaria la vigilancia epidemiológica de las infecciones fúngicas invasoras a través de la identificación y determinación de la susceptibilidad de especies de *Candida*. En relación al uso del método de difusión con discos de fluconazol y voriconazol, el cual por ser menos costoso y laborioso, y presentar una concordancia adecuada con el método de referencia, puede ser utilizado en laboratorios clínicos, sin embargo, el mismo no sustituye a la microdilución, por lo tanto aislados provenientes de pacientes inmunocomprometidos deben ser adicionalmente estudiados por el método de referencia.

## Agradecimientos

Laboratorios Pfizer por la donación de parte de los materiales necesarios para la identificación y susceptibilidad empleados en esta investigación.

## Referencias bibliográficas

- (1) Rabagliati R, Fuentes G, Guzmán AM, Orellana E, Oporto J, Acedo I, et al. Enfermedad fúngica invasora en pacientes hemato-oncológicos y receptores de trasplante de precursores hematopoyéticos bajo la perspectiva de los criterios diagnósticos EORTC/MSG. *Rev Chil Infect* 2009; 26 (3): 212-219.
- (2) Person AK, Kontoyiannis DP, Alexander BD. Fungal Infections in Transplant and Oncology Patients. *Infect Dis Clin North Am*. 2010; 24: 439-459.
- (3) Pfaller MA, Diekema DJ. Role of Sentinel Surveillance of Candidemia: Trends in Species Distribution and Antifungal Susceptibility. *J Clin Microbiol*. 2002; 40: 3551-3557.
- (4) Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Meis JF, Gould IM, et al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2005: an 8.5-Year Analysis of Susceptibilities of *Candida* Species and Other Yeast Species to Fluconazole and Voriconazole Determined by CLSI Standardized Disk Diffusion Testing. *J Clin Microbiol*. 2007; 45:1735-1745.
- (5) Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Ellis D, Tullio V, et al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-Year Analysis of Susceptibilities of *Candida* Species to Fluconazole and Voriconazole as Determined by CLSI Standardized Disk Diffusion. *J. Clin. Microbiol*. 2010; 48: 1366-1377.
- (6) National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2002. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Approved standard. NCCLS document M27-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.

- (7) EUCAST Definitive Document EDef 7.1: Method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts. Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (AFST) of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Clin. Microbiol Infect 2008; 14:398-405.
- (8) AB Biodisk, 1993. E-test technical guide N° 4: antifungal susceptibility testing of yeast, AB Biodisk, Solna, Sweden.
- (9) Sandven P. Detection of Fluconazole-Resistant *Candida* Strains by a Disk Diffusion Screening Test. J. Clin. Microbiol. 1999; 37: 3856-3859.
- (10) Lee S, Fung Ch, Lee N, See L, Huang J, Tsai Ch, Chen K, et al. Fluconazole Disk Diffusion Test with Methylene Blue- and Glucose-Enriched Mueller-Hinton Agar for Determining Susceptibility of *Candida* Species. J Clin Microbiol. 2001; 39: 1615-1617.
- (11) Matar MJ, Ostrosky-Zeichner L, Paetznick VL, Rodriguez JR, Chen E, Rex JH. Correlation between E-Test, Disk Diffusion, and Microdilution Methods for Antifungal Susceptibility Testing of Fluconazole and Voriconazole. Antimicrob Agents Chemother. 2003; 47: 1647-1651.
- (12) Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA, Boyken L, Hollis RJ. Activities of Fluconazole and Voriconazole against 1,586 Recent Clinical Isolates of *Candida* Species Determined by Broth Microdilution, Disk Diffusion, and Etest Methods: Report from The ARTEMIS Global Antifungal Susceptibility Program, 2001. J Clin Microbiol. 2003 41: 1440-1446.
- (13) Barry AL, Pfaller MA, Rennie RP, Fuchs PC, Brown SD. Precision and Accuracy of Fluconazole Susceptibility Testing by Broth Microdilution, Etest, and Disk Diffusion Methods. Antimicrob Agents Chemother. 2002 46: 1781-1784.
- (14) Rubio MC, Gil J, Ramírez-Ocáriz I, Benito R, Rezusta A. Comparison of Results Obtained by Testing with Three Different Agar Media and by the NCCLS M27-A Method for In Vitro Testing of Fluconazole against *Candida* spp. J Clin Microbiol. 2003; 41: 2665-2668.
- (15) Hazen KC, Baron EJ, Colombo AL, Girmenia C, Sanchez-Sousa A, del Palacio A, et al. Comparison of the Susceptibilities of *Candida* spp. to Fluconazole and Voriconazole in a 4-Year Global Evaluation Using Disk Diffusion. J Clin Microbiol. 2003; 41: 5623-5632.
- (16) Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI). 2009. Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeast, Approved Guideline-Second Edition. CLSI document M44-A2.
- (17) Dolande M, Panizo M, Reviákina V, Ferrara G, Moreno X, Macero C et al. Candidemia en Venezuela. Red de Vigilancia a los Antifúngicos. Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", Caracas-Venezuela. XVII Jornadas Nacionales y XV Zulianas de Infectología: Bol Venez Infectol 2009; 20:63.
- (18) Reyes H, Pabón R, Torres J, Báez N, Mejía E, Santiago A. Susceptibilidad Antifúngica al Fluconazol y Voriconazol, en Pacientes Hospitalizados con Candidemia en los Hospitales Universitario de Caracas y "Dr. Domingo Luciani". Caracas-Venezuela. XVII Jornadas Nacionales y XV Zulianas de Infectología: Bol Venez Infectol 2009; 20:63.
- (19) Calvo B, Mesa L, Perozo A, Pineda M, Beltrán-Luengo H. Cambios en la Distribución de Especies de *Candida* Aisladas de Hemocultivos, en Pacientes del Servicio Autónomo del Hospital Universitario de Maracaibo, Venezuela. Kasmera 2010; 38: 106-117.
- (20) Fenn JP, Segal H, Barland B, Denton D, Whisenant J, Holy Ch, et al. Comparison of updated Vitek Yeast Biochemical Card and API 20 C Yeast Identification Systems. J Clin Microbiol 1994; 32:1184-87.
- (21) Land GA, Harrison BA, Hulme KL, Cooper BH, Byrd JC. Evaluation of new API 20C for yeast identification against conventional method. J Clin Microbiol 1979; 10:357-64.
- (22) Ramani R, Gromadzki S, Pincus D, Salkin I, Chatuverdi V. Efficacy of API 20 C and ID 32C Systems for Identification of Common and Rare Clinical Yeast Isolates. J Clin Microbiol 1998; 36:3396-98.
- (23) Krutzman C, Fell V. The Yeast, a taxonomic study. 4<sup>a</sup> ed. Elsevier Science. B.V.Amsterdam; 1998. 1055pp.

