

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

Sensibilidad *in vitro* de cepas de *Candida* frente a fluconazol y anfotericina B

Lic. Carlos M. Fernández Andreu,¹ Dr. Gerardo Martínez Machín,² Dra. María T. Illnait Zaragozí,² Dra. Mayda R. Perurena Lancha,³ Dr. Adalberto Águila Sánchez⁴ y Dr. Miguel Brito Galloso⁵

RESUMEN

Las pruebas de sensibilidad *in vitro* a los agentes antifúngicos se han convertido en una necesidad actual de los laboratorios de micología médica. Se determinó la concentración mínima inhibitoria de 210 cepas de levaduras del género *Candida* aisladas de pacientes VIH/SIDA que presentaban lesiones orales, con el objetivo de conocer la sensibilidad a fluconazol y anfotericina B. Fue utilizado un micrométodo de dilución según el protocolo M27A2 del CLSI. *C. albicans* fue la especie predominante (62,4 %), seguida, en orden de frecuencia, de *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* y *C. tropicalis*. Frente a la anfotericina B el valor de la moda y la CMI₅₀ fue de 0,125 µg/mL, lo que indica la efectividad *in vitro* de este fármaco. Solo una cepa (*C. krusei*) mostró una concentración mínima inhibitoria superior a 1 µg/mL. De las cepas, 8,1 % resultó resistente al fluconazol y 8,1 % sensible dependiente de la dosis. Las especies que se comportaron menos sensibles fueron *C. krusei* y *C. glabrata*. Los resultados obtenidos sentaron las bases para estudios más amplios en el medio cubano y sugirieron la necesidad de continuar la vigilancia del comportamiento de los aislamientos clínicos de levaduras frente a los agentes antifúngicos.

Palabras clave: Pruebas de sensibilidad antifúngica, anfotericina B, fluconazol, *Candida albicans*, *Candida* spp.

Las pruebas de sensibilidad a los antifúngicos constituyen en la actualidad una de las principales líneas de investigación en muchos laboratorios de referencia debido, entre otras causas, al incremento del número de micosis en el mundo entero, la disponibilidad de nuevos agentes antifúngicos, la aparición de nuevas especies de hongos patógenos emergentes y los cada vez más frecuentes reportes de resistencia asociados a fallos terapéuticos, especialmente en pacientes inmunodeprimidos o con determinadas enfermedades de base, en los cuales las infecciones por *Candida* se encuentran entre las más frecuentes.¹⁻³

Es bien conocido que la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) provoca una alteración y disminución de la inmunidad celular del paciente, con la consiguiente aparición de infecciones oportunistas, en muchos casos con una elevada mortalidad. Las infecciones orales han estado siempre entre las más frecuentes en los pacientes seropositivos y enfermos de SIDA; se ha señalado que hasta 90 % de ellos presentan lesiones orales, y las candidiasis resultan las infecciones más frecuentes.⁴

En los últimos años se han logrado importantes avances en la estandarización de las pruebas

¹ Doctor en Ciencias de la Salud. Investigador Titular. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK).

² Especialista de II Grado en Microbiología. Investigador Auxiliar. IPK.

³ Máster en Bacteriología Micología. Investigador Auxiliar. IPK.

⁴ Especialista de I Grado en Microbiología. IPK.

⁵ Especialista de I Grado en Microbiología. Hospital Pediátrico "William Soler", Ciudad de La Habana.

de susceptibilidad *in vitro* a los antifúngicos, y ya en la actualidad se cuenta con protocolos de referencia que permiten la comparación y validación de los resultados y, en algunos casos, pueden contribuir a la implementación de la terapéutica adecuada.³ Sin embargo, en Cuba, estos trabajos han sido limitados^{5,6} y es muy poco lo que se conoce sobre el perfil de susceptibilidad antifúngica en hongos patógenos, en general, y en cepas de *Candida* en particular, incluidas las aisladas de individuos seropositivos al VIH y enfermos de SIDA, lo que resulta de gran importancia tanto terapéutica como epidemiológica porque permitiría conocer los patrones de sensibilidad a los fármacos antifúngicos y detectar la emergencia y circulación de cepas resistentes en el país.

