

Artículo original

Sensibilidad *in vitro* a fluconazol y voriconazol de especies de *Candida* aisladas de las manos de trabajadores de salud y pacientes

Julman Rosiris Cermeño*, Vanessa Carolina Tremaria, Luis Gustavo Contreras

Departamento de Parasitología y Microbiología. Escuela de Ciencias de la Salud "Dr. Francisco Battistini Casalta".
Universidad de Oriente. Núcleo Bolívar. Ciudad Bolívar. Venezuela.

Recibido 5 de mayo de 2015; aceptado 15 de octubre de 2015

Resumen: Las manos del personal de salud se consideran importantes para la colonización e infección por *Candida* spp. El objetivo del estudio fue determinar la prevalencia y distribución de levaduras aisladas en las manos de trabajadores de salud y algunos pacientes, así como su sensibilidad *in vitro* frente al fluconazol y voriconazol. El estudio se realizó en tres servicios del Complejo Hospitalario Universitario "Ruíz y Páez": unidad de cuidados intensivos, retén patológico y retén sano. El estudio de sensibilidad se realizó mediante el método de difusión con discos (Documento M44-A2). Se obtuvieron 79 aislamientos, de los cuales el 50,6% fue *Candida albicans* y el 49,4% especies no *albicans*. Las especies no *albicans* predominantes fueron *C. tropicalis* (n=25; 31,6%) seguidas del Complejo *C. parapsilosis* (n=13; 16,5%). El 87,3% y 91,1% de los aislados fue sensible al fluconazol y voriconazol, respectivamente. El 11,4% y 6,3% fue resistente al fluconazol y al voriconazol. Los resultados de este estudio demuestran que el estado de portador de levaduras en las manos del personal de salud es importante, por lo tanto es indispensable educarlos sobre el lavado adecuado de las manos, uso de guantes y uso de antisépticos para evitar o minimizar la posibilidad de transmisión de estos agentes.

Palabras clave: *Candida albicans*, *Candida* no *albicans*, colonización en manos, lavado de manos, transmisión exógena.

In vitro susceptibility to fluconazole and voriconazole of *Candida* species isolated from the hands of health care workers and patients

Abstract: The hands of health care workers are considered important for colonization and infection by *Candida* spp. The aim of the study was to determine the prevalence and distribution of yeasts isolated from the hands of health personnel and some patients and their *in vitro* susceptibility to fluconazole and voriconazole. The study was conducted in three services of the Hospital Universitario "Ruiz y Páez": Neonatal Intensive Care Unit and Healthy and Pathologic Newborn Units. The susceptibility tests were performed by the disk diffusion method (document M44-A2). A total of 79 isolates were obtained, of which 50.6% were *Candida albicans* and 49.4% non-*albicans* species. Among the non-*albicans* species were *C. tropicalis* (n = 25; 31.6%) followed by *C. parapsilosis* complex (n = 13; 16.5%). 87.3% and 91.1% of isolates were sensitive to fluconazole and voriconazole, respectively. 11.4% and 6.3% were resistant to fluconazole and voriconazole. The results of this study demonstrate the importance of the carriage of yeasts in the hands of health personnel; therefore it is essential to educate them about proper hand washing, use of gloves and antiseptic products to prevent or minimize the transmission of these agents.

Keywords: *Candida albicans*, *Candida* non-*albicans*, hand colonization, hand-washing, exogenous transmission.

* Correspondencia:
E-mail: jcerme30@gmail.com

Introducción

La infección fúngica adquirida en los hospitales está aumentando [1-3]. La mayor parte de las candidiasis nosocomiales son de origen endógeno, debido a que algunas especies de *Candida* son parte de la microbiota de piel y mucosas. Las infecciones de origen exógeno son las causadas

por levaduras provenientes de las manos del personal hospitalario u otras fuentes [4-8]. La presencia de levaduras en manos del personal de salud ha sido ampliamente documentada y a pesar de ser considerada transitoria, puede ocasionar brotes epidémicos de candidiasis [9-15].