- (24) Mesa L, Arcaya N, Pineda M, Beltrán H, Calvo, B. Candidemia en el Hospital Universitario de Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela 2000-2002. *Rev Soc Ven Microbiol* 2005; 25:109-13.
- (25) Colombo A, Nucci M, Park B, Nouér S, Arthington-Skaggs B, da Matta D, Warnock B, Morgan J. For the Brazilian Network Candidemia Study. Epidemiology of Candidemia in Brazil: a Nationwide Sentinel Surveillance of Candidemia in Eleven Medical Centers. *J Clin Microbiol*. 2006, 44: 2816-2823.
- (26) Colombo A, Guimeraes T, Silva L, Almeida LP; Cunha AV, Rady P et al. Prospective Observational Study of Candidemia in Sao Paulo, Brasil: Incidence, Rate, Epidemiology and Predictors of Mortality. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007; 28:570-76.
- (27) Dolande M, Reviákina V, Panizo M, Macero C, Moreno X, Calvo A et al. 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 Iber Micol*. 2008; 25:41-45.
- (28) González G, Elizondo M, Ayala J. Trends in Species Distribution and Susceptibility of Bloodstream Isolates of *Candida* Collected in Monterrey, Mexico, to Seven Antifungal Agents: Results of a 3-Year (2004 to 2007) Surveillance Study. *J Clin Microbiol*. 2008; 46:2902-05.
- (29) Zuluaga A, de Bedout C, Agudelo C, Hurtado H, Arango M, Restrepo A, et al. 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) Rodero L, Córdoba S, Vivot W, Campo M, Corfield P, Olguín C, et al. Método de difusión con discos para la determinación de sensibilidad a fluconazol en aislamientos de *Candida* spp. *Rev Argent Microbiol*. 2006; 38: 155-63.
- (31) Córdoba S, Vivot W, Isla G, Taverna C, Szusz W, Davel G. Utilidad de tres métodos por difusión para detectar resistencia a fluconazol y voriconazol en *Candida* spp. de origen clínico. *Rev Enferm Infecc Emergentes*. 2009; 4: 30-32.
- (32) Torres N, Álvarez C, Rondón M. Evaluación mediante tres técnicas de susceptibilidad a fluconazol en especies de *Candida* aisladas en pacientes con infecciones invasoras. Bogotá – Colombia. *Rev Chil Infect*. 2009; 26 (2): 135-143.
- (33) Arcaya N., Mesa L., Pineda M., Beltrán-Luengo H., Calvo B. Perfil de sensibilidad antifúngica de especies de *Candida* aisladas de hemocultivos en un Hospital Universitario, Maracaibo, Venezuela. *Rev Iberoam Micol*. 2006; 23:97-100.
- (34) Trofa D, Gácsér A, Nosanchuk J. *Candida parapsilosis*, an Emerging Fungal Pathogen. *Clin Microbiol Rev*. 2008; 21:606-625.
- (35) Pfaller MA, Diekema DJ, Mendez M, Kibbler C, Erzsebet P, Chang S. et al. *Candida guilliermondii*, an Opportunistic Fungal Pathogen with Decreased Susceptibility to Fluconazole: Geographic and Temporal Trends from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program. *J Clin Microbiol*. 2006; 40: 3551-3556.
- (36) Horn D, Neofytos D, Anaissie E, Fishman J, Steinbach W, Olyaei A et al. Epidemiology and Outcomes of Candidemia in 2019 Patients: Data from the Prospective Antifungal Therapy Alliance Registry. *Clin Infect Dis*. 2009; 48: 1695-1703.