Teniendo en consideración estos aspectos, en el Laboratorio de Micología del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK), como centro nacional de referencia, se evaluó la sensibilidad de 210 aislamientos de levaduras del género *Candida*, mediante la determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI), de 2 de los fármacos más utilizados en la terapéutica de las micosis: fluconazol y anfotericina B.

MÉTODOS

Microorganismos: se estudiaron 210 aislamientos de levaduras procedentes de pacientes VIH/SIDA que presentaban lesiones orales, hospitalizados en el IPK: 131 *Candida albicans*, 27 *C. glabrata*, 12 *C. parapsilosis*, 12 *C. krusei*, 10 *C. tropicalis*, 8 *C. lusitaniae*, 6 *C. kefyr*, y 4 *C. guilliermondii*. Como controles de calidad fueron utilizadas las cepas *C. krusei* ATCC 6258 y *C. parapsilosis* ATCC 22019.

Agentes antifúngicos: la anfotericina B (*SIGMA*) fue disuelta en dimetilsulfóxido (DMSO) y el fluconazol (*Pfizer*) en agua destilada. En ambos casos se prepararon soluciones "madres" de 2 000 µg/mL y las diluciones de trabajo de 1 280 µg/mL, a partir de las cuales se hicieron diluciones dobles seriadas en agua destilada hasta obtener concentraciones finales desde 64 hasta 0,125 µg/mL.

Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI): se realizó por el

micrométodo de dilución en el medio líquido RPMI 1640, según el protocolo M27A2 del entonces *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, siglas en inglés, actualmente *Clinical and Laboratory Standard Institute*, CLSI).⁷ Se adoptaron los valores de corte recomendados en este documento: para el fluconazol, los aislamientos con una CMI ≤ 8 µg/mL se consideraron sensibles (S); entre 16 y 32 µg/mL se clasificaron sensibles dependientes de la dosis (SDD) y aquellos que tuvieron una CMI ≥ 64 µg/mL, como resistentes (R) a este fármaco.^{7,8} Para la anfotericina B aún no se han establecido los valores de corte.

La CMI de anfotericina B se definió como la menor concentración del antifúngico que es capaz de evitar todo crecimiento visible, comparado con el control de crecimiento (sin antifúngico), mientras que la CMI de fluconazol fue definida como la menor concentración del fármaco que causa una inhibición de 50 % del crecimiento, en comparación con el control sin antifúngico.⁷

Análisis estadístico: se determinaron los intervalos y las modas de los valores de CMI obtenidos. La CMI₅₀ y la CMI₉₀ fueron definidas como las menores concentraciones del antifúngico que inhiben a 50 y 90 % de las cepas, respectivamente, y fueron calculados a partir de los porcentajes acumulativos del número de cepas inhibidas a las diferentes concentraciones empleadas de cada antifúngico.

RESULTADOS

En la tabla 1 se puede observar la respuesta de cada especie frente a los 2 antifúngicos evaluados, mediante el intervalo de valores de CMI y los valores de la moda, CMI₅₀ y CMI₉₀, expresados en µg/mL. La menor concentración empleada de anfotericina B (0,125 µg/mL) fue suficiente para inhibir 50 % de todas las cepas, mientras que la CMI₉₀ fue de 0,25 µg/mL. Las especies con un intervalo más amplio fueron *C. krusei* (0,125-2 µg/mL) dado por un aislamiento con CMI igual a 2 µg/mL y *C. albicans* (0,125-1 µg/mL) con un aislamiento de CMI igual a 1 µg/mL. El valor de la moda para todas las especies fue de 0,125 µg/mL.

TABLA 1. Valores de los intervalos, moda, CMI₅₀ y CMI₉₀ (µg/mL) de anfotericina B y fluconazol frente a las especies estudiadas

Especies (n/%)	Intervalo	Anfotericina B			Fluconazol			
		Moda	CMI ₅₀ *	CMI ₉₀ *	Intervalo	Moda	CMI ₅₀ *	CMI ₉₀ *
<i>C. glabrata</i> (27/12,8)	0,125 -0,25	0,125	0,125	0,25	0,125 ≥ 64	32	16	64
<i>C. parapsilosis</i> (12/5,7)	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125-4	1	1	2
<i>C. krusei</i> (12/5,7)	0,125 -2	0,125	0,125	0,5	8 ≥ 64	64	64	64
<i>C. tropicalis</i> (10/4,7)	0,125 -0,25	0,125	0,125	0,25	0,125 - 1	0,5	0,5	0,5
<i>C. lusitaniae</i> (8/3,8)	0,125	-	-	-	0,125 - 0,5	-	-	-
<i>C. kefyr</i> (6/2,8)	0,125	-	-	-	0,125 - 1	-	-	-
<i>C. guilliermondii</i> (4/1,9)	0,125	-	-	-	0,125 - 16	-	-	-
Total "no- <i>C. albicans</i> " (79/37,6)	0,125 - 2	0,125	0,125	0,25	0,125 ≥ 64	1	1	64
<i>C. albicans</i> (131/624)	0,125 - 1	0,125	0,125	0,5	0,125 ≥ 64	0,25	0,25	2
Total	0,125 - 2	0,125	0,125	0,25	0,125 ≥ 64	0,25	0,5	32

* Los valores de CMI₅₀ y CMI₉₀ fueron calculados para las especies con 10 cepas aisladas o más.

TABLA 2. Sensibilidad al fluconazol de las cepas de *Candida* estudiadas, según CLSI M27-A2 (2002)

Especies (n)	Sensibles		Sensibles dependientes de la dosis		Resistentes	
	No.	%	No.	%	No.	%
<i>C. glabrata</i> (27)	13	48,1	11	40,7	3	11
<i>C. parapsilosis</i> (12)	12	100	0	-	0	-
<i>C. krusei</i> (12)*	0	0	0	0	12	100
<i>C. tropicalis</i> (10)	10	100	0	-	0	-
<i>C. lusitaniae</i> (8)	8	100	0	-	0	-
<i>C. kefyr</i> (6)	6	100	0	-	0	-
<i>C. guilliermondii</i> (4)	2	50	2	50	0	-
Subtotal (79) "No- <i>C. albicans</i> "	51	64,5	13	16,4	15	18,9
<i>C. albicans</i> (131)	125	95,4	4	3	2	1,5
Total (210)	176	83,8	17	8,1	17	8,1

* *C. krusei* se considera resistente a fluconazol, independientemente del valor de CMI.

Frente al fluconazol, los valores más altos de las modas se encontraron en *C. krusei* y *C. glabrata* (64 y 32 µg/mL, respectivamente). Para el conjunto de las cepas diferentes de *C. albicans* el valor de la moda fue de 1 µg/mL, mientras que para *C. albicans* fue de 0,25 µg/mL. El valor de la CMI₅₀ para la totalidad de las especies fue de 0,5 µg/mL, en un intervalo de 0,125 = 64 µg/mL. Los valores más altos de CMI₉₀ también se encontraron en *C. krusei* y *C. glabrata* (> 64 y 64 µg/mL, respectivamente). *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. krusei*, que fueron las especies más representadas (131, 27 y 12 cepas, respectivamente), tuvieron el intervalo más amplio (0,125 = 64 µg/mL), aunque el valor de CMI₉₀ de *C. albicans* fue de 2 µg/mL, muy inferior al de las otras 2 especies. Otra especie que mostró valores altos de CMI de fluconazol fue *C. guilliermondii* (0,125-16 µg/mL), aunque el número de cepas estudiadas fue limitado.