La transmisión de levaduras desde el ambiente a los pacientes y entre pacientes, frecuentemente comienza en

las manos del personal de salud [9,13,16,17], por lo tanto, conocer los patrones de sensibilidad de las mismas resulta de gran interés en la actualidad [18,19].

Las manos cumplen un papel importante como vehículo de transmisión exógena de levaduras hacia el paciente [6,12,19] y es conocido que existe un aumento continuo de las infecciones fúngicas nosocomiales; por ello, es indispensable conocer la frecuencia de portadores de levaduras en las manos del personal de salud, relacionarlo con el servicio hospitalario y con la prevalencia de levaduras encontradas en los pacientes de un determinado centro de salud y/o servicio [20,21]. A pesar de la importancia de esto, no existe información sobre las especies de levaduras y los perfiles de sensibilidad *in vitro* en el personal de salud en nuestro medio. Por tal motivo, se realizó el presente estudio con el objetivo de determinar la prevalencia y distribución de levaduras aisladas de las manos de los trabajadores de salud y algunos pacientes, así como su sensibilidad *in vitro* frente a fluconazol y voriconazol, en el Complejo Hospitalario Universitario “Ruiz y Páez”, hospital de referencia de Ciudad Bolívar, estado Bolívar.

Pacientes y métodos

Este es un estudio descriptivo y prospectivo de tipo transversal. Se procedió a realizar un muestreo al azar del personal de salud que labora en los servicios de la unidad de cuidados intensivos (UCI), retén patológico y retén general (sano), y en algunos pacientes que se encontraban hospitalizados en el momento del estudio en dichos servicios del Complejo Hospitalario Universitario “Ruiz y Páez”, sin diagnóstico clínico de candidiasis. Siendo notificados previamente del objetivo del estudio, se solicitó el consentimiento informado de forma voluntaria y oportuna a los jefes de servicios, personal, representantes y pacientes para la toma de las muestras. Se respetaron los principios éticos para la investigación médica en seres humanos, siguiendo los lineamientos de la Declaración de Helsinki. Este estudio fue aprobado por la Comisión de Tesis de Grado de la Universidad de Oriente, quien revisa los aspectos éticos y metodológicos de la investigación.

A cada uno de los trabajadores de salud y a los pacientes se les tomaron, por duplicado, muestras de cada mano. Para ello, se frotó, con un hisopo humedecido con solución salina fisiológica estéril (NaCl 0,85%) la palma de las manos, dorso, región interdigital y uñas; luego fueron sembradas por agotamiento en medio Sabouraud dextrosa más cloranfenicol; además se tomaron impresiones de los dedos, uñas y dorso de la mano (derecha e izquierda) directamente sobre este medio de cultivo. Las placas sembradas se incubaron a 37 °C, en aerobiosis, durante 7 días. Cada una de las cepas aisladas fue conservada en el Laboratorio de Parasitología y Microbiología de la Escuela de Ciencias de la Salud “Dr. Francisco Battistini Casalta” de la Universidad de Oriente, en tubos inclinados de Sabouraud con cloranfenicol y en agua destilada estéril hasta que se realizó el estudio de sensibilidad *in vitro*.

Se estableció un grupo control, cuyo único criterio de inclusión fue que los sujetos no hubieran visitado ni permanecido en centros hospitalarios. Este grupo estuvo constituido por cursantes del 4to, 5to, 6to, 7mo y 8vo semestre de la carrera de Bioanálisis (pre clínico) de la Escuela de Ciencias de la Salud “Dr. Francisco Battistini Casalta” y que en forma voluntaria aceptaron participar en el estudio. Las muestras fueron tomadas de ambas manos, realizando el mismo procedimiento antes descrito.

Identificación de las levaduras: Las levaduras se identificaron mediante pruebas fenotípicas. Para la identificación de las diferentes especies de levaduras se realizó inicialmente un examen directo con KOH al 20% y azul de lactofenol a cada una de las muestras inoculadas en medio de Sabouraud dextrosa cloranfenicol; para observar su micromorfología, se utilizaron métodos convencionales en agar crema de arroz, prueba de tubo germinal, formación de clamidosporas, morfología en medio de Staib, crecimiento en medio de Sabouraud hipertónico, crecimiento a 45 °C, prueba de ureasa e identificación en agar cromogénico Brilliance *Candida* (Oxoid®) y CHROMagar *Candida*® (CHROMagar Microbiology, París, Francia). Además, se realizaron pruebas bioquímicas mediante auxonograma utilizando los sistemas Api 20C (bioMerieux, France®) y Api 32C (bioMerieux, France®), cuando fue necesario.

