

# Resistencia *in vitro* a los antifúngicos en *Candida albicans* de pacientes infectados por el VIH con y sin candidosis oral

Alejandro Ceballos Salobreña<sup>1</sup>, Luis A. Gaitán Cepeda<sup>2</sup>, Francisco Orihuela Cañada<sup>3</sup>, Delfina Olea Barrionuevo<sup>3</sup>, Laura Ceballos García<sup>1</sup> y Guillermo Quindós<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Patología Bucal, Facultad de Odontología, Universidad de Granada, Granada, España; <sup>2</sup>Cátedra de Patología Bucal, Facultad de Odontología, U.N.A.M. México, México D.F., México; <sup>3</sup>Unidad de Enfermedades Infecciosas/SIDA, Hospital Regional Carlos Haya, Málaga, España y <sup>4</sup>Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco, Bilbao, España

## Resumen

El objetivo principal de este trabajo ha sido determinar la sensibilidad *in vitro* a los antimicóticos de uso clínico más habitual de aislamientos clínicos de *Candida* procedentes de pacientes infectados por el VIH o con sida, teniendo en cuenta si padecían o no candidosis oral. Para ello, se examinó la cavidad oral de 307 pacientes y les fue tomada una muestra oral con hisopo estéril que posteriormente fue procesada por métodos micológicos convencionales. La sensibilidad a anfotericina B, nistatina, fluconazol, itraconazol y ketoconazol, se determinó por difusión en agar empleando tabletas Neo-Sensitabs® (Rosco Diagnostica, Dinamarca).

Se obtuvieron 135 aislamientos de *Candida albicans* (91 del serotipo A, 38 del serotipo B, tres *C. albicans* variedad *stellatoidea* y tres aislamientos no fueron tipificados), tres *Candida krusei* y dos *Candida glabrata*. Ninguno de los 140 aislamientos presentó resistencia a nistatina o anfotericina B. Sin embargo, se observaron resistencias *in vitro* al fluconazol en el 7,9% de los aislamientos y en un 2,9% de los mismos a ketoconazol e itraconazol. Casi todos los aislamientos de *C. krusei* y *C. glabrata*, el 31% de los aislamientos de pacientes con candidosis y el 20% de los de pacientes colonizados por *Candida* mostraron una sensibilidad disminuida a los azoles. El presente estudio muestra que los antifúngicos poliénicos tienen gran eficacia *in vitro* sobre los aislamientos de pacientes infectados por el VIH y que la resistencia *in vitro* a los azoles no es tan elevada como la observada en otros países.

## Palabras clave

Antifúngicos, *Candida*, Sida, Fluconazol, Resistencia

## *In vitro* antifungal resistance in *Candida albicans* from HIV-infected patients with and without oral candidosis

## Summary

The main purpose of this study has been to determine the *in vitro* antifungal susceptibility of clinical isolates from HIV-infected or AIDS patients, depending on the presence of oral candidosis. The oral cavity of 307 HIV-infected or AIDS patients was examined and an oral swab was cultured on Sabouraud glucose agar and studied by conventional mycological methods. *In vitro* antifungal susceptibility to amphotericin B, nystatin, fluconazole, itraconazole and ketoconazole was tested by disk diffusion with Neo-Sensitabs™ tablets (Rosco Diagnostica, Dinamarca).

One hundred and thirty five *Candida albicans* isolates (91 serotype A, 38 serotype B, three *C. albicans* variety *stellatoidea* and three untyped isolates), three *Candida krusei* and two *Candida glabrata* were obtained. All the isolates were susceptible to nystatin and amphotericin B. However, 7,9% isolates were resistant to fluconazole and 2,9% isolates were resistant to ketoconazole or itraconazole. Nearly all *C. krusei* and *C. glabrata* isolates, 31% patients with candidosis and 20% *Candida*-colonized patients showed decreased susceptibility to azoles. This study shows that polyenes had a great *in vitro* efficacy against clinical isolates from HIV-infected patients and that *in vitro* resistance to azoles is not as high as observed in other countries.