Según los criterios adoptados, se encontró 8,1 % de cepas resistentes a fluconazol

(CMI= 64 µg/mL) y 8,1 % de cepas sensibles dependientes de la dosis (CMI entre 16 y 32 µg/mL), mientras que 176 cepas (83,8 %) se comportaron como sensibles a la droga (CMI = 8 µg/mL) (tabla 2). *C. glabrata* y *C. guilliermondii* fueron las especies menos sensibles (48,1 y 50 %, respectivamente). Solo una de las cepas de *C. krusei* (8,3 %) mostró una CMI = 8 µg/mL, aunque para esta especie no son válidos los valores de corte mencionados porque se considera una especie intrínsecamente resistente a este fármaco. El 95,4 % de las cepas de *C. albicans* fueron sensibles al fluconazol, aunque se encontraron 4 cepas sensibles dependientes de la dosis (3 %) y 2 cepas resistentes (1,5 %). El 100 % de las cepas de *C. tropicalis*, *C. lusitaniae* y *C. kefyr* fueron sensibles. De manera general, se encontró mayor resistencia en las cepas identificadas como "no-*C. albicans*" (16,4 % de SDD y 18,9 % de R) en comparación con las cepas de *C. albicans* (3 % de SSD y 1,5 % de R).

Los valores de CMI de las cepas empleadas como controles de calidad estuvieron dentro de los límites obtenidos en los estudios previos de estandarización.⁷

DISCUSIÓN

La candidiasis está considerada la infección oral más frecuente en los pacientes infectados por el VIH y enfermos de SIDA, y su riesgo es mayor en la medida en que disminuye el conteo de linfocitos T CD4+ y aumenta la carga viral.⁹ Se ha afirmado que aproximadamente 75 % de los individuos sanos pueden ser portadores de *Candida* como parte de su microbiota oral normal, sin embargo, estas levaduras también están entre los principales patógenos oportunistas, asociados a diferentes factores predisponentes, tanto de índole local como sistémicos.¹⁰

Entre todas las especies de *Candida*, *C. albicans* es la de mayor patogenicidad y la más frecuentemente aislada en la cavidad oral. Sin embargo, en los últimos años se ha observado un incremento de los aislamientos de otras especies diferentes de *C. albicans* e incluso, se ha llegado a plantear que, en algunas regiones geográficas no siempre es *C. albicans* la especie predominante.^{9,11} No obstante, en la mayoría de los estudios realizados en diferentes países, sigue siendo *C. albicans* la especie más frecuente, en porcentajes variables, a partir de los aislamientos obtenidos de lesiones orales.^{4,9-14}

En el presente estudio *C. albicans* representó 62,3 % de las cepas identificadas, cifra algo superior a la reportada por *Blignaut* y otros (59,9 %) en Sudáfrica;¹¹ otros autores han encontrado porcentajes superiores. *Quindós* y otros, en España, encontraron 74 % de *C. albicans*,¹⁴ mientras que *Kuriyama* y otros, en Gran Bretaña, reportaron 84,3 %;¹⁰ por otra parte, en un estudio realizado en México por *Prieto Santa Anna* y otros, esta especie representó 92 % de los aislamientos obtenidos a partir de seropositivos al VIH y enfermos de SIDA.¹³ Estas diferencias pudieran estar dadas no solo por las diferentes condiciones clínicas y socioeconómicas de las poblaciones estudiadas, sino también por posibles influencias geográficas.¹¹

Algunos autores han relacionado el incremento del número de especies diferentes de *C. albicans* con el uso del fluconazol, dado sobre todo por la emergencia de especies resistentes a este fármaco, fundamentalmente *C. glabrata* y *C. krusei*.⁴ En el presente estudio, estas especies ocuparon segundo y cuarto lugares respectivamente, en orden de frecuencia, lo que representa 18,5 % del total de las cepas estudiadas. Sin embargo, ya desde el principio de la década de los años 90 del siglo pasado, *Barchiesi* y otros habían señalado un incremento de la frecuencia de aislamiento de las especies "no-*C. albicans*" de 3-4 % en 1988-1989 a 16-18 % en 1990-1991;¹⁵ por otra parte, también *Morace* y otros habían encontrado 25 % de estas especies; ambos estudios fueron realizados a partir de aislamientos de pacientes infectados por el VIH y enfermos de SIDA.¹⁶

La anfotericina B, a más de 50 años de su uso clínico, continúa siendo la primera opción para el tratamiento de las micosis graves o diseminadas. La resistencia *in vitro* a este antifúngico es muy reducida y no hay evidencias clínicas de fallos terapéuticos asociados a ello.^{14,17} Según el M27A2 del NCCLS, si una CMI de anfotericina B es superior a 1 µg/mL, *probablemente* la cepa es resistente;⁷ en este estudio solo una cepa, de *C. krusei*, cumplió esta condición (2 µg/mL). Sin embargo, en el mismo documento se plantea que el medio RPMI 1640 no resulta adecuado para estos fines, por lo que se señala la necesidad de continuar los estudios en este sentido porque aún no han sido establecidos los valores de corte para este fármaco.

La efectividad *in vitro* de la anfotericina B ha sido confirmada en diferentes estudios, aunque no todos han empleado el mismo punto de corte. *Silva* y otros (2002), en Chile, encontraron 100 % de sensibilidad en levaduras del género *Candida*, empleando el método de microdilución M27A NCCLS, consideraron como resistentes aquellas cepas con CMI superior a 2 µg/mL;¹⁸ tampoco *Quindós* y otros (1998), en España, encontraron cepas resistentes, mediante el método de difusión *Neosensitab*.¹⁴ Similar resultado obtuvieron *Sánchez Vargas* y otros (2005), en México mediante el *Fungitest*.⁹ Por otra parte, *Kuriyama* y otros, en Gran Bretaña (2005), empleando también el método del NCCLS pero considerando como punto de corte un valor igual o superior a

2 µg/mL, encontraron resistencia en *C. albicans* (5 %), *C. glabrata* (3,4 %) y *C. krusei* (3,14 %).¹⁰ Sin embargo, Blignaut y otros (2002), con la metodología del NCCLS M27A y tomando el valor de 1 µg/mL como punto de corte, obtuvieron resultados muy diferentes y que no se corresponden con la inmensa mayoría de los trabajos consultados: *C. albicans* (8,4 % de cepas de resistentes), *C. krusei* (23,7 %), *C. glabrata* (55,6 %) y *C. tropicalis* (44,4 %).¹¹

El fluconazol está considerado una droga de primera línea para el tratamiento de la candidiasis oral. Sus múltiples ventajas lo han convertido en uno de los antifúngicos más empleados en la terapéutica y profilaxis de las micosis en individuos seropositivos y enfermos de SIDA.^{10,17}

En el presente trabajo se obtuvieron valores altos de CMI de fluconazol para *C. krusei* y *C. glabrata* (valor de la moda: 64 y 32 µg/mL, respectivamente); *C. krusei* se considera intrínsecamente resistente a este agente y ha estado asociada a fracasos terapéuticos.¹⁹ Según Marichal y otros, el origen de la resistencia de esta especie al fluconazol se debe más a diferencias en la permeabilidad de la membrana (baja acumulación intracelular de esta droga) que a la disminución de la afinidad del citocromo P₄₅₀ por la droga.²⁰ Esta resistencia ha hecho no recomendable el uso del fluconazol en las infecciones causadas por esta especie.¹⁷

A diferencia de *C. krusei*, la resistencia de *C. glabrata* se considera una resistencia adquirida y está muy asociada al incremento del uso del fluconazol en la práctica médica.²¹ En el presente trabajo se encontró 11 % de cepas de *C. glabrata* resistentes, cifra que si bien no es elevada, en comparación con otros trabajos, no deja de ser preocupante, teniendo en cuenta además, que 40,7 % fue sensible dependiente de la dosis y solo 48,1 % resultó sensible. *Quindós* y otros reportan valores altos de resistencia en *C. glabrata* (36 %), similares a los de *Silva* y otros (40 %).^{14,18} En distintos trabajos, que incluyen a América Latina, se reportan valores más bajos de resistencia en esta especie (5,2-8,7 %) en el período 1997-1998.²¹ También *Kuriyama* y otros la reportan como la especie de más altos valores de resistencia (8,4 %),¹⁰ al igual que *Pfaller* y otros (9 %),⁸ estos últimos más próximos a los encontrados en el presente estudio.

Aunque de manera general las cepas de *C. albicans* se consideran sensibles a este fármaco, la aparición de cepas resistentes ha ido en aumento.¹⁰ En el presente estudio, solo se encontró 1,5 % de resistencia en esta especie. Teniendo en cuenta que *C. albicans* sigue siendo la responsable de la inmensa mayoría de los cuadros de candidiasis en nuestro medio, el fluconazol se mantiene como una excelente opción para el tratamiento de estas micosis. No obstante, resulta cada vez más imprescindible la identificación de las levaduras hasta el nivel de especie, porque existe gran variabilidad en la sensibilidad antifúngica, particularmente en las especies "no-*C. albicans*" las cuales en su conjunto mostraron una resistencia de 18,9 %, muy superior a la de *C. albicans* (1,5 %).

Hoy día, el aumento del número de individuos inmucomprometidos, ya sea por la infección por el VIH o por la utilización de drogas citotóxicas e inmunosupresoras, ha ocasionado un incremento de las infecciones fúngicas, especialmente las causadas por *Candida*. Paralelo a esto, la resistencia *in vitro* de estas especies a los diversos antifúngicos de uso actual, se ha tornado un hecho cada vez más preocupante. Los resultados obtenidos en el presente trabajo, aunque preliminares, confirman la importancia de continuar los estudios que permitan conocer el fenómeno de la resistencia en el medio y con ello tratar de llegar a la comprensión justa de las implicaciones clínicas que pudieran tener los resultados aportados por las pruebas de sensibilidad *in vitro* a los agentes antifúngicos.

***In vitro* susceptibility of *Candida* strains to fluconazole and amphotericin B**

SUMMARY

In vitro antifungal susceptibility testing is really necessary at present in medical mycology laboratories. Minimal inhibitory concentration of 210 *Candida* yeast strains isolated from HIV/AIDS patients with oral lesions was determined to find out susceptibility to fluconazole and amphotericin B. A CLSI's M27A2 protocol-based dilution micromethod was used. *C. albicans* was predominant (62.4 %) followed by *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, and *C. tropicalis*. Regarding amphotericin B, the mode value and MIC₅₀ were 0,125 µg/mL, which indicated the effectiveness of this drug *in vitro* conditions. Only *C. krusei* strain showed a minimal inhibitory concentration over 1 µg/mL. 8.1 % of strains were resistant to fluconazole whereas 8.1 % was dose- depending susceptible. The less susceptible species were *C. krusei* and *C. glabrata*. The achieved results laid the foundations for wider studies to be made in the Cuban context and indicated the need of keeping surveillance on the behaviour of clinical yeast isolates to antifungal drugs.

Key words: Antifungal susceptibility testing; amphotericin B; fluconazole; *Candida albicans*; *Candida* spp.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rodero L, Davel G, Soria M, Vivot W, Córdoba S, Canteros CR *et al.* Estudio multicéntrico de fungemias por levaduras en la República Argentina. *Rev Arg Microbiol* 2005;37:189-95.
2. Galván B, Mariscal F. Epidemiología de la candidemia en UCI. *Rev Iberoam Micol* 2006;23:12-5.
3. Pfaller MA. Antifungal susceptibility testing methods. *Curr Drug Targets* 2005;6:929-43.
4. Ceballos Salobreña A, Gaitán Cepeda LA, Ruesga MT, Ceballos García L, Quindós G. Prevalencia de lesiones orales por *Candida* en una población con SIDA sometida a terapia antirretroviral altamente activa. *Rev Iberoam Micol* 1998;15:141-5.
5. Fernández Andreu CM, González Miranda M, Illnait Zaragoza MT, Martínez Machín G. Determinación de la concentración mínima inhibitoria de anfotericina B en levaduras de interés médico. *Rev Cubana Med Trop* 1998;50:48-53.
6. Fernández Andreu CM, Lemus Molina D, Martínez Machín G. Sensibilidad de aislamientos clínicos de *Candida albicans* frente a la 5-fluorocitosina. *Rev Cubana Med Trop* 2000;52:191-6.
7. NCCLS. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard M27-A2, Villanova, NCCLS, 2002.
8. Pfaller MA, Diekema DJ, Sheehan DJ. Interpretative breakpoints for fluconazole and *Candida* revisited: a blueprint for the future of antifungal susceptibility testing. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:435-47.
9. Sánchez-Vargas LO, Ortiz-López NG, Villar M, Moragues MD, Aguirre JM, Cashat-Cruz M, *et al.* Point prevalence, microbiology and antifungal susceptibility patterns of oral *Candida* isolates colonizing or infecting Mexican HIV/AIDS patients and healthy persons. *Rev Iberoam Micol* 2005;22:83-92.
10. Kuriyama T, Williams DW, Bagg J, Coulter WA, Reedy D, Lewis MAO. In vitro susceptibility of oral *Candida* to seven antifungal agents. *Oral Microbiol Immunol* 2005;20:349-53.
11. Blignaut E, Messer S, Hollis RJ, Pfaller MA. Antifungal susceptibility of South African oral yeast isolates from HIV/AIDS patients and healthy individuals. *Diag Microbiol Infect Dis* 2002;44:169-74.
12. Cannon RD, Holmes AR, Mason AB, Monk BC. Oral *Candida*: clearance, colonization, or candidiasis? *J Dent Res* 1995;74:1152-61.
13. Prieto Santa Anna LM, Illnait Zaragoza MT, Ramos Rodallegas E, Lazcano Herrero B, Márquez Sánchez N, Cantelar de Francisco N, *et al.* Candidiasis oral en pacientes seropositivos al VIH y casos SIDA. Aspectos clínicos, micológicos y terapéuticos. *Rev Cubana Med Trop* 2006;58(3):173-80.
14. Quindós G, Abarca L, Carrillo-Muñoz AJ, Arévalo MP, Bornay FJ, Casals JB *et al.* Multicenter survey of *in vitro* antifungal resistance in yeasts of medical importance isolated from Spanish patients. *Rev Iberoam Micol* 1999;16:97-100.
15. Barchiesi F, Morbiducci V, Ancarani F, Scalise G. Emergence of oropharyngeal candidiasis caused by non-*albicans* species of *Candida* in HIV infected patients. *Eur J Epidemiol* 1993;9:455-6.
16. Morace G, Tamburrini E, Manzara S, Antinori A, Maluro G, Dettori G. Epidemiological and clinical aspects of mycoses in patients with AIDS-related pathologies. *Eur J Epidemiol* 1990;6:398-403.
17. Mensa-Pueyo J, Gatell Artigas JM. Guía Terapéutica Antimicrobiana 2007. 17ª ed. Barcelona:Ed. Masson; 2006.
18. Silva VV, Díaz MC, Febré N y Red de Diagnóstico en Micología Médica. Vigilancia de la resistencia de levaduras a antifúngicos. *Rev Chil Infect* 2002;19(2):149-56.
19. Denning DW, Baily GG, Hood SV. Azole resistance in *Candida*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997;16:261-80.
20. Marichal P, Gorrens J, Coene MC, Le Jeune L, Vanden Bosche H. Origin of differences in susceptibility of *Candida krusei* to azole antifungal agents. *Mycoses* 1995;38:111-7.
21. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Messer SA, Houston A, *et al.* Bloodstream infections due to *Candida* species: SENTRY antimicrobial surveillance program in North America and Latin America, 1997-1998. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:747-51.

Recibido: 3 de octubre de 2006. Aprobado: 28 de febrero de 2007.

Lic. Carlos M. Fernández Andreu. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". AP 601, CP 11300, Ciudad de La Habana, Cuba. Fax: 53-7-2046051. Correo electrónico: cfandreu@ipk.sld.cu