



Original

Levaduras causantes de onicomiosis en cuatro centros dermatológicos mexicanos y su sensibilidad antifúngica a compuestos azólicos

Patricia Manzano-Gayosso^{a,b,*}, Luis Javier Méndez-Tovar^c, Roberto Arenas^d,
Francisca Hernández-Hernández^a, Blanca Millán-Chiu^a, Josep M. Torres-Rodríguez^e,
Elda Cortés-González^a, Ramón Fernández^d y Rubén López-Martínez^a

^a Laboratorio de Micología Médica, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México

^b Laboratorio de Investigación Médica en Dermatología y Micología Dr. Ernesto Macotela Ruíz, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional, Siglo XXI, IMSS, México, D.F., México

^c Sección de Micología, Hospital General Dr. Manuel Gea González, S.A. México, D.F., México

^d Unitat de Recerca en Malalties Infeccioses i Micologia, Institut Municipal D'Investigació Mèdica, Barcelona, España

^e Servicio de Medicina Interna, Hospital General Dr. Darío Fernández, ISSSTE, México, D.F., México

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 24 de abril de 2010

Aceptado el 3 de noviembre de 2010

On-line el 13 de diciembre de 2010

Palabras clave:

Onicomiosis

Candida albicans

Candida parapsilosis

Sensibilidad antifúngica

Itraconazol

Fluconazol

R E S U M E N

Antecedentes: Las levaduras representan la segunda causa mundial de infecciones fúngicas ungueales, donde *Candida albicans* y *Candida parapsilosis* son las dos especies más frecuentes.

Objetivos: Conocer la frecuencia de especies de levaduras y su sensibilidad antifúngica *in vitro*, obtenidas de pacientes con manifestaciones clínicas sugestivas de onicomiosis.

Métodos: En México se realizó un estudio prospectivo en pacientes atendidos en cuatro centros de atención dermatológica de 2004 a 2007. El diagnóstico clínico fue corroborado por examen directo y cultivo. La especie de levadura fue determinada por pruebas morfológicas y bioquímicas. A cada aislamiento se le determinó la sensibilidad a ketoconazol, itraconazol y fluconazol mediante el método de microdilución en caldo (documento M27-A2).

Resultados: Se obtuvieron 166 aislamientos levaduriformes; las especies más frecuentes fueron *C. parapsilosis* (31,9%), *C. albicans* (22,4%) y *Candida guilliermondii* (12,7%). De todos los aislamientos, 51 mostraron resistencia a uno o varios de los azoles probados: 33 a itraconazol, 12 a ketoconazol y 6 a fluconazol. Fue notable que los 4 aislamientos de *Candida glabrata* fueron resistentes a los tres compuestos azólicos; *C. guilliermondii* y *Candida famata* fueron resistentes a itraconazol en el 42,9% y en el 54,5%, respectivamente.

Conclusión: Los resultados obtenidos demuestran la importancia de identificar al agente etiológico y realizar pruebas de sensibilidad para evitar fracasos terapéuticos en las onicomiosis.

© 2010 Revista Iberoamericana de Micología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Onychomycosis-causing yeasts in four Mexican dermatology centers and their antifungal susceptibility to azolic compounds

A B S T R A C T

Background: Yeasts represent the second cause of nail fungal infection in the world, and *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* are the two most common species.

Objectives: To determine the yeast species frequency and their *in vitro* antifungal susceptibility, obtained from patients with clinical features suggestive of onychomycosis.

Methods: A prospective study was carried out in four dermatological care centers in Mexico from 2004 to 2007. Clinical diagnosis was corroborated by direct examination and culture. The yeast species was determined by morphological and biochemical tests. An antifungal susceptibility test to ketoconazole, itraconazole and fluconazole by the broth microdilution method was performed on each isolate (document M27-A2).

Keywords:

Onychomycosis

Candida albicans

Candida parapsilosis

Antifungal susceptibility

Itraconazole

Fluconazole

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: angelesmg@liceaga.facmed.unam.mx (P. Manzano-Gayosso).

Results: One hundred sixty-six yeast isolates were obtained; the most frequently found species were *C. parapsilosis* (31.9%), *C. albicans* (22.4%) and *Candida guilliermondii* (12.7%). Of all isolates, 51 showed resistance to one or several of the azole compounds: 33 to itraconazole, 12 to ketoconazole and 6 to fluconazole. It was remarkable that the four *Candida glabrata* isolates were resistant to the three azole compounds; *C. guilliermondii* and *Candida famata* were resistant to itraconazole in 42.9% and 54.5%, respectively.

Conclusion: The results obtained show the importance of identifying the aetiological agent and antifungal susceptibility testing in order to avoid therapeutic failures in onychomycosis.

© 2010 Revista Iberoamericana de Micología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

La onicomicosis es la afección más común de las uñas; se ha calculado una prevalencia mundial del 2–50%¹⁻⁴. Los hombres son el grupo de la población más afectado y con predominio en la población adulta⁵⁻⁷, aunque algunos datos recientes reportan que la onicomicosis por levaduras es más común en mujeres⁴. La frecuencia de las onicomicosis y el número de agentes etiológicos va en aumento^{4,8,9}. Entre los factores predisponentes se encuentran la insuficiencia venosa, la diabetes mellitus y otras enfermedades inmunosupresoras^{2,6,8}. De los hongos filamentosos queratinofílicos, el principal agente encontrado es *Trichophyton rubrum*, pero en los últimos años se ha visto un incremento de infecciones causadas por levaduras, de las cuales las especies del género *Candida* son las más comunes^{5,10-12}. También se ha observado variación en la localización corporal de estas infecciones; actualmente, del 51 al 70% de las onicomicosis por *Candida* se presentan en las uñas de las manos y el 1–32% en las uñas de los pies¹². Durante muchos años, *Candida albicans* ha sido la levadura más frecuente causante de onicomicosis en las manos de mujeres adultas; sin embargo, en las dos últimas décadas, se ha observado un cambio en las especies, destacando un incremento en *Candida parapsilosis*, seguida de *C. albicans*¹²⁻¹⁴. Segal et al¹² describieron una frecuencia de *C. parapsilosis* en el 39,5% de los casos de onicomicosis de las uñas de los pies y en el 36,7% de las uñas de las manos. Otro hallazgo observado en relación a este agente es que cuando afecta a individuos sanos, existe el antecedente de traumatismos en las uñas y, habitualmente, son personas dedicadas a las labores de jardinería^{13,15}. En México se han realizado estudios sobre la onicomicosis en algunos grupos de población^{8,10,16} y su importancia como causa del 24% de las consultas dermatológicas¹⁶. En el trabajo de Abad-González et al se estudiaron 5.221 casos de onicomicosis, de los cuales el 83,5% fueron causados por dermatofitos y el 11,1% por *Candida* spp. y *Trichosporon* spp. El 31,8% de estas levaduras fueron aisladas de pacientes adultos con diabetes mellitus¹⁰.

En general, para el tratamiento de la onicomicosis por levaduras están indicados los antifúngicos sistémicos azólicos. De éstos, el de mayor uso ha sido el itraconazol¹⁷, antifúngico que también ha sido empleado ampliamente como profiláctico de infecciones micóticas sistémicas en pacientes con inmunosupresión severa¹⁸.

Uno de los fenómenos de reciente observación en las infecciones ungueales por hongos levaduriformes es el incremento en los fracasos terapéuticos que, entre otras causas, puede tener su origen en la aparición de resistencia a los antifúngicos. Diversas publicaciones demuestran que *Candida* spp. presenta resistencia *in vitro* a fluconazol e itraconazol¹⁹⁻²¹. Recientemente, en México también se ha documentado la existencia de resistencia hasta en el 27,5% de los aislamientos de *Candida* obtenidos de diversas localizaciones²².

Los objetivos de este estudio fueron conocer la frecuencia de las especies de levaduras causantes de onicomicosis en cuatro centros de atención dermatológica de la ciudad de México, su correlación con la localización de la distrofia ungueal y, finalmente, conocer la sensibilidad antifúngica frente a ketoconazol, itraconazol y fluconazol, que son los antimicóticos de mayor disponibilidad y uso en México.

Materiales y métodos

De enero de 2004 a diciembre de 2007 se realizó un estudio prospectivo y descriptivo de pacientes en edad adulta con onicomicosis causadas por levaduras diagnosticadas por examen directo y cultivo, en cuatro centros de atención dermatomicológica de la Ciudad de México (Hospital General Dr. Darío Fernández, ISSSTE, Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional, IMSS, Hospital General Dr. Manuel Gea González S.A., Laboratorio de Micología Médica, Facultad de Medicina, UNAM). De todos los pacientes se obtuvieron datos de edad, sexo y localización de la distrofia ungueal. Para considerar a las levaduras como causantes de la infección ungueal, fue necesario cumplir por lo menos con dos de los siguientes criterios: 1) examen microscópico directo de las escamas con abundantes levaduras y/o pseudohifas, hifas; 2) crecimiento abundante de levaduras como único agente, en por lo menos 2 placas, o 3) desarrollo de la misma levadura en tres cultivos repetidos²³.

Los aislamientos fueron cultivados en agar dextrosa Sabouraud (ADS) con y sin cloranfenicol y con cicloheximida (Bioxon, México) y en CHROMagar *Candida*® (CHROMagar Company Ltd., Francia), para la identificación presuntiva de algunas de las especies²⁴. Después se estimuló la producción de clamidoconidios en agar harina de maíz con Tween 80 al 1% y la formación de tubo germinativo en suero. La asimilación de carbohidratos fue determinada por el método API ID 32C (bioMérieux). Para la diferenciación entre *Candida dubliniensis* y *C. albicans* se realizaron pruebas fenotípicas, como la producción de clamidoconidios en agar Staib, agar tabaco, agar caseína y crecimiento a 45 °C^{25,26}.

Prueba de sensibilidad antifúngica *in vitro*

Cada uno de los aislamientos fue procesado por el método de microdilución en caldo, de acuerdo con la metodología descrita en el documento M27-A2 del Clinical Laboratory Standards Institute²⁷, para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de tres antifúngicos azólicos: ketoconazol (KTZ), itraconazol (ITZ) y fluconazol (FLZ). El medio de cultivo empleado fue RPMI 1640, al que se añadió MOPS 0,165 mol/l a pH 7. Los rangos para KTZ y ITZ fueron de 0,03 a 16 µg/ml, y para FLZ de 0,125 a 64 µg/ml. Cien microlitros de las distintas concentraciones de cada uno de los azoles fueron depositados en los pozos de las microplacas de 96 pozos. Las columnas 11 y 12 de la microplaca fueron utilizadas como controles de crecimiento y ausencia de crecimiento, respectivamente. El inóculo de cada aislamiento fue preparado a partir de cultivos de 24 horas de crecimiento en ADS. Se preparó una suspensión de levaduras en solución salina al 0,85% y se diluyó en caldo RPMI 1640; 100 µl de esta suspensión fueron colocados en los pozos de las microplacas respectivas para obtener una concentración final de 1–5 x 10³ UFC/mL, que fueron incubadas a 35 °C. Las lecturas se realizaron a las 24 y 48 h. Los resultados de CMI fueron comparados con los criterios (sensible, sensible dosis dependiente y resistente) descritos en el documento del CLSI.

Las cepas de *C. parapsilosis* (ATCC 22019) y *Candida krusei* (ATCC 6258) fueron utilizadas como control de calidad.

Tabla 1
Relación entre levaduras causantes de onicomicosis y localización de la distrofia ungueal en 166 pacientes.

Levaduras	Número de pacientes afectados			
	Uñas manos	Uñas pies	Total	Porcentaje
<i>Candida parapsilosis</i>	21	32	53	31,9
<i>Candida albicans</i>	23	14	37	22,4
<i>Candida guilliermondii</i>	6	15	21	12,7
<i>Candida famata</i>	3	8	11	6,6
<i>Candida tropicalis</i>	5	2	7	4,2
<i>Candida lipolytica</i>	5	0	5	3,0
<i>Candida glabrata</i>	3	1	4	2,4
<i>Candida zeylanoides</i>	2	1	3	1,8
<i>Candida dubliniensis</i>	1	1	2	1,2
<i>Candida lusitanae</i>	0	2	2	1,2
<i>Candida krusei</i>	1	1	2	1,2
<i>Candida kefyr</i>	1	1	2	1,2
<i>Candida lambica</i>	1	1	2	1,2
<i>Candida intermedia</i>	1	0	1	0,6
<i>Pichia ohmeri</i>	0	2	2	1,2
<i>Trichosporon asahii</i>	2	6	8	4,8
<i>Trichosporon mucoides</i>	0	2	2	1,2
<i>Trichosporon cutaneum</i>	0	1	1	0,6
<i>Rhodotorula glutinis</i>	0	1	1	0,6
Total	75	91	166	100,0

Análisis estadístico

La prueba de proporciones ($\alpha < 0,05$, $Z > 1,64$ y $Z < -1,64$) fue utilizada para valorar la relación entre las diferentes especies de levaduras y la localización de la onicomicosis. Se obtuvieron porcentajes de los resultados de CMI.

Resultados

El número total de casos estudiados sugestivos de onicomicosis fue de 936 (578 mujeres [61,7%] y 358 hombres [38,3%]), con una proporción mujer:hombre de 1,6:1. En 467 casos se demostró la etiología fúngica (302 mujeres [64,7%] y 165 hombres [35,3%]), con una proporción mujer:hombre de 1,8:1. De los 467 casos de onicomicosis, 278 (59,5%) correspondieron a dermatofitos, 23 (5%) a hongos filamentosos no dermatofitos y 166 (35,5%) a levaduras.

De los 166 aislamientos levaduriformes, 117 (70,5%) correspondieron a mujeres y 49 (29,5%) a hombres, con una proporción mujer:hombre de 2,3:1; esta diferencia observada entre ambos géneros fue estadísticamente significativa. El rango de edad fue de 41-72 años, con un promedio de 51.

El número de aislamientos de levaduras fue mayoritariamente obtenido de las uñas de los pies. Las seis especies de levaduras que se aislaron con más frecuencia fueron, en orden descendente *C. parapsilosis*, *C. albicans*, *Candida guilliermondii*, *Candida famata*, *Trichosporon asahii* y *Candida tropicalis* (tabla 1). Al relacionar la especie de levadura con la localización de la distrofia, *C. parapsilosis* y *C. albicans* se aislaron más de las uñas de los pies y de las manos, respectivamente. La aplicación de la prueba de proporciones al número de aislamientos de ambas localizaciones arrojó un resultado no significativo. Por el contrario, esta misma prueba aplicada a los aislamientos de *C. guilliermondii* determinó una diferencia significativa. *Candida lipolytica* fue aislada solamente de las uñas de las manos.

En la tabla 2 se muestra el número de aislamientos resistentes frente a los diferentes azoles probados, comparando los valores de CMI con los de referencia, $CMI \geq 1 \mu\text{g/ml}$ para ITZ y KTZ y $CMI \geq 64 \mu\text{g/ml}$ para FLZ. El fenómeno de resistencia fue mayoritariamente expresado frente a ITZ (19,9%); 9 de los 21 aislamientos de *C. guilliermondii* (42,9%) y 6 de los 11 aislamientos de *C. famata* (54,5%) mostraron resistencia a este compuesto azólico. De los 166 aislamientos, seis (*Candida gla-*

brata, *C. albicans* y *C. tropicalis*) presentaron resistencia a FLZ. Los 4 aislamientos de *C. glabrata* mostraron resistencia a los tres antifúngicos.

Otro criterio considerado en los valores de CMI para FLZ, mostrado en el documento M-27 A2, es la sensibilidad dosis dependiente ($16-32 \mu\text{g/ml}$); esta se observó en 7 aislamientos (tabla 2). El resto de aislamientos mostró una alta sensibilidad frente a los tres antimicóticos probados.

Discusión

La población general considera las onicomicosis como un problema únicamente de tipo cosmético, por lo cual no se les ha dado la importancia real, ni se indentifica al agente causal. En consecuencia, frecuentemente no se administra el tratamiento antifúngico adecuado por el tiempo necesario, y mucho menos se realizan pruebas de sensibilidad antifúngica, aun frente a casos de fracaso terapéutico.

Algunos autores han reportado que la onicomicosis es un padecimiento que predomina en pacientes adultos entre los 50 y 70 años de edad^{5,6,16}. A diferencia de los reportes de algunos de estos autores^{5,6}, en el presente estudio la onicomicosis predominó en mujeres (64,7%). Considerando la onicomicosis por levaduras en el presente estudio, esta patología predominó en las mujeres (70,5%). La localización de la mayoría de los casos de onicomicosis por levaduras fue en las uñas de los pies, hallazgo diferente a otros estudios, donde la onicomicosis por *Candida* tuvo tendencia a predominar en las uñas de las manos^{10,12}.

En el estudio de Darko et al²⁸, las 5 especies más frecuentes fueron *C. albicans* (60,9%), *C. parapsilosis* (19,6%), *C. tropicalis* (9,8%), *C. krusei* (4,9%) y *C. guilliermondii*. En el presente estudio se observó que las 5 especies principales fueron *C. parapsilosis* (31,9%), *C. albicans* (22,4%), *C. guilliermondii* (12,7%), *C. famata* (6,6%) y *C. tropicalis* (4,2%). Además, aunque en bajo porcentaje, se aislaron levaduras del género *Trichosporon* con 11 casos y la especie más frecuente fue *T. asahii* (4,8%), agente etiológico de onicomicosis descrito en otro estudio de pacientes mexicanos de áreas rurales²⁹ y en el de Souza et al⁴.

Desde hace aproximadamente 20 años se ha observado un cambio en la etiología de las infecciones ungueales causadas por levaduras, donde *C. parapsilosis* ha ido incrementando paulatinamente su frecuencia^{7,12-14,19}. Un ejemplo descrito en la revisión de Gautret et al¹³ es el cambio que presentó *C. parapsilosis* del 23 al 51% en las diferentes casuísticas. Los factores de riesgo asociados fueron traumatismos en las uñas, jardín, enfermedades inmunosupresoras como diabetes mellitus y el uso de corticosteroides.

Otro hallazgo interesante del presente trabajo fue la detección de *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* y *C. famata* como especies predominantes causantes de distrofia ungueal en las uñas de los pies. En

Tabla 2

Total de levaduras resistentes a los diferentes antifúngicos probados y cepas sensibles dosis dependientes a fluconazol.

Especie	Número	Número de levaduras resistentes			S-DD
		KTZ	ITZ	FLZ	
<i>C. parapsilosis</i>	53	1	2	0	1
<i>C. albicans</i>	37	3	3	1	0
<i>C. guilliermondii</i>	21	0	9	0	2
<i>C. famata</i>	11	0	6	0	1
<i>C. tropicalis</i>	7	1	1	1	0
<i>C. glabrata</i>	4	4	4	4	0
<i>Trichosporon spp.</i>	11	2	4	0	1
Otras levaduras	22	1	4	0	2
Total	166	12 (7,2%)	33 (19,9%)	6 (3,6%)	7 (4,2%)

FLZ: fluconazol; ITZ: itraconazol; KTZ: ketoconazol; S-DD: sensible dosis dependiente.

cambio, *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. lipolytica* fueron predominantemente aisladas de las uñas de las manos. Desde el punto de vista estadístico solamente hubo diferencia significativa en la localización de *C. guilliermondii*, que predominó en las uñas de los pies.

El 80,2% de los aislamientos fueron sensibles a FLZ, mientras que la mayor resistencia fue a ITZ. *C. glabrata* es la levadura que presentó mayor resistencia a los compuestos azólicos.

La respuesta observada al tratamiento de onicomicosis causadas por levaduras es variable y entre otros factores a considerar, además del estado inmunológico del paciente (diabetes, desnutrición, tratamiento con esteroides, etc.), está la localización de la distrofia ungueal. Además, aún no se han realizado estudios suficientes para evaluar si el fracaso del tratamiento en muchos casos es intrínseca, como la que se observa en *C. glabrata*, o bien es una resistencia adquirida por la presión selectiva a la que están sujetas las levaduras que forman parte de la biota normal, en los pacientes que reciben tratamiento antifúngico profiláctico.

Este estudio demuestra que *C. parapsilosis* presenta un predominio sobre *C. albicans*; quizá esto refleje una capacidad desarrollada por *C. parapsilosis* para utilizar los nutrientes a nivel ungueal que favorecen la instalación y propician la infección. También fue evidente que los aislamientos de *C. glabrata* son resistentes a los azoles, por lo que estos antifúngicos no deben ser utilizados para su tratamiento. Finalmente, es notable un incremento en la frecuencia de *Trichosporon* spp. como agente etiológico de onicomicosis (7,2%), que en la mayoría de estudios no aparece reportado.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Elewski BE, Charif MA. Prevalence of onychomycosis in patients attending a dermatology clinic in northeastern Ohio for other condition. *Arch Dermatol*. 1997;133:1172-3.
2. Gupta AK, Jain HC, Lynde CW, Macdonald P, Cooper EA, Summerbell RC. Prevalence and epidemiology of onychomycosis in patients visiting physicians' offices: a multicenter canadian survey of 15,000 patients. *J Am Acad Dermatol*. 2000;43(2 Pt 1):244-8.
3. Sarma S, Capoor MR, Deb M, Ramesh V, Aggarwal P. Epidemiologic and clinicomycologic profile of onychomycosis from north India. *Int J Dermatol*. 2008;47:584-7.
4. Souza LK, Fernandes OF, Passos XS, Costa CR, Lemos JA, Silva MR. Epidemiological and mycological data of onychomycosis in Goiania. *Brazil Mycoses*. 2010;53:68-71.
5. El Sayed F, Ammoury A, Haybe RF, Dhaybi R. Onychomycosis in Lebanon: a mycological survey of 772 patients. *Mycoses*. 2006;49:216-9.
6. Svejgaard EL, Nilsson J. Onychomycosis in Denmark: prevalence of fungal nail infection in general practice. *Mycoses*. 2004;47:131-5.
7. Zuluaga de CA, de Bedout C, Tabares A, Cano LE, Restrepo A, Arango M, et al. Comportamiento de los agentes etiológicos de la onicomicosis en un laboratorio de micología de referencia (Medellín 1994-2003). *Med Cutan Iber Lat Am*. 2005;33:251-6.
8. Manzano-Gayosso P, Hernández-Hernández F, Méndez-Tovar LJ, Palacios-Morales Y, Córdova-Martínez E, Bazán-Mora E, et al. Onychomycosis incidence in type 2 diabetes mellitus patients. *Mycopathologia*. 2008;166:41-5.
9. Midgley G, Moore MK. Onychomycosis. *Rev Iberoam Micol*. 1998;15:113-7.
10. Abad-González J, Bonifaz A, Ponce RM. Onicomicosis por *Candida* asociada con diabetes mellitus. *Dermatología Rev Mex*. 2007;51:135-41.
11. Gupta AK, Ryder JE, Baran R, Summerbell RC. Non-dermatophyte onychomycosis. *Dermatol Clin*. 2003;21:257-68.
12. Segal R, Kimchi A, Kritzman A, Inbar R, Segal Z. The frequency of *Candida parapsilosis* in onychomycosis. An epidemiological survey in Israel. *Mycoses*. 2000;43:349-53.
13. Gautret P, Rodier MH, Kauffmann-Lacroix C, Jacquemin JL. Case report and review. Onychomycosis due to *Candida parapsilosis*. *Mycoses*. 2000;43:433-5.
14. Manzano-Gayosso P, Méndez-Tovar LJ, Hernández-Hernández F, López-Martínez R. Onicomicosis causada por *Candida parapsilosis*. Agente ocasional o frecuente. *Dermatología Rev Mex*. 1997;41:171-5.
15. Kaur R, Kashyap B, Makkar R. Evaluation of clinicomycological aspects of onychomycosis. *Indian J Dermatol*. 2008;53:174-8.
16. Arenas R, Ocejo D. Onicomicosis: frecuencia actual en un departamento de dermatología de la Ciudad de México. *Dermatología Rev Mex*. 1997;41:171-5.
17. Gupta AK, De Doncker P, Haneke E. Itraconazole pulse therapy for the treatment of *Candida* onychomycosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2001;15:112-5.
18. Cornely OA, Maertens J, Winston DJ, Perfect J, Ullmann AJ, Walsh TJ, et al. Posaconazole vs fluconazole or itraconazole prophylaxis in patients with neutropenia. *N Engl J Med*. 2007;356:348-59.
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. Odds FC. Resistance of yeasts to azole derivative antifungals. *J Antimicrob Chemother*. 1993;31:463-71.
21. Vanden Bossche H, Marichal P, Odds FC, Le Jeune L, Coene MC. Characterization of an azole-resistant *Candida glabrata* isolate. *Antimicrob Agents Chemother*. 1992;36:2602-10.
22. Manzano-Gayosso P, Méndez-Tovar LJ, Hernández-Hernández F, López-Martínez R. La resistencia a los antifúngicos. Un problema emergente en México. *Gac Med Mex*. 2008;144:23-6.
23. Daniel CR, Gupta AK, Daniel MP, Sullivan S. *Candida* Infection of the nail: role of *Candida* as a primary or secondary pathogen. *Int J Dermatol*. 1998;37:904-7.
24. Odds FC, Bernaerts R. CHROMagar *Candida*, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. *J Clin Microbiol*. 1994;32:1923-9.
25. Khan ZU, Ahmad S, Mokaddas E, Chandy R. Tobacco agar, a new medium for differentiating *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *J Clin Microbiol*. 2004;42:4796-8.
26. Staib P, Morschhäuser J. Chlamydospore formation on Staib agar as a species-specific characteristic of *Candida dubliniensis*. *Mycoses*. 1999;42:521-4.
27. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved Standard M27-A2. Wayne (PA): National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2002.
28. Darko K, Jautova J, Tkáčiková L, Wantrubová A. The frequency of *Candida* species in onychomycosis. *Folia Microbiol (Praha)*. 2002;47:727-31.
29. Méndez-Tovar LJ, Anides-Fonseca A, Vázquez-Hernández A, Galindo-González M, Díaz-Madrid M, Berdón-Castro A, et al. Micosis observadas en cinco comunidades mexicanas con alto grado de marginación. *Gac Méd Méx*. 2006;142:381-6.