## Key words

Antifungal drugs, *Candida*, AIDS, Fluconazole, Resistance

**Dirección para correspondencia:**  
Dr. Alejandro Ceballos Salobreña  
C/ Emperatriz Eugenia 19, 1º E,  
E-18003, Granada, España  
E-mail: ceballos@platon.ugr.es

Aceptado para publicación el 14 de septiembre de 1999

©1999 Revista Iberoamericana de Micología  
Apdo. 699, E-48080 Bilbao (Spain).  
1130-1406/99/5.00 Euros

La candidosis oral ha sido ampliamente asociada a estados de inmunodepresión y se ha establecido su valor pronóstico en el curso de la infección por VIH [1-4]. El tratamiento y control de la candidosis es importante dentro de las pautas terapéuticas del sida y está basado en el empleo racional de antimicóticos azólicos, principalmente de fluconazol (FLZ) [5-9]. Aunque es indudable el valor terapéutico de los antifúngicos azólicos, en los últimos años se han observado episodios de candidosis orales que no respondían adecuadamente a este tratamiento y se han descrito aislamientos clínicos de *Candida* que eran resistentes *in vitro* a ketoconazol (KTZ), FLZ y/o itraconazol (ITZ) [10-12]. Por otra parte, no se ha establecido si la patogenicidad de los aislamientos y su relación con la manifestación clínica de la infección candidósica tiene relación con una menor sensibilidad *in vitro* a los antifúngicos empleados.

El objetivo de este trabajo ha sido determinar la sensibilidad *in vitro* a los antifúngicos de uso habitual, como anfotericina B (AMB), nistatina (NIST), FLZ, ITZ y KTZ, de las cepas de *Candida* aisladas de pacientes infectados con el VIH con o sin sida, valorando la presencia o no de candidosis oral.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Pacientes.** Los pacientes fueron seleccionados aleatoriamente entre los atendidos en las consultas externas de la Unidad de Enfermedades Infecciosas-VIH del Servicio de Medicina Interna del Hospital Regional Carlos Haya de Málaga, durante un periodo tres meses consecutivos. Los pacientes debían haber sido diagnosticados de infección por VIH para ser incluidos en el estudio. A todos ellos se les realizó un exhaustivo examen de su cavidad bucal buscando la presencia o no de candidosis oral, el tipo clínico de la candidosis, así como su ubicación topográfica.

**Recogida y procesado de las muestras orales.** A los pacientes seleccionados se les tomó una muestra con hisopo estéril de toda la cavidad bucal. Las muestras orales fueron sembradas en agar glucosado de Sabouraud con cloranfenicol (Difco, EE.UU.) y se incubaron en estufa a 37 °C durante 48-72 h. La identificación de las levaduras aisladas se realizó por métodos convencionales [13]. La serotipificación de los aislamientos de *Candida albicans* fue realizada por inmunofluorescencia indirecta utilizando el anticuerpo monoclonal B9E, según hemos descrito anteriormente [14].

**Sensibilidad *in vitro* a los antifúngicos.** Para determinar la sensibilidad *in vitro* a los antifúngicos se utilizaron tabletas (AMB, 10µg; NIST, 50 µg; KTZ, 15 µg; FLZ, 15 µg; e ITZ, 10µg) Neo-Sensitabs® (Rosco, Dinamarca) depositadas en placas de agar con un medio tamponado de base de levadura nitrogenada, glucosa y asparragina que previamente habían sido inoculadas mediante inundación con una dilución 1:2 de una suspensión celular ajustada a 0,5 MacFarland (más diluida, 1:10 en el caso de *Candida krusei*), realizando la incubación de las placas a 35°C y la lectura a las 18-24 h. Los diámetros de los halos de inhibición fueron medidos con un calibre (Mitutoyo, Japón) y las cepas fueron clasificadas como resistentes, sensibles o de sensibilidad intermedia o dosis-dependiente al antifúngico estudiado, en virtud del diámetro del halo de inhibición (DHI). La clasificación por categorías de sensible ( $\geq 15$  mm), de sensibilidad intermedia (14-10 mm) o resistente ( $\leq 9$  mm) a AMB y NIST; sensible ( $\geq 30$  mm), de sensibilidad intermedia (29-23 mm) o resistente ( $\leq 22$  mm) a KTZ y FLZ; y sensibilidad ( $\geq 20$  mm), de sensibilidad intermedia (19-12 mm) o resistente ( $\leq 11$

mm) a ITZ, se hicieron de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes [15,16]. Las cepas de referencia utilizadas en el estudio incluían *C. albicans* American Type Culture Collection (ATCC, EE.UU.) 90028 sensible a FLZ (DHI= 37-40 mm), *C. albicans* ATCC 90029 sensible a FLZ (DHI= 35-40 mm), *C. albicans* Y01.09 sensible a FLZ (DHI= 37-39 mm, Pfizer, Reino Unido), *C. albicans* Y01.19 resistente a FLZ (DHI= 13-15 mm, Pfizer), *C. albicans* ATCC 64548 sensible a todos los antifúngicos estudiados, *C. albicans* ATCC 64550 resistente a ITZ (DHI= 0-11 mm), *Candida glabrata* ATCC 90030 resistente a FLZ (DHI= 11-13 mm) y *C. glabrata* 2238NL resistente a AMB (DHI= 9-13 mm, Rosco), *Candida parapsilosis* ATCC 22019 sensible a FLZ (DHI= 33-35 mm) y *C. krusei* ATCC6258 resistente a FLZ (DHI= 11-14 mm).

**Análisis estadístico.** Los datos obtenidos recibieron un tratamiento estadístico utilizando el programa Epi info (versión 5.01). Se calculó la media y la desviación estándar de las variables cuantitativas de interés. Se empleó la prueba de chi al cuadrado para la comparación de proporciones y variables cualitativas, aceptando un intervalo de confianza del 95% ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS

Se estudiaron 307 pacientes (de 32,3 años, con un rango que oscilaba entre 15 y 61 años) con infección por VIH, de los que 140 (104 varones y 36 mujeres) estaban colonizados o infectados por *Candida*. De los 140 aislamientos orales, 135 fueron *C. albicans*, siendo 91 del serotipo A, 38 del serotipo B, tres de la variedad *stellatoidea* y no se pudo determinar el serotipo de tres aislamientos. Además se aislaron tres *C. krusei* y dos *C. glabrata*.

Ninguno de los 140 aislamientos fue resistente *in vitro* a NIST o a AMB. Sin embargo, 11 aislamientos fueron resistentes a FLZ (siete eran *C. albicans* y de estos, cinco del serotipo A) y cuatro a KTZ (dos eran *C. albicans* del serotipo A). Nueve aislamientos presentaron sensibilidad intermedia a este último antimicótico (siete eran *C. albicans*). En relación al ITZ, cuatro aislamientos de *C. albicans* (tres del serotipo A) fueron resistentes y tres (todos del serotipo A) de los siete aislamientos que presentaron sensibilidad intermedia pertenecían a esta especie (Tabla 1).

Los tres aislamientos de *C. albicans* variedad *stellatoidea* fueron sensibles *in vitro* a todos los antifúngicos evaluados. Uno de los dos aislamientos de *C. glabrata* fue resistente al FLZ y mostró sensibilidad intermedia al KTZ y al ITZ. En el caso de *C. krusei*, los tres aislamientos fueron sensibles a la NIST, mostraron resistencia al FLZ, y dos de ellos también mostraron resistencia al KTZ y el otro una sensibilidad intermedia. La sensibilidad al ITZ de los tres aislamientos de *C. krusei* se clasificó como dosis-dependiente.

La historia médica reveló que 38 pacientes estaban siendo tratados con FLZ, bien como terapia profiláctica intermitente o como tratamiento continuo. Se aisló *Candida* en más de la mitad de estos pacientes (58%). Cinco de 15 aislamientos evaluados (33%) eran resistentes *in vitro* al FLZ.

De los 58 aislamientos obtenidos de pacientes con candidosis, seis (10,3%) fueron resistentes al FLZ, uno al KTZ (1,7%) -cinco mostraron sensibilidad intermedia- y dos al ITZ (2,4%) -cuatro presentaron sensibilidad intermedia- (Tabla 2). De los 82 aislamientos de pacientes sin candidosis, cinco (6 %) fueron resistentes al FLZ, tres (3,6%) al KTZ -cuatro exhibieron sensibilidad intermedia- y dos al ITZ -tres con sensibilidad intermedia-. No hubo

**Tabla 1.** Sensibilidad antifúngica de los aislamientos obtenidos de la cavidad oral de los pacientes.

Especie (n)	Antifúngico											
	Anfotericina B o Nistatina			Fluconazol			Itraconazol			Ketoconazol		
	S	SDD	R	S	SDD	R	S	SDD	R	S	SDD	R
<i>Candida albicans</i> (135)	135	0	0	128	0	7	128	3	4	126	7	2
serotipo A* (97)	97	0	0	91	0	6	91	3	3	90	5	2
serotipo B (38)	38	0	0	37	0	1	37	0	1	36	2	0
<i>Candida krusei</i> (3)	3	0	0	0	0	3	0	3	0	0	1	2
<i>Candida glabrata</i> (2)	2	0	0	0	1	1	0	2	0	0	2	0
Total (140)	140	0	0	128	1	11	128	8	4	126	10	4

\* Están incluidos tres aislamientos de *C. albicans* variedad *stellatoidea* y tres aislamientos no serotificados.  
S= sensible, SDD= sensible dosis-dependiente, R= resistente.

diferencias estadísticamente significativas en la sensibilidad o resistencia al FLZ o al resto de los azoles cuando se tenía en cuenta si los aislamientos procedían de pacientes con candidosis o de colonización oral no asociada a candidosis.

**Tabla 2.** Sensibilidad disminuida a los antifúngicos azólicos según la procedencia clínica de los aislamientos.

Antifúngico	Porcentaje de aislamientos de					
	Pacientes con candidosis oral (n= 58)			Pacientes con colonización oral (n= 82)		
	SDD	R	Total	SDD	R	Total
Fluconazol	0	10,3	10,3	0	6	6
Itraconazol	6,8	3,4	10,2	3,6	2,4	8
Ketoconazol	8,6	1,7	10,3	4,8	3,6	8,4

SDD= sensible dosis-dependiente, R= resistente.

## DISCUSIÓN

La candidosis oral es una de las complicaciones más frecuentes de los sujetos infectados por el VIH y de los pacientes con sida, por lo que el control y tratamiento de esta infección oportunista juega un papel fundamental en la evolución de la enfermedad de estos pacientes. El grado de eficacia del tratamiento curativo y/o profiláctico se ve influido por diferentes factores, entre los que es importante la posible aparición o selección de cepas resistentes a los antifúngicos.

Al poco tiempo de la introducción del FLZ en la práctica clínica (primeros años de la década de los 1990s), se empezaron a comunicar casos de candidosis orofaríngea que no respondían al tratamiento en pacientes VIH+ que habían recibido FLZ de forma prolongada o reiterada [10-12]. Una situación similar había sido descrita para el KTZ, asociándose el fracaso del tratamiento con la aparición de cepas resistentes [5].

En el presente estudio, no hemos encontrado aislamientos clínicos resistentes a AMB o NIST, lo que concuerda con la mayoría de los estudios realizados anteriormente [17,18]. Sin embargo, alrededor del 8% de los 140 aislamientos evaluados mostraron resistencia *in vitro* a FLZ. Estos resultados son inferiores a los publicados por otros autores [19-22], cuyos porcentajes de cepas resistentes oscilan entre el 14 y el 41%. La gran mayoría de los casos resistentes al tratamiento se han observado en pacientes que han recibido un tratamiento prolongado con FLZ [23], existiendo cierta controversia entre si lo que favorece la aparición de resistencia es la terapia continua o intermitente [24]. En el trabajo presente, de los 11 aislamientos resistentes al FLZ que observamos, seis (54,5%)

provenían de pacientes que estaban o habían estado en tratamiento prolongado con FLZ, lo que parece apoyar el hecho de que el tratamiento prolongado con este fármaco promueve la aparición de cepas resistentes. Cuatro de los 11 aislamientos resistentes eran de especies distintas de *C. albicans* (tres *C. krusei* y una *C. glabrata*), lo que representa el 36% de estos aislamientos. Las tres cepas de *C. krusei* y una de las dos *C. glabrata* fueron resistentes al FLZ. Autores como Ruhnke, en Alemania [25] y Drobacheff, en Francia [21] encuentran en algunos de los pacientes sometidos a tratamientos repetidos con FLZ, resultados similares a los obtenidos por nosotros, observándose una selección de especies distintas de *C. albicans* (como *C. krusei* y *C. glabrata*), que son resistentes habituales a este triazol.

La correlación entre el método de difusión de disco y la dilución en RPMI de acuerdo al protocolo M27-A de los NCCLS no es completa pero refuerza la utilidad del método empleado en el presente trabajo como herramienta para cribar un número alto de aislamientos clínicos con una reducida complejidad metodológica y un coste asequible para la mayoría de los laboratorios, como han descrito recientemente Carrillo Muñoz *et al.* [26] y Pemán *et al.* [27].

En nuestro estudio, todas las cepas de *Candida* resistentes al FLZ, mostraron resistencia o sensibilidad disminuida a ITZ y todas, excepto una, eran de sensibilidad intermedia o resistentes a KTZ. Estos datos sugieren que los aislamientos clínicos de *Candida* resistentes al FLZ después de su uso terapéutico prolongado, muestran resistencia cruzada con otros azoles, como ITZ y KTZ. Otros autores han descrito aislamientos resistentes a diferentes azoles, como KTZ [13] o ITZ y KTZ [22,28-30], aunque la frecuencia de resistencia cruzada ha sido baja: dos de 32 aislamientos, en uno de los trabajos [28] y dos de 51, en el otro [2]. Johnson *et al.* [29] observaron que muchos de los aislamientos resistentes *in vitro* al FLZ de pacientes en tratamiento prolongado con FLZ, eran sensibles al KTZ, lo que sugiere que la resistencia cruzada no ocurre en todos los casos.

En diferentes estudios y países se ha observado una mayor resistencia de los aislamientos del serotipo B de *C. albicans* a algunos antifúngicos, como 5-fluorocitosina [31-33], KTZ y FLZ [34,35]. En nuestro trabajo no hemos encontrado diferencias en la sensibilidad *in vitro* a los antifúngicos estudiados entre ambos serotipos de *C. albicans*, e incluso apreciamos una mayor tendencia relativa del serotipo A a ser menos sensible a los azoles que el serotipo B.

Los antifúngicos orales sistémicos se consideran los más indicados para el tratamiento de las candidosis orofaríngeas en los pacientes con infección VIH. Sin embargo, en ambos casos se producen recidivas y fallos en el tratamiento y se puede sugerir que la NIST o la

AMB tópicos puedan ser considerada como alternativas terapéuticas para muchos de estos pacientes. Finalmente, la aparición de nuevos antifúngicos azólicos, como voriconazol o D0870 y equinocandinas hacen tener grandes esperanzas de conseguir un tratamiento adecuado de la candidosis oral, pero será necesario esperar a la adecuada evaluación de su actividad antifúngica tanto *in vitro* como *in vivo*.

## Bibliografía

1. Klein, RS, Harris CA, Small, CB, Moll B, Lesser M, Friedlan GH. Oral candidosis in high-risk patients as the initial manifestation of the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1984; 311:354.
2. Plettenberg A, Reisinger E, Lenzer U, et al. Oral candidosis in HIV-infected patients. Prognostic value and correlation with immunological parameters. *Mycoses* 1990; 33: 421.
3. Dodd CL, Greenspan D, Katz MH, et al. Oral candidosis in VIH infection: Pseudomembranous and erythematous candidosis show similar rates of progression to AIDS. *AIDS* 1991; 5:1339-1343.
4. Katz MH, Greenspan D, Westenhouse J, et al. Progression to AIDS in HIV-infected homosexual and bisexual men with hairy leukoplakia and oral candidosis. *AIDS* 1992; 6: 95-100.
5. Smith DE, Gazzard BG. Fluconazole versus ketoconazole in oropharyngeal candidosis in AIDS. *Lancet* 1989; 1:1131.
6. Hay RJ. Overview of studies of fluconazole in oropharyngeal candidosis. *Rev Infect Dis* 1990; 12 (Suppl): S334-S337.
7. Chaves JP, Cajot A, Bille J, Glauser MP. Single-doses therapy for oral candidosis with fluconazol in HIV-infected adults: A pilot study. *J Infect Dis* 1989; 159: 806-807.
8. Leen CLS, Dunbar EM, Ellis ME, Mandal BK. Once-weekly fluconazole to prevent recurrence of oropharyngeal candidosis in patients with AIDS and AIDS-related complex: A double-blind placebo-controlled study. *J Infect Dis* 1990; 21: 55-60.
9. Greenspan D. Treatment of candidosis in HIV infection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994; 78: 211-215.
10. Diz P, Ocampo A, Miralles C, Otero Y, Iglesias Y, Martínez C. Candidosis orofaríngea resistente al fluconazol en pacientes con SIDA. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1993; 11: 36-39.
11. Corzo Delgado JE, Lozano de León F, Areño Najarro R, Martín Mazuelos E. Resistencia progresiva al fluconazol en un paciente con infección por VIH y candidosis orofaríngea recurrente. *Med Clin (Barc)* 1994; 10: 639.
12. Heinic GS, Stevens DA, Greenspan D, et al. Fluconazole-resistant *Candida* in AIDS patients. Report of two cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993; 76: 711-715.
13. Quindós G, Pontón J. Candidiasis de la cavidad oral: Etiología, patogenia y diagnóstico de laboratorio. *Med Oral* 1996; 1: 85-95.
14. Barturen B, Bikandi J, San Millán R, et al. Variability in expression of antigens responsible for serotype specificity in *Candida albicans*. *Microbiology* 1995; 141: 1535-1543.
15. Casals JB. Tablet sensitivity testing of pathogenic fungi. *J Clin Pathol* 1979; 32: 719-722.
16. Casals JB, Pringler N. Antibacterial/antifungal sensitivity testing using NeoSensitabs (9th Ed). Taastrup, Denmark; Rosco Diagnostica, 1991.
17. Quindós G, San Millán R, Burgos A, et al. Evaluación de la sensibilidad a los antifúngicos de aislamientos clínicos de los serotipos A y B de *Candida albicans* mediante el método ATB Fungus. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1995; 13: 209-212.
18. Still JM, Law EJ, Belcher KE, Spencer SA. A comparison of susceptibility to five antifungal agents of yeast culture from burn patients. *Burn* 1995;21:167-170.
19. Maenza JR, Merz WG, Romagnoli MJ, Keruly JC, Moore RD, Gallant JE. Infection due to fluconazole-resistant *Candida* in patients with AIDS: prevalence and microbiology. *Clin Infect Dis* 1997;24:28-34.
20. Revankar SG, Kirkpatrick WR, McAtee RK, et al. Detection and significance of fluconazole resistance in oropharyngeal candidosis in human immunodeficiency virus-infected patients. *J Infect Dis* 1996;174:821-827.
21. Drobacheff C, Manteaux A, Millon L, Reboux G, Barale T, Laurent R. Candidosés oropharyngées résistantes au fluconazole chez des malades infectés par le VIH. *Ann Dermatol Veneréol* 1996;123:85-89.
22. Chryssanthou E, Torssander J, Petrini B. Oral *Candida albicans* isolates with reduced susceptibility to fluconazole in Swedish HIV-infected patients. *Scand J Infect Dis* 1995; 27:391-395.
23. Johnson EM, Warnock DW, Luker J, Porter SR, Scully C. Emergence of azole drug resistance in *Candida* species from HIV-infected patients receiving prolonged fluconazole therapy for oral candidosis. *J Antimicrobial Chemother* 1995;35: 103-114.
24. Maenza JR, Keruly JC, Moore RD, Chaisson RE, Merz WG, Gallant JE. Risk factors for fluconazole-resistant candidosis in human immunodeficiency virus-infected patients. *J Infect Dis* 1996; 173:219-225.
25. Ruhnke M, Eigler A, Engelmann E, Geiseler B, Trautmann M. Correlation between antifungal susceptibility testing of *Candida* isolates from patients with HIV infection and clinical results after treatment with fluconazole. *Infection* 1994; 22:132-136.
26. Carrillo-Muñoz AJ, Abarca L, Quindós G, et al. Multicenter evaluation of NeoSensitabs, a standardized diffusion method for yeast susceptibility testing. *Rev Iberoam Micol* 1999; 16: 92-96.
27. Pemán J, Cantón E, Orero A, et al. Actividad *in vitro* de fluconazol sobre *Candida albicans* aisladas de hemocultivo. *Rev Esp Quimioter* 1998; 11: 339-343.
28. Tumbarello M, Calderola G, Tacconelli E, et al. Analysis of the risk factors associated with the emergence of azole resistant oral candidosis in the course of HIV infection. *J Antimicrobial Chemother* 1996; 38:691-699.
29. Johnson EM, Davey KG, Szekely A, Warnock DW. Itraconazole susceptibilities of fluconazole susceptible and resistant isolate of five *Candida* species. *J Antimicrob Chemother* 1995; 36:787-793.
30. Cartledge JD, Midgley J, Gazzard BG. Non-*albicans* oral candidosis in HIV-positive patients. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43: 419-422.
31. Shadomy S, Shadomy HJ. Comparative *in vitro* antifungal susceptibility studies with 30 serotypes A and B isolates of *Candida albicans*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1991;14:21-22.
32. Burgos A, Bikandi J, Fernández-Rodríguez M, Pontón J, Cisterna R, Quindós G. Correlación entre los serotipos A y B de *Candida albicans* y su sensibilidad a AMB y 5-fluorocitosina. *Rev Esp Quimioter* 1992; 5:79-85.
33. Weber S, Polak A. Susceptibility of yeasts isolates from defined German patient groups to 5-fluorocytosine. *Mycoses* 1992;35:163-171.
34. Mendoza M, Russian E, Villanueva E, de Torres DE, de Albornoz MB. Sensibilidad de los serotipos A y B de *Candida albicans* y de otras levaduras del género *Candida* frente a diferentes azoles. *Rev Iberoam Micol* 1994; 11:74-76.
35. Imbert-Bernard C, Valentin A, Reynes J, Mallié M, Bastide JM. Relationship between fluconazole sensitivity of *Candida albicans* isolates from HIV positive patients and serotype, adherence and CD4+ lymphocyte count. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994;13:711-716.

*Este trabajo ha sido parcialmente financiado por la Junta de Andalucía (Grupo de Investigación Patología y Medicina Oral C.T.S.-420) y por los proyectos 97/2052 del Ministerio de Sanidad y Consumo / Fondo de Investigación Sanitaria - Plan Nacional de Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico, modalidad C para 1997 y UPV 093.327-EC233/97 de la Universidad del País Vasco.*