Estudio de sensibilidad in vitro a los antifúngicos: Se empleó el método de difusión en medio sólido; para ello, a partir de un cultivo de 24 horas a 35 °C en agar Sabouraud dextrosa, se preparó una suspensión de las levaduras y se ajustó su concentración a una turbidez de 0,5 en la escala de McFarland (equivalente a $1-5 \times 10^6$ UFC/mL) con solución salina estéril. Posteriormente, se impregnó un hisopo humedecido con la suspensión ajustada y se inoculó la superficie de una placa de agar Müller Hinton (BBL®) suplementada con glucosa al 2% y con 0,5 mg/mL de azul de metileno, de modo uniforme. Se dejó secar de 5 a 15 minutos. Luego se colocaron los discos de fluconazol (25 µg) y voriconazol (1 µg) (Oxoid®), siguiendo las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) [22]. Las placas se incubaron a 35 °C durante 24 horas. Para la lectura e interpretación de los resultados se utilizaron los puntos de corte recomendados por el CLSI. Para el fluconazol se consideró resistente cuando el halo de inhibición fue ≤ 14 mm, susceptible dosis dependiente (SDD) entre 15-18 mm y sensible ≥ 19 mm. Para el voriconazol se consideró resistente cuando el halo de inhibición fue ≤ 13 mm, SDD entre 14-16 mm y sensible ≥ 17 mm [22].

Las cepas de control de calidad fueron evaluadas de la misma forma y se incluyeron siempre que fue ensayado un aislado. Se utilizaron las cepas control de la American Type Culture Collection (ATCC): *C. albicans* ATCC 90028, *C. parapsilosis* ATCC 22019 y *C. krusei* ATCC 6258.

Análisis estadístico: Todos los resultados se almacenaron en

una base de datos creada en Microsoft Excel® (Microsoft, Redmond, WA) para este propósito, y se analizaron utilizando el Programa SPSS® versión 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). Los datos cualitativos se presentaron como frecuencias absolutas y porcentajes. La prueba de Ji² se utilizó para comparar las frecuencias de aislamientos de *Candida* spp. y sensibilidad a los azoles entre los sujetos de estudio y controles. Todos los datos se consideraron estadísticamente significativos con valores de p < 0,05.

Resultados

En este estudio participaron 66 sujetos voluntarios, entre ellos personal médico (n=17; 25,8%), enfermeros (n=20; 30,3%), paramédicos (n=1; 1,5%), camilleros (n=2; 3,0%), personal de limpieza (n=5; 7,6%) y pacientes recluidos en los diferentes servicios (n=21; 31,8%). Como grupo control participaron 33 estudiantes de Bioanálisis.

Se obtuvo un total de 79 aislamientos de diferentes especies de *Candida* en 45 trabajadores (68,2%), correspondientes a 7 aislados en el personal médico (41,2%), 11 (55%) en el personal de enfermería, 21 (100%) en los pacientes hospitalizados, 1 (100%) en el personal paramédico, 1 (50%) en los camilleros y 4 (80%) en el personal de limpieza. Con respecto al grupo control sólo en 16 (48,5%) de ellos se logró el aislamiento de *Candida* spp. (Tabla 1).

De las cepas aisladas del género *Candida*, la especie predominante fue *C. albicans* (n=40; 50,6%), seguida de *C. tropicalis* (n= 25; 31,6%), el Complejo *C. parapsilosis* (n=13; 16,5%) y *C. dubliniensis* (n=1; 1,3%). El grupo con mayor cantidad de aislamientos de *Candida* spp. fueron los pacientes (19 *C. albicans* y 7 *C. tropicalis*), seguido por los profesionales de enfermería (11 *C. albicans* y 4 *C. tropicalis*). No hubo diferencia significativa en la distribución de levaduras en el personal de salud (p=0,136). Además, se

Tabla 1. Aislamientos de *Candida* spp. según la ocupación o condición del personal en el Complejo Hospitalario Universitario “Ruiz y Páez”, Ciudad Bolívar, Venezuela.

Aislamientos	Ocupación							TOTAL n (%)
	Médicos	Enfermeros (as)	Pacientes	Paramédicos	Personal de limpieza	Camilleros	Estudiantes (Grupo Control)	
<i>C. albicans</i>	2	11	19	1	1	2	4	40 (50,6%)
<i>C. tropicalis</i>	4	4	7	0	1	0	9	25 (31,6%)
Complejo <i>C. parapsilosis</i>	1	2	5	0	3	0	2	13 (16,5%)
<i>C. dubliniensis</i>	0	0	0	0	0	0	1	1 (1,3%)
Total	7	17	31	1	5	2	16	79 (100%)

Tabla 2. *Candida* spp. aisladas según servicios y grupo control. Complejo Hospitalario Universitario “Ruiz y Páez”, Ciudad Bolívar, Venezuela.

Especies aisladas	Servicios				Total (%)
	UCI	RP	RG	GC	
<i>C. albicans</i>	17	12	7	4	40 (50,6)
<i>C. tropicalis</i>	3	8	5	9	25 (31,6)
Complejo <i>C. parapsilosis</i>	7	3	1	2	25 (31,6)
<i>C. dubliniensis</i>	0	0	0	1	1 (1,3)
Total	27 (34,2)	23 (29,1)	13 (16,5)	16 (20,2)	79 (100)

UCI: unidad de cuidados intensivos; RP: retén patológico; RG: retén general; GC: grupo control.

Tabla 3. Sensibilidad in vitro de los aislamientos de *Candida* spp. al fluconazol y voriconazol.

Aislamiento	Antifúngicos	Sensible n (%)	SDD n (%)	Resistente n (%)	Total
<i>C. albicans</i>	Fluconazol	38 (95)	0 (0)	2 (5)	40 (50,6)
	Voriconazol	38 (95)	0 (0)	2 (5)	40 (50,6)
<i>C. tropicalis</i>	Fluconazol	18 (72)	1 (4)	6 (24)	25 (31,6)
	Voriconazol	21 (84)	2 (8)	2 (8)	25 (31,6)
Complejo <i>C. parapsilosis</i>	Fluconazol	13 (100)	0 (0)	0 (0)	13 (16,5)
	Voriconazol	13 (100)	0 (0)	0 (0)	13 (16,5)
<i>C. dubliniensis</i>	Fluconazol	0 (0)	0 (0)	1 (100)	1 (1,3)
	Voriconazol	0 (0)	0 (0)	1 (100)	1 (1,3)

SDD: susceptible dosis dependiente.

encontraron 9 aislamientos de especies no-*Candida* entre los sujetos que laboran en el hospital: *Aspergillus* sp. (n=5; 6,9%), *Rhodotorula* sp. (n=2; 2,8%), *Geotrichum* s.p (n=1; 1,4%) y *Prototheca* sp. (n=1; 1,4%). En el grupo control no se aislaron estas especies.

Con respecto a los aislamientos en los diferentes servicios del Complejo Hospitalario Universitario “Ruiz y Páez”, se obtuvo que en la UCI se aislaron 27 (34,2%) levaduras del género *Candida*, en retén patológico 23 (29,1%) y en retén general 13 (16,5%). Hubo diferencia significativa en la distribución de las levaduras en los diferentes servicios, siendo mayor su aislamiento en la UCI (p=0,028). *C. albicans* prevaleció frente a otras especies no-*albicans* en los servicios antes nombrados, a diferencia del grupo control, donde se aisló predominantemente *C. tropicalis* (Tabla 2).

C. albicans fue sensible a fluconazol (n=38; 95,0%), seguida por *C. tropicalis* y el Complejo *C. parapsilosis*. El 24,0% (n=6) de *C. tropicalis* fue resistente al fluconazol. Con relación al voriconazol, la mayoría de los aislados de *C. albicans* fue sensible (n=38; 95,0%); en cuanto a la resistencia, cabe destacar que sólo 2 aislamientos de *C. albicans* (5,0%) y *C. tropicalis* (8,0%) fueron resistentes a

este antifúngico (Tabla 3). No hubo diferencia significativa en cuanto a la sensibilidad *in vitro* frente a fluconazol y voriconazol en las diferentes especies de *Candida* ($p > 0,05$).

Discusión

El aislamiento de levaduras en las manos del personal del hospital fue mayor que en el grupo control, siendo más prevalente en el personal de enfermería (85%) y en los pacientes (67,7%), resultado similar al trabajo realizado por Carrillo-Dover y col [4]. Varios estudios han señalado que las manos de las enfermeras están más colonizadas que las de los médicos [8,10,11,19]; sin embargo, los estudios publicados por Findik *et al* [23] y Huang *et al* [24] han reportado en las enfermeras porcentajes de colonización por *Candida* de 8,6% y 10%, respectivamente.

La presencia de levaduras en las manos del personal de salud y en los pacientes posiblemente esté relacionada al contacto estrecho entre ellos. Además, se ha observado que las enfermeras se lavan menos las manos que los médicos, pocas veces emplean guantes durante los cuidados rutinarios de los pacientes y menos aún realizan antisepsia y usan guantes durante la administración de los medicamentos, al menos en nuestro medio. Por otra parte, los pacientes hospitalizados están más limitados para realizar el continuo lavado de las manos, fundamentalmente en los servicios seleccionados de UCI, reten patológico y reten general, ya que dependen de otros para realizarlo. Se ha demostrado que los antisépticos (alcoholes, clorhexidina, clorina, hexaclorofeno, yodo, cloroxilenol, compuestos de amonios cuaternarios y triclosan) deben añadirse al proceso de lavado de manos (agua y jabón) para lograr una protección óptima contra las infecciones nosocomiales en la práctica hospitalaria de rutina [25,26].

Se ha descrito que la presencia de levaduras en las manos de personas sanas de la comunidad es baja, siendo su frecuencia inferior al 5% [8]; sin embargo, en este estudio se demostró la presencia de levaduras en el 48,5% del grupo control, lo que significa que estos individuos están más colonizados posiblemente porque no lavan frecuentemente sus manos, ya que permanecen muchas horas fuera de su domicilio.

En la década de 1960, la principal especie de interés clínico era *C. albicans* y su frecuencia fluctuaba entre menos del 1% en las manos de personas de la comunidad y el 17% en las del personal de salud [27,28]. Estudios posteriores, que abarcan un mayor espectro de levaduras, han señalado un predominio de *C. parapsilosis* y/o *Rhodotorula* spp. en manos del personal de salud y de la comunidad [8,11,13,14]. Cabe destacar un mayor aislamiento de *C. albicans*, seguido de *C. tropicalis* y del Complejo *C. parapsilosis*, además de *Aspergillus* sp., *Rhodotorula* sp., *Geotrichum* sp. y *Prototheca* sp. en el personal de salud en este estudio a diferencia de otro estudio reciente, realizado en las manos del personal de la Unidad de Cuidados Intensivos de un Hospital Universitario de Coro (médicos, enfermeras y personal de limpieza), donde se aislaron predominantemente

levaduras del Complejo *C. parapsilosis* (n=9; 75%), *C. tropicalis* (n=2; 16,6%) y *Rhodotorula* spp. (n=1; 8,3%) y no se aisló *C. albicans* [21].

Silva *et al.*, demostraron que la especie predominante en las manos de los estudiantes fue *C. parapsilosis*, tanto para estudiantes sin ningún contacto con el medio hospitalario (ciclo básico), como para los estudiantes del último año, que permanecían gran parte del día en el medio hospitalario y en contacto con los pacientes [20], a diferencia del presente estudio donde predominó *C. tropicalis*.

Si analizamos la frecuencia de las especies aisladas, son similares a las que se han observado en el Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" de Caracas, Venezuela, durante el período 1996-2002, donde *C. albicans* fue la especie más frecuentemente aislada de muestras clínicas, seguida de *C. tropicalis* y especies del Complejo *C. parapsilosis* [29], resultados que difieren del trabajo realizado por Perozo y col [30], en la ciudad de Maracaibo; quizás ello esté relacionado con el área geográfica, tipo de paciente, patología de base, edad y uso previo de antifúngicos, entre otros. La frecuencia de las diferentes especies de levaduras varía considerablemente entre los distintos países, centros de salud y en diferentes períodos de tiempo [31].

No obstante, en esta investigación las especies de *Candida* no *albicans* representaron un porcentaje importante de aislamientos, lo que evidencia el auge de estas especies como posibles patógenos. Sin embargo, *C. tropicalis* fue más frecuente en el grupo control, que tiene menos contacto con el ambiente hospitalario y el único aislamiento de *C. dubliniensis* fue también en este grupo, posiblemente debido a que esta levadura es considerada microbiota de la cavidad oral de los humanos [32].

Son escasos los estudios que evalúan la sensibilidad *in vitro* de las levaduras aisladas de manos del personal de salud [4,21,17]. Al comparar el comportamiento de *C. albicans* frente al fluconazol y voriconazol se demostró que más del 90% de las cepas aisladas fueron sensibles, resultado similar al estudio realizado por Bonassoli *et al* [17]. Resultados diferentes han sido obtenidos en el trabajo de Carrillo-Dover y col [4], quienes demostraron un 100% de sensibilidad en sus aislados empleando el método de microdilución en caldo, y el de Saúl y Hernández [21], quienes encontraron cepas del Complejo *C. parapsilosis* SDD y resistentes al fluconazol y voriconazol. En esta investigación, *C. albicans* (5%), *C. tropicalis* (24% y 8%) y *C. dubliniensis* (100%) mostraron resistencia al fluconazol y voriconazol, respectivamente. Es importante evaluar las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de estos aislados, mediante métodos de referencia estandarizados, para verificar la existencia de cepas resistentes circulantes en este ambiente; sin embargo, los resultados de este estudio han demostrado que la mayoría de las cepas circulantes de *C. albicans* son sensibles a los triazoles. Además, sería interesante realizar estudios prospectivos en pacientes críticos con candidiasis en este centro, correlacionar los aislamientos con el perfil de sensibilidad y compararlos con los obtenidos en el personal de salud.

C. tropicalis evidenció una mayor resistencia frente a los azoles que *C. albicans*. El único aislamiento de *C. dubliniensis* resultó resistente a ambos azoles ensayados; este hallazgo difiere de otros estudios [33], donde contrariamente *C. dubliniensis* mostró una alta sensibilidad para fluconazol y voriconazol. De igual manera Pemán y col., [34] encontraron alta sensibilidad de *C. dubliniensis* a estos antimicóticos, con baja resistencia frente al fluconazol (0,58%).

Se pudo observar que el personal con mayor cantidad de aislamientos trabajaba en la UCI (n=27), seguido por el personal de retén patológico (n=23), hallazgo que difiere al encontrado por Carrillo-Dover y col., [4] en el Centro Hospitalario San Juan de Dios de Costa Rica, quienes encontraron la mayor cantidad de aislamientos de levaduras en el personal de cirugía 3 (n=50; 51,5%). El predominio de aislamientos en UCI y retén patológico puede deberse al continuo contacto del personal de salud con pacientes en estado crítico, inmunosuprimidos y con factores predisponentes intrínsecos (ayuno prolongado, desnutrición) y extrínsecos (administración de antibióticos de amplio espectro, cirugía, uso de esteroides, catéteres centrales, nutrición parenteral y ventilación mecánica), que de alguna manera implican mayor manipulación de los pacientes por una gran cantidad de personas integrantes del equipo de salud, que podrían actuar como agentes de transmisión de *Candida* spp., aumentando su riesgo de colonización por esta levadura [4].

Los resultados de este estudio han demostrado que el estado de portador de levaduras en las manos del personal de salud es importante y muy común en los departamentos investigados, aunque su origen no está claro; por lo tanto, es indispensable educarlos correctamente sobre el lavado frecuente de las manos, uso adecuado de guantes cuando se manipulan los pacientes y uso de antisépticos para la prevención y control de la transmisión cruzada de estos agentes en el medio hospitalario, para así evitar las infecciones nosocomiales por *Candida* spp.

Referencias

1. Avni T, Leibovici L, Paul M. PCR diagnosis of invasive candidiasis: systematic review and meta-analysis. *J Clin Microbiol.* 2011; 49:665-70.
2. Wisplinghoff H, Ebberts J, Geurtz L, Stefanik D, Major Y, Edmond MB *et al.* Nosocomial bloodstream infections due to *Candida* spp. in the USA: species distribution, clinical features and antifungal susceptibilities. *Int J Antimicrob Agents.* 2014; 43:78-81.
3. Hoffmann-Santos HD, Paula CR, Yamamoto AC, Tadano T, Hahn RC. Six-year trend analysis of nosocomial candidemia and risk factors in two intensive care hospitals in Mato Grosso, midwest region of Brazil. *Mycopathologia.* 2013; 176:409-15.
4. Carrillo-Dover P, Alvarez-Vega C, Salas-Campos I. Aislamiento de *Candida* spp. y otras levaduras en el personal que labora en áreas críticas del Hospital San Juan de Dios. *Acta Med Costarric.* 2009. 51:165-71.
5. Brunetti L, De Caro F, Boccia G, Cavallo P, Capunzo M. Surveillance of nosocomial infections: a preliminary study on yeast carriage on hands of healthcare workers. *J Prev Med Hyg.* 2008; 49:63-8.
6. Ben Abdeljelil J, Ben Saida N, Saghrouni F, Fathallah A, Boukadida J, Sboui H *et al.* Systemic neonatal candidosis: the karyotyping of *Candida albicans* strains isolated from neonates and health-workers. *Mycoses.* 2010; 53:72-7.
7. Delfino D, Scordino F, Pernice I, Lo Passo C, Galbo R, David A *et al.* Potential association of specific *Candida parapsilosis* genotypes, bloodstream infections and colonization of health workers' hands. *Clin Microbiol Infect.* 2014; 20:946-51.
8. Horn WA, Larson EL, Mc Ginley KJ, Leyden JJ. Microbial flora on the hands of health care personnel: differences in composition and antibacterial resistance. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1988; 9:189-93.
9. Vásquez JA, Sánchez V, Dmuchowsky C, Dembry LM, Sobel JD, Zervos MJ. Nosocomial acquisition of *Candida albicans*: an epidemiologic study. *J Infect Dis.* 1993; 168:195-201.
10. Kumar S, Batra R. A study of yeast carriage on hands of hospital personnel. *Indian J Pathol Microbiol* 2000; 43:65-7.
11. Strausbaugh LJ, Sewell DL, Tjoelker R. Comparison of three methods for recovery of yeasts from hands of health-care workers. *J Clin Microbiol.* 1996; 34:471-3.
12. Brunetti L, De Caro F, Boccia G, Cavallo P, Capunzo M. Surveillance of nosocomial infections: a preliminary study on yeast carriage on hands of healthcare workers. *J Prev Med Hyg.* 2008; 49:63-8.
13. Hunter PR, Harrison GA, Fraser CA. Cross-infection and diversity of *Candida albicans* strain carriage in patients and nursing staff on an intensive care unit. *J Med Vet Mycol.* 1990; 28:317-25.
14. Hedderwick SA, Lyons MJ, Liu M, Vazquez JA, Kauffman CA. Epidemiology of yeast colonization in the intensive care unit. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2000; 19: 663-70.
15. Marcos-Zambrano LJ, Escribano P, Bouza E, Guinea J. Use of molecular typing tools for the study of hospital outbreaks of candidemia. *Rev Iberoam Micol.* 2014; 31:97-103.
16. Sanchez V, Vazquez JA, Barth-Jones D, Dembry L, Sobel JD, Zervos MJ. Nosocomial acquisition of *Candida parapsilosis*: an epidemiologic study. *Am J Med.* 1993; 94: 577-82.
17. Bonassoli LA, Bertoli M, Svidzinski TI. High frequency of *Candida parapsilosis* on the hands of healthy hosts. *J Hosp Infect.* 2005; 59:159-62.
18. Fernández C, Martínez G, Illnait M, Perurena M, Águila A, Galloso B. Sensibilidad *in vitro* de cepas de *Candida* frente a fluconazol y anfotericina B. *Rev Cubana Med Trop.* 2007; 59:13-8.
19. Yildirim M, Sahin I, Kucukbayrak A, Ozdemir D,

- Tevfik Yavuz M, Oksuz S *et al.* Hand carriage of *Candida* species and risk factors in hospital personnel. *Mycoses*. 2007; 50:189-92.
20. Silva V, Zepeda G, Rybak M, Febre N. Yeast carriage on the hands of medicine students. *Rev Iberoam Micol*. 2003; 20:41-5.
 21. Saúl Y, Hernández R. Aislamiento de *Candida* spp. en ambiente y personal que labora en una unidad de cuidados intensivos. *Rev Soc Ven Microbiol*. 2014; 34:27-32.
 22. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts. Approved guidelines. Second Edition. CLSI M44-A2. Wayne, PA; 2009. pp. 29.
 23. Findik D, Ural O, Baysal B. Bacterial colonization and yeast carriage on hands of nurses. *J Hosp Infect*. 1996; 34:235-7.
 24. Huang YC, Lin TY, Leu HS, Wu JL, Wu JH. Yeast carriage on hands of hospital personnel working in intensive care units. *J Hosp Infect*. 1998; 39:47-51.
 25. Eksi F, Mehli M, Akgun S, Bayram A, Balci I, Aydin N. Evaluation of two different hand hygiene procedures during routine patient care. *J Int Med Res*. 2010; 38:2084-92.
 26. Yildirim M, Sahin I, Oksuz S, Sencan I, Kucukbayrak A, Cakir S *et al.* Hand carriage of *Candida* occurs at lesser rates in hospital personnel who use antimicrobial hand disinfectant. *Scand J Infect Dis*. 2014; 46:633-6.
 27. Clayton YM, Noble WC. Observations on the epidemiology of *Candida albicans*. *J Clin Pathol*. 1966; 19:76-8.
 28. Marples MJ, Somerville DA. The oral and cutaneous distribution of *Candida albicans* and other yeasts in Rarotonga, Cook Islands. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1968; 62:256-62.
 29. Panizo M, Reviakina V, Dolande M. Aislamiento de levaduras en muestras clínicas: Casuística del departamento de Micología del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" (1996-2001). *Rev Soc Ven Microbiol*. 2002; 22:57-63.
 30. Perozo A, Calvo B, Mesa L, Pineda M. Susceptibilidad a fluconazol y voriconazol por el método de difusión de cepas de *Candida* aisladas de hemocultivos en Maracaibo, Venezuela. *Kasmera*. 2011; 39:114-22.
 31. St-Germain G, Laverdière M, Pelletier R, Bourgault AM, Libman M, Lemieux C *et al.* Prevalence and antifungal susceptibility of 442 *Candida* isolates from blood and other normally sterile sites: results of a 2-year (1996 to 1998) multicenter surveillance study in Quebec, Canada. *J Clin Microbiol*. 2001; 39:949-53.
 32. Sullivan DJ, Coleman DC, Bennet DE, Moran GP, Barry HJ, Shanley DB. Candidiasis: the emergence of novel species *Candida dubliniensis*. *AIDS*. 1997; 11:557-67.
 33. Rubio M, Gil J, Ramirez I, Benito R, Rezusta A. Actividad *in vitro* de fluconazol, voriconazol y posaconazol frente a *Candida* spp. *Rev Esp Quimioterap*. 2003; 16:227-32.
 34. Pemán J, Cantón E, Calabuig E, Bosch M, Valentín A, Viudes A y col. Actividad *in vitro* del voriconazol frente a levaduras y algas con los nuevos puntos de corte del patrón de resistencia. *Rev Esp Quimioterap*. 2006; 19:21-33.