

Especies de *Candida* aisladas de muestra vaginal y orina de pacientes oncológicos del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN), Lima, Perú. Genotipificación de *Candida albicans*

Candida species isolated from urine and vaginal samples from cancer patients treated at the National Institute of Neoplastic Diseases (INEN), Lima, Peru. Fingerprinting of *Candida albicans*

Zhandra Arce-Gil^{1a}, Viviana-Silva A.^{2b}, Victor-Silva^{2b}

RESUMEN

Introducción: *Candida albicans* sigue siendo la levadura aislada con mayor frecuencia en pacientes inmunodeprimidos. El análisis del ADN polimórfico amplificado al azar es usado para evaluar la similitud entre cepas de una misma especie y asociar genotipos particulares a caracteres fenotípicos de los aislados. **Objetivo:** Determinar la variabilidad genética entre cepas de *C. albicans* aisladas de muestras de orina y vaginal de pacientes oncológicos portadores de catéter urinario, hospitalizados en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) en Lima. **Material y Métodos:** En seis meses de vigilancia, se buscaron cepas de levaduras de muestras de orina e hisopado vaginal, caracterizándolas fenotípicamente según los métodos convencionales en micología médica y la susceptibilidad antifúngica por método de difusión en agar. El ADN extraído de las cepas de *C. albicans* se genotipificó por el método Random Amplified Polymorphic DNA o RAPD, usando tres partidores arbitrarios en forma independiente, generando dendrogramas de similitud para su análisis. **Resultados:** En el periodo estudiado de 60 pacientes se aislaron 15 cepas de *C. albicans* y 2 de *C. glabrata*, de orina (13) e hisopado vaginal (4). Todas las cepas fueron susceptibles a Anfotericina B, itraconazol, fluconazol y voriconazol. El dendrograma evidenció variabilidad genética entre los aislados de *C. albicans* y registró dos ramas con índice de similitud (Sab) sobre 90% entre cinco cepas relacionadas por tipo de muestra y servicio de hospitalización, sugiriendo un probable brote. **Conclusiones:** Este estudio evidenció variabilidad genética entre las cepas de *C. albicans*, así como un posible brote de levaduras en pacientes con cáncer atendidos en el INEN en Lima, Perú

Palabras clave: *Candida albicans*, genotipificación, variabilidad genética. (Fuente: DeCS-BIREME).

ABSTRACT

Introduction: *Candida albicans* remains as the most frequent isolated yeast in immunosuppressed patients. Random amplified polymorphic DNA analysis is used to evaluate similarities between strains of the same species and to associate particular genotypes to phenotypic characteristics of the isolates. **Objective:** To determine the genetic variability between strains of *C. albicans* isolated in urine and vaginal samples from cancer patients with urinary catheterism, hospitalized

at the National Institute of Neoplastic Diseases (INEN) in Lima. **Material and Methods:** In six months of surveillance, yeast strains from urine and vaginal swabs samples were searched phenotypically, these were characterized according to conventional methods in medical mycology and antifungal susceptibility by agar diffusion method. DNA extracted from the strains of *C. albicans* was genotyped using a Random Amplified Polymorphic DNA RAPD method using three arbitrary primers independently, generating similarity dendrograms for analysis. **Results:** During the study period 15 strains of *C. albicans* and 2 of *C. glabrata* were isolated from 60 patients, urine 13 samples and 4 vaginal swab samples. All strains were susceptible to amphotericin B, itraconazole, fluconazole and

1. Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo, Chiclayo- Perú.

2. Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad Mayor, Santiago de Chile.

a. Bióloga.

b. Tecnólogo Médico.

voriconazole. The dendrogram showed genetic variability among isolates of *C. albicans* and recorded two branches with a similarity index (Sat) above 90% between five strains related by sample type and hospitalization service, suggesting a possible outbreak. **Conclusions:** This study showed genetic variability between strains of *C. albicans*, and a possible outbreak of yeasts in patients with cancer treated at INEN in Lima, Peru.

Keywords: *Candida albicans*, fingerprinting, genetic variability genética. (Source: MeSH-NLM).

INTRODUCCIÓN

Las levaduras del género *Candida* están ampliamente distribuidas y algunas especies pueden formar parte de la microbiota del hombre, colonizando principalmente las mucosas y en menor proporción la piel⁽¹⁾. En estudiantes y trabajadores de área de la salud se ha evidenciado mayor prevalencia de colonización por levaduras en sus manos que en manos de individuos de la comunidad^(2,3).

Estos agentes pueden causar infecciones graves en la piel, en la cavidad oral o en la vagina, en individuos con el sistema inmune debilitado, así como candiduria e infecciones profundas y/o sistémicas principalmente en pacientes hospitalizados^(1,3-5). *Candida* spp puede ser responsable en aproximadamente el 8 a 10% de las infecciones asociadas a atención de salud (IAAS), siendo agente importante de infección urinaria en pacientes sometidos a cateterización vesical, así como de sepsis, cuya mortalidad de ésta última asciende entre 40 - 60%⁽⁵⁻⁸⁾. La mayoría de las candidiasis son causadas por *C. albicans*, seguidas de *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, entre otras, cuya frecuencia y resistencia antifúngica varía entre unidades, hospitales, regiones y países⁽³⁻⁹⁾.

El aislamiento de las cepas e identificación de especies es altamente requerida para apoyar tanto la conducta terapéutica, así como los estudios epidemiológicos a nivel local, principalmente al sospechar de brotes en centros hospitalarios⁽⁶⁾. Los estudios epidemiológicos de infecciones nosocomiales por *Candida* han utilizado varios métodos fenotípicos de tipificación, siendo éstos menos reproducibles y con un poder de discriminación bajo en relación a los métodos genotípicos, