

# Aislamiento de *Candida spp.* y otras levaduras en el personal que labora en áreas críticas del Hospital San Juan de Dios

(Isolation of *Candida spp.* and other yeasts from Health Care  
Workers in Critical Care Units of the San Juan de Dios Hospital)

Pedro Carrillo-Dover<sup>1</sup>, Carolina Álvarez-Vega<sup>1</sup>, Ingrid Salas-Campos<sup>1</sup>, Nury Mora-Brenes<sup>2</sup>

## Resumen

**Justificación y objetivos:** Los pacientes internados en hospitales, principalmente aquellos que se encuentran severamente enfermos, son más susceptibles a las infecciones por hongos oportunistas, en comparación con la población general. El personal hospitalario puede ser fuente potencial de infección para estos pacientes, ya que normalmente actúa como portador de gérmenes, que eventualmente podrían ser transmitidos a los pacientes. Se describe, en esta investigación, el aislamiento de hongos levaduriformes a partir de las manos y la cavidad oral, en un grupo de 77 trabajadores del Hospital San Juan de Dios, en servicios donde se han reportado más casos de infecciones por este tipo de hongos.

**Métodos:** Se realizó un hisopado de cavidad oral y manos de cada participante y se cultivaron placas con agar glucosado de Sabouraud (AGS) y Mycosel. A los aislamientos de levaduras se les determinó la capacidad de crecimiento a 37°C, resistencia a la cicloheximida, producción de tubo germinativo, fosfolipasas y proteinasas y se determinó la sensibilidad *in vitro* al fluconazol por medio de método de microdilución en placa.

**Resultados:** El 72,7% de los participantes resultaron positivos para el aislamiento de levaduras, la especie aislada con mayor frecuencia fue *Candida parapsilosis*, seguida de *C. albicans* y *C. famata*. La mayor positividad se obtuvo en el servicio de Cirugía 3 (83.3%), seguido de la UCI (71.4%) y Neonatología (58%).

**Conclusión:** Estos resultados instan a mejorar las acciones preventivas en el manejo de los pacientes, a ser más estrictos en las normas de higiene de manos y promover, en otros centros hospitalarios, la realización de este tipo de estudios, para disminuir los brotes nosocomiales por transmisión horizontal.

**Descriptores:** *Candida*, levaduras, infección nosocomial, proteinasas, fosfolipasas, transmisión horizontal

## Abstract

**Justification and aim:** Critically ill patients are more susceptible than the general population to opportunistic fungal infections. Health workers could be a potential infectious focus to these patients. Thus in this investigation we report the isolation of yeast from the hands and oral cavity

<sup>1</sup> Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

<sup>2</sup> Laboratorio Clínico "Dr. Clodomiro Picado Twight" Hospital San Juan de Dios, Caja Costarricense de Seguro Social.

**Abreviaturas:** AGS, Agar glucosado de Sabouraud; ATCC, American Type Culture Collection; EUCAST, European Committee on Antifungal Susceptibility Testing; UCI, Unidad de Cuidados Intensivos.

**Correspondencia:**  
Pedro Carrillo-Dover  
E-mail: pedro.carrillo@ucr.ac.cr

in a group of 77 employees of the San Juan de Dios Hospital from Services where infections due to these fungi had previously been reported.

**Methods:** Samples from oral cavity and both hands were taken from 77 individuals. Each sample was plated into Sabouraud's dextrose agar and Mycosel agar. Each yeast isolate was analyzed for growth capacity at 37°C, cycloheximide resistance, germ tube formation, phospholipase and proteinase production. Further, *in vitro* susceptibility testing of each isolate to fluconazol was performed using a microdilution method.

**Results:** A 72.7% yeast positivity was found in all samples taken. *Candida parapsilosis* was the most frequent isolate, followed by *C. albicans* and *C. famata*. The ward with the greatest positivity was Surgery 3 (83.3%), followed by Intensive Care Unit (71.4%) and Neonatology (58%).

**Conclusion:** These findings suggest that strict aseptic handling of patients should be observed to avoid horizontal transmission of yeasts in these wards. Similar studies should be conducted in other hospitals.

**Key words:** *Candida*, yeast, nosocomial infection, proteinases, phospholipases, horizontal transmission

**Recibido:** 16 de enero de 2009

**Aceptado:** 19 de mayo de 2009

Las infecciones fúngicas nosocomiales se han convertido en una causa importante de morbilidad y mortalidad en el ámbito hospitalario.<sup>1</sup> Los pacientes que se encuentran hospitalizados en forma prolongada, especialmente en unidades de cuidados intensivos (UCI), así como los pacientes con enfermedades malignas, quemaduras, inmunosupresión, con alimentación parenteral vía catéter o aquellos sometidos a procedimientos invasivos, son especialmente susceptibles a desarrollar micosis oportunistas.<sup>2-6</sup>

Entre los microorganismos más importantes causantes de este tipo de infecciones están las levaduras, en especial, el género *Candida*.<sup>3,7</sup> Es difícil realizar un diagnóstico temprano de infecciones por hongos oportunistas en pacientes que se encuentran gravemente enfermos, por tanto, es importante identificarlos y establecer el esquema de tratamiento, a tiempo, para evitar la mortalidad por estos agentes.<sup>8,9</sup>

La mayor parte de las candidiasis nosocomiales son de origen endógeno, debido a que algunas especies de *Candida* son parte de la flora normal de piel y mucosas.<sup>10</sup> Sin embargo, se ha demostrado que algunas de estas infecciones son de origen exógeno, por levaduras provenientes de manos del personal hospitalario y de productos de aplicación intravenosa contaminados.<sup>11-13</sup>

En Costa Rica, se han documentado casos de infecciones nosocomiales por levaduras en unidades de vigilancia estricta, como la UCI, neonatología, salas de cirugía abdominal y oncohematología.<sup>14-17</sup> Generalmente, se ha asociado a estas infecciones con los procedimientos invasivos comunes durante el internamiento hospitalario, el uso de catéteres endovenosos para la aplicación de medicamentos y de soluciones parenterales, entre otros factores.<sup>18,19</sup> Sin embargo, se conoce muy poco acerca del aislamiento de levaduras a partir del personal hospitalario.

Debido a que el personal hospitalario actúa como portador y eventualmente, puede transmitir de forma horizontal, levaduras, ya sea por medio del contacto trabajador-paciente o paciente-trabajador-paciente, en este trabajo se determina las especies de levaduras que porta el personal que labora en tres áreas, en el Hospital San Juan de Dios, donde se han documentado episodios de candidemias. Además, para evaluar el potencial patogénico de los aislamientos obtenidos, se estudió la producción de tubo germinativo, fosfolipasas y proteinasas y la capacidad de crecer a 37°C. También, se evaluó la sensibilidad *in vitro* al fluconazol, para observar si existe la posibilidad de que aislamientos resistentes a este antifúngico, estén presentes en esos trabajadores y pueda ser transmitido a los pacientes.<sup>20,21</sup>

---

## Metodología

---

Se realizó un muestreo a trabajadores de las áreas de Cirugía 3, UCI y Neonatología del Hospital San Juan de Dios, durante los meses de septiembre y octubre del 2006. A los participantes se les entregó una fórmula de consentimiento informado y se les tomó una muestra, en ambas manos, y una muestra de cavidad oral. Para la muestra de manos se frotó entre los dedos y alrededor de las uñas, con una torunda de algodón humedecida en solución salina estéril y para la muestra de cavidad oral se frotó otra torunda sobre y bajo la lengua y en la parte interna de las mejillas. Las muestras se cultivaron en placas de Petri con AGS y con agar Mycosel® y se incubaron durante 72 horas, a temperatura ambiente. Todas las colonias con morfología levaduriforme diferente, se aislaron y se identificaron con el sistema automatizado VITEK®.

A los aislamientos de *Candida* se les determinó la capacidad de crecer a 37°C, para lo cual se repicaron en placas con AGS y se incubaron a esta temperatura por 72 horas. Para determinar la producción de tubo germinativo se preparó una suspensión de la levadura al 0,5 del estándar MacFarland y se inoculó 10 µL en suero estéril; se incubó a 37 °C durante 3 horas y se observó microscópicamente, la producción del tubo germinativo. El crecimiento en presencia de cicloheximida se examinó inoculando los aislamientos en AGS más 0.5 g/L de cicloheximida y se incubaron a temperatura ambiente durante 72 horas, para determinar si crece o no en presencia de este compuesto.

La producción de fosfolipasa, proteinasa y la prueba de sensibilidad a los antifúngicos sólo se realizó a los aislamientos que crecieron a 37°C.

Para determinar la producción de fosfolipasa se utilizó AGS, 25 mL por placa más NaCl 1 M y CaCl<sub>2</sub> 0,005 M, al cual, luego de autoclavarlo se le agregó 2% de yema de huevo. El medio se inoculó con 10 µL de una suspensión de levaduras al 0,5 del estándar MacFarland y se incubaron a 37°C durante 7 días. Luego se determinó el índice de producción de fosfolipasa, dividiendo el diámetro de la colonia entre el diámetro del halo de precipitado más la colonia. Se consideró como negativa la producción de fosfolipasa cuando el índice fuera igual a uno y como positivo cualquier valor menor a 0,99.<sup>22</sup>

La producción de proteinasas ácidas se determinó utilizando el agar caseína,<sup>23</sup> con las siguientes modificaciones, 40g/L de leche descremada, 0.2g/L de glucosa, 5 g/L de extracto de levadura, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.01g/L, MgSO<sub>4</sub> al 0.005g/L

y 0,016g/L de púrpura de bromocresol; el pH se ajustó a 3,5. Las placas se inocularon con 10 µL de una suspensión de levaduras al 0,5 de Mac Farland y se incubaron a 37°C durante 7 días. Se determinó la producción considerando el diámetro de la colonia entre el diámetro del halo de hidrólisis más la colonia. Se consideró como negativa la producción de proteinasa cuando el índice fuera igual a uno y como positivo cualquier valor menor a 0,99.

La sensibilidad de los aislamientos al fluconazol se determinó por la metodología propuesta por EUCAST,<sup>24</sup> el cual es un método de microdilución en caldo para determinar la concentración mínima inhibitoria. El fluconazol utilizado fue donado por Laboratorios Stein y se utilizaron como cepas control *C. parapsilosis* ATCC 22019 y *C. krusei* ATCC 6258.

## Resultados

En este estudio participaron 77 empleados hospitalarios, de los cuales 31 eran de enfermería, 19 asistentes de pacientes, 16 auxiliares de enfermería, 8 médicos, un estudiante de medicina, una persona de recepción y una de limpieza. Según el área de trabajo, 30 personas laboraban en el área de Cirugía 3, 28 en la UCI y 19 en Neonatología.

Se obtuvieron aislamientos de levaduras a partir de 56 (72,7%) de los participantes, de los cuales solo presentaron aislamientos de cavidad oral 14 participantes, de manos 23 y de ambos sitios, 19 participantes. El servicio con mayor

**Cuadro 1. Distribución de los 97 aislamientos según especie, servicio y sitio anatómico.**

Especie	Servicio			Sitio anatómico		Total de aislamientos por especie No. (%)
	Cirugía 3 No. (% en el servicio)	UCI No. (% en el servicio)	Neonatología No. (% en el servicio)	Manos No. (% del sitio anatómico)	Cavidad oral No. (% del sitio anatómico)	
<i>Candida parapsilosis</i>	23 (46)	15 (60)	3 (13,6)	32 (55,2)	9 (23,0)	41 (42,3)
<i>Candida albicans</i>	11 (22)	5 (20)	5 (22,7)	3 (5,2)	18 (46,1)	21 (21,6)
<i>Candida famata</i>	3 (6)	3 (12)	4 (18,2)	9 (15,5)	1 (2,6)	10 (10,3)
<i>Rhodotorula spp.</i>	7 (14)	1 (4)	0	8 (13,8)	0	8 (8,2)
<i>Cryptococcus humicolus</i>	2 (4)	0	2 (9,2)	3 (5,2)	1 (2,6)	4 (4,1)
<i>Pichia sp.</i>	2 (4)	0	1 (4,5)	0	3 (7,7)	3 (3,1)
<i>Candida tropicalis</i>	0	1 (4)	1 (4,5)	0	2 (5,1)	2 (2,1)
<i>Candida zeylanoides</i>	0	0	2 (9,2)	1 (1,7)	1 (2,6)	2 (2,1)
<i>Cryptococcus albidus</i>	1 (2)	0	1 (4,5)	2 (3,4)	0	2 (2,1)
<i>Candida lusitanae</i>	0	0	1 (4,5)	0	1 (2,6)	1 (1,0)
<i>Candida kefir</i>	1 (2)	0	0	0	1 (2,6)	1 (1,0)
No identificados	0	0	2 (9,1)	0	2 (5,1)	2 (2,1)
Total de aislamientos por servicio y sitio anatómicos	50 (100)	25 (100)	22 (100)	58 (100)	39 (100)	97 (100)

positividad fue cirugía 3, donde 25 (83,3%) de los 30 participantes dieron positivos, de la UCI 20 (71,4%) de los 28 participantes y de neonatología 11 (58%) de los 19 participantes. Según la ocupación, 14 auxiliares de enfermería dieron positivo, 26 personas de enfermería, 11 asistentes de pacientes y tres médicos participantes, un estudiante y una persona de limpieza.

De los 56 participantes con cultivos positivos se obtuvieron entre 1 y 4 morfologías coloniales diferentes, por lo que en total se recuperaron 97 aislamientos de levaduras. Según el área de trabajo de los participantes de cirugía 3 se obtuvieron 50 (52%) aislamientos, de la UCI 25 (26%) y de neonatología 22 (22%) de los aislamientos. Según el sitio anatómico, 58 (59,8%) aislamientos provenían de manos y 39 (40,2%) de cavidad oral.

En el cuadro 1 se observa la distribución de los aislamientos por especie, así como su distribución según el servicio y sitio anatómico. *C. parapsilosis* fue la especie más aislada, en el servicio de cirugía 3 y la UCI la más frecuente, mientras que *C. albicans* fue la más aislada de neonatología. Según sitio anatómico, *C. parapsilosis* se aisló más de manos y *C. albicans* de cavidad oral.

Todos los aislamientos de *C. albicans* produjeron tubo germinativo y fueron resistentes a cicloheximida, además, dos aislamientos de *C. parapsilosis* y uno de *C. famata* fueron resistentes a cicloheximida.

El cuadro 2 muestra los aislamientos que crecieron a 37°C, según los factores estudiados. Siete (18,9%) de los aislamientos de *C. parapsilosis* mostraron producción tanto de fosfolipasa como de proteinasa.

En cuanto a la prueba de sensibilidad *in vitro* al fluconazol, todas los aislamientos mostraron una concentración mínima

inhibitoria menor de 4 µg/mL, por lo que se clasifican como sensibles.

## Discusión

Como se observa en los resultados, un alto porcentaje de los trabajadores portan levaduras como parte de la flora normal o en forma transitoria. Solo presentaron aislamientos de cavidad oral 14 participantes, de manos 23 y de ambos sitios, 19 participantes. Este resultado, probablemente se debe a la manipulación de objetos, muestras y pacientes; a pesar de que a la hora de examinar pacientes los trabajadores realizan un adecuado lavado de manos, como norma general. Estos resultados difieren de un estudio realizado por Hernández y colaboradores.<sup>25</sup> la diferencia podría deberse a la metodología utilizada y al sitio de muestreo, ya que estos investigadores solo muestrearon debajo de las uñas índice y pulgar. De cavidad oral se hubiese esperado mayor cantidad de aislamientos, ya que *C. albicans* es considerada flora normal de este sitio anatómico.

El servicio que presentó mayor cantidad de empleados positivos al cultivo y por ende mayor cantidad de aislamientos fue cirugía 3 y según la ocupación de los empleados el personal de enfermería y los asistentes de pacientes de enfermería presentaron mayor positividad en cuanto al aislamiento de levaduras de manos y cavidad oral. Estos resultados podrían estar influenciados por las actividades realizadas en los servicios y por los diferentes grupos de trabajadores, ya que por ejemplo, los auxiliares no participan en los procedimientos invasivos que se practican a los pacientes y por lo tanto tienen menor contacto con los pacientes que los otros dos grupos de trabajadores.

**Cuadro 2. Distribución de los 97 aislamientos según factores estudiados.**

Especie	Crecimiento a 37°C No. (%)	Producción de fosfolipasa No. (%)	Producción de proteinasa No. (%)	Total de aislamientos por especie
<i>Candida parapsilosis</i>	37(90.2)	12(29.3)	20(48.8)	41
<i>Candida albicans</i>	21(100)	21(100)	18(85.7)	21
<i>Candida famata</i>	2(20)	2(20)	1(10)	10
<i>Rhodotorula spp.</i>	2(25)	1(12.5)	0	8
<i>Cryptococcus humicolus</i>	0	0	0	4
<i>Pichia sp.</i>	2(66.7)	1(33.3)	0	3
<i>Candida tropicalis</i>	1(50)	1(50)	1(50)	2
<i>Candida zeylanoides</i>	1(50)	0	0	2
<i>Cryptococcus albidus</i>	0	0	0	2
<i>Candida lusitaniae</i>	0	0	0	1
<i>Candida kefyr</i>	0	0	0	1
No identificados	1(50)	0	0	2

De algunos participantes se aisló más de un morfotipo de levaduras y la especie más frecuentemente aislada, en este estudio, fue *C. parapsilosis* y en segundo lugar, *C. albicans*. *C. parapsilosis* fue también la más aislada en hemocultivos, en un estudio reciente en este hospital,<sup>16</sup> lo que podría sugerir una posible transmisión horizontal de esta especie en este centro, como se ha informado en otros casos.<sup>26</sup>

*C. parapsilosis* es una especie relacionada con candidemias por el uso de catéteres y de dispositivos intravenosos.<sup>27</sup> Aunque no todas las cepas de *C. parapsilosis* aisladas en este estudio, tienen los mismos factores de virulencia, siempre es importante pensar en el trabajador como un posible vehículo transmisor de patógenos oportunistas entre los pacientes en estados delicados de salud.<sup>11,12,28</sup> Para la especie *C. parapsilosis*, tanto la producción de fosfolipasa y la proteinasa como la capacidad de crecer a 37°C y se consideran como factores de virulencia y confieren una potencial patogenicidad.<sup>21, 29</sup> Los aislamientos de esta especie positivos por fosfolipasa y/o proteinasa y que crecen a 37°C fueron aislados principalmente a partir de los trabajadores de la UCI, área en la cual se debe tener el máximo cuidado con este tipo de microorganismos, debido a la alta susceptibilidad de los pacientes que se internan en este servicio.

El 86% de los aislamientos identificados como *C. albicans* provenían de cavidad oral, lo que es de esperar, ya que esta especie es flora normal de ese sitio anatómico.<sup>10</sup> Todos estos aislamientos de *C. albicans* produjeron tubo germinativo, crecieron a 37°C, en su mayoría son resistentes a cicloheximida y dieron resultados positivos por producción de fosfolipasa y proteinasas, estos resultados también son esperables ya que éstas son características que se han asociado muy frecuentemente a esta especie.<sup>20-32</sup>

En cuanto a las otras especies aisladas, *C. zeylanoides*, *C. lusitaniae*, *C. kefyr* y *C. tropicalis* se ha informado con cierta frecuencia su capacidad de actuar como agentes etiológicos de candidiasis alrededor del mundo.<sup>1, 33, 34, 35</sup> Además, *C. tropicalis* se ha aislado en un porcentaje importante, en este hospital, como tercera causa de candidemia<sup>16</sup> por lo que el personal podría actuar como forma de transmisión de esta especie en estos pacientes. Sin embargo, de todos estos aislamientos solamente uno creció a 37°C y produjo fosfolipasa, por lo que, sería un potencial patógeno en las áreas de cuidados críticos, aunque podría sugerirse que debido a su sensibilidad a la temperatura, no represente un peligro real.

*Cryptococcus humicolus*, *Rhodotorula* sp. y *Pichia* sp. son hongos que en raras ocasiones han sido aisladas de casos clínicos.<sup>36, 37</sup> Sin embargo, siempre es importante tomar en cuenta su presencia y la posibilidad de que se convierta en un agente infeccioso nosocomial para pacientes inmunosuprimidos, máxime que los aislamientos de estas especies provenían de manos y uñas.

Para la prueba de sensibilidad *in vitro* al fluconazol todos los aislamientos de *Candida* sp. que crecieron a 37°C

fueron sensibles a este fármaco, el cual es el tratamiento comúnmente usado para infecciones por este género.<sup>38</sup> Este resultado indica que la posibilidad de que circule cepas con resistencia a fluconazol y que esta sea transmitida a un paciente, es muy baja. Sin embargo no se puede predecir si alguno de estos aislamientos llegará a desarrollar resistencia o no cuando se administre este fármaco como tratamiento en un paciente, pues esto dependerá de la cepa que cause la infección y por cuánto tiempo sea administrado el tratamiento. Es importante mencionar que la condición del paciente es la que en general va a determinar si se produce un fallo terapéutico.<sup>39</sup>

Cabe resaltar que las especies aisladas en este estudio, en particular *C. parapsilosis*, son similares a lo informado para pacientes de este hospital por Mora y Carrillo en el 2005, por lo que se podría sugerir que es probable una transmisión horizontal de levaduras del personal a los pacientes. Sin embargo, no se puede descartar que exista colonización per se de los pacientes por estas levaduras, que los llevaría a una posterior infección. Se sugiere estudios posteriores, donde se pueda analizar si realmente está ocurriendo la transmisión horizontal de levaduras.

Se obtuvo una gran cantidad de aislamientos correspondientes a *C. parapsilosis*, y algunos de ellos son productores de proteinasas y fosfolipasas, lo cual genera una preocupación en cuanto a su transmisión entre los pacientes en estados críticos de salud, ya que podrían generar brotes nosocomiales.<sup>40,41</sup> Se recomienda, por tanto, monitorear la presencia de levaduras tanto en pacientes como en los trabajadores de estas áreas, y observar las normas de higiene establecidas, con el fin de evitar un posible brote.

Los aislamientos de *C. albicans* expresan características que las hacen potencialmente patógenas, por lo que también son de cuidado, especialmente en pacientes con inmunosupresión.

En el presente estudio, se observó que existe una posible relación entre la labor desempeñada por el participante y la positividad por levaduras. Las enfermeras y auxiliares de enfermería fueron los que presentaron mayor positividad por levaduras, mientras que los asistentes de pacientes presentaron una menor positividad, esto podría deberse a una mayor manipulación de objetos y mayor contacto con pacientes, por las labores propias de cada ocupación. En cuanto a médicos, personal de aseo y otros, no se obtuvo información significativa, pues fueron muy pocos los que participaron.

La presencia de gran variedad de especies en cavidad oral, como *C. parapsilosis*, *C. kefyr*, *C. lusitaniae*, *C. famata*, *C. zeylanoides*, *C. humicolus*, demuestra que muchos microorganismos se pueden alojar en este sitio, lo cual hace importante el uso del cubrebocas tanto en el personal hospitalario como en los visitantes de los pacientes, para evitar la contaminación tanto de mucosas y heridas como de superficies inanimadas relacionadas con el paciente.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la Dra. Tatiana Moya Moya y la Dra. Gina Rodríguez Benavides del Laboratorio Clínico del Hospital Nacional de Niños y la Clínica Marcial Fallas respectivamente, por facilitar parte de la identificación de las especies de levaduras.

## Referencias

1. Hazen KC. New and emerging yeast pathogens. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8:462-478.
2. Levy I, Rubin LG, Vasishtha S, Tucci V y Sood SK. Emergence of *Candida parapsilosis* as the predominant species causing candidemia in children. *Clin Infect Dis*. 1998; 26:1086-1088.
3. Sota M, Ezpeleta C y Cisterna R. Descripción de 165 episodios de fungemia de un estudio multicéntrico. *Rev Iberoam Micol* 1999; 16:30-35.
4. Cantón E, Viudes A y Pemán J. Infección sistémica nosocomial por levaduras. *Rev Iberoam Micol*. 2001; 18:51-55.
5. Ostrosky-Zeichner L. New approaches to the risk of *Candida* in the intensive care unit. *Curr Opin Infect Dis*. 2003; 16:533-537.
6. Kaufman D. Fungal infection in the very low birthweight infant. *Curr Opin Infect Dis*. 2004; 17:253-259.
7. Hajjeh RA, Sofair AN, Harrison LH, Lyon GM, Arthington-Skaggs BA, Mirza SA, et al. Incidence of bloodstream infections due to *Candida* species and in vitro susceptibilities of isolates collected from 1998 to 2000 in a population-based active surveillance program. *J Clin Microbiol*. 2004; 42:1519-1527.
8. Morrell M, Fraser VJ, Kollef MH. Delaying the empiric treatment of *Candida* bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: a potential risk factor for hospital mortality. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49:3640-3645.
9. Garey KW, Rege M, Pai MP, Mingo DE, Suda KJ, Turpin RS, et al. Time to initiation of fluconazole therapy impacts mortality in patients with candidemia: a multi-institutional study. *Clin Infect Dis*. 2006; 43:25-31.
10. Arenas, R. *Micología Médica Ilustrada*. México. McGraw Hill Interamericana Editores S.A. de CV, 2003: 352 p.
11. Strausbaugh LJ, Sewell DL, Ward TT, Pfaller MA, Heitzman T y Tjoelker R. High frequency of yeast carriage on hands of hospital personnel. *J Clin Microbiol*. 1994; 32:2299-2300.
12. Reagan DR, Pfaller MA, Hollis RJ y Wenzel RP. Evidence of nosocomial spread of *Candida albicans* causing bloodstream infection in a neonatal intensive care unit. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1995; 21:191-194.
13. Silva V, Zepeda G, Rybak ME y Febré N. Portación de levaduras en manos de estudiantes de Medicina. *Rev Iberoam Micol*. 2003; 20: 41-45.
14. Caballero E, Boza R y González K. Candidiasis sistémica - Experiencia en el Hospital San Juan de Dios 1996 – 1998. *Rev Costarric Cienc Méd*. 1999; 20:153-165.
15. Campos M, Herrera ML, Marín JP, Moya T y Vargas A. Especies de *Candida* en el Hospital Nacional de Niños 1995 – 2001. *Rev Med Hosp Nac Niños (Costa Rica)*. 2003; 38:26-29.
16. Mora N y Carrillo P. Candidemia en el Hospital San Juan de Dios: casos del 2003 – 2005. *Rev. Colegio de Microbiólogos y Químicos Clínicos de Costa Rica*. 2005; 11:17-19.
17. Ávila-Agüero ML, Cañas-Coto A, Ulloa-Gutiérrez R, Caro MA, Alfaro B and Paris MM. Risk factors for *Candida* infections in a neonatal intensive care unit in Costa Rica. *Int J Infect Dis*. 2005; 9: 90-95.
18. Alfaro PM. Relación entre el uso de catéteres venosos y septicemia en pacientes del Hospital San Juan de Dios. Trabajo Final de Graduación, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. 2005.
19. Orellana NG. Importancia del desarrollo de septicemia con uso de catéteres venosos en pacientes del Hospital San Juan de Dios. Trabajo Final de Graduación, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica 2006.
20. Mukherjee PK, Chandra J, Kuhn DM y Ghannoum MA. Differential expression of *Candida albicans* phospholipase B (PLB1) under various environmental and physiological conditions. *Microbiol*. 2003; 149: 261-267.
21. Naglik JR, Challacombe SJ y Hube B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2003; 67:400-428.
22. Williamson MI, Samaranyake LP y MacFarlane TW. Phospholipase activity as a criterion for biotyping *Candida albicans*. *J Med Vet Mycol*. 1986; 24: 415-417.
23. Ra TL, Payne CD. Comparative Production and Rapid Purification of *Candida* Acid Proteinase from Protein-Supplemented Cultures. *Infect Immun*. 1990; 58: 508-514.
24. European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing (EUCAST). Method for determination of minimal inhibitory concentration (MIC) by broth dilution of fermentative yeasts. Discussion document E. Dis. 7.1, European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Taufkirchen, Germany. 2002: 5-23.
25. Hernández-Chavarría F, Alvarado K y Madrigal W. Microorganismos presentes en el reverso de las uñas de trabajadores de la salud, Hospital Max Peralta, Cartago, Costa Rica. *Rev costarric cienc Méd*. 2003; 24: 45-51.
26. Posteraro B, Bruno S, Boccia S, Ruggiero A, Sanguinetti M, Spica VR, et al. *Candida parapsilosis* Bloodstream Infection in Pediatric Oncology Patients: Results of an Epidemiologic Investigation. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2004; 25:641-645.
27. Weems J, Chamberland M, Ward J, Willy M, Padhye A y Solomon S. 1987 *Candida parapsilosis* fungemia associated with parenteral nutrition and contaminated blood pressure transducers. *J Clin Microbiol*. 25:1029-1032.
28. Vázquez JA, Dembry LM, Sánchez V, Vázquez MA, Sobel JD, Dmuchowski C, et al. Nosocomial *Candida glabrata* colonization: an epidemiologic study. *J Clin Microbiol*. 1998; 36:421-426.
29. Ibrahim AS, Mirbod F, Filler SG, Banno Y, Cole GT, Kitajima Y, et al. Evidence implicating phospholipase as a virulence factor of *Candida albicans*. *Infect Immun*. 1995; 63:1993-1998.
30. Bennett DE, McCreary CE y Coleman DC. Genetic characterization of a phospholipase C gene from *Candida albicans*: presence of homologous sequences in *Candida* species other than *Candida albicans*. *Microbiology*. 1998; 144:55-72.
31. Vidotto V, Koga-Ito KY, Milano R, Fianchino B y Pontón J. Correlation between germ tube production, phospholipase activity and serotype distribution in *Candida albicans*. *Rev Iberoam Micol*. 1999; 16:208-210.
32. Ghannoum MA. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. *Clin Microbiol Rev*. 2000; 13:122-143.
33. Levenson D, Pfaller MA, Smith MA, Hollis R, Gerarden T, Tucci CB, et al. *Candida zeylanoides*: another opportunistic yeast. *J Clin Microbiol*. 1991; 29:1689-1692.
34. Yoon SA, Vázquez JA, Steffan PE, Sobel JD y Akins RA. High-frequency, in vitro reversible switching of *Candida lusitanae* clinical isolates from amphotericin B susceptibility to resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999; 43:836-845.
35. Leung AYH, Chim CS, Ho PL, Cheng VCC, Yuen KY, Lie AKW, et al. *Candida tropicalis* fungemia in adult patients with haematological malignancies: clinical features and risk factors. *J Hosp Infect*. 2002; 50:316-319.
36. El-Tahawy ATA y Khalaf RMF. *Rhodotorula rubra* fungemia in an immunocompromised patient. *Ann Saudi Med*. 1999; 19:533-535.

37. Hsueh PR, Teng LJ, Ho SW y Luh KT. Catheter-related sepsis due to *Rhodotorula glutinis*. J Clin Microbiol. 2003; 41:857-859.
38. Hsueh PR, Lau YJ, Chuang YC, Wan JH, Huang WK, Shyr JM, et al. Antifungal susceptibilities of clinical isolates of *Candida* species, *Cryptococcus neoformans*, and *Aspergillus Species* from Taiwan: surveillance of multicenter antimicrobial resistance in Taiwan program data from 2003. Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49:512-517.
39. White TC, Marr KA y Bowden RA. Clinical, cellular and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance. Clin Microbiol Rev. 1998; 11:382-402.
40. Lupetti A, Tavanti A, Davini P, Ghelardi E, Corsini V, Merusi I et al. Horizontal transmission of *Candida parapsilosis* candidemia in a neonatal intensive care unit. J Clin Microbiol. 2002; 40:2363-2369.
41. Kuhn DM, Mukherjee PK, Clark TA, Pujol C, Chandra J, Hajjeh RA, et al. *Candida parapsilosis* characterization in an outbreak setting. Emerg Infect Dis. 2004; 10:1074-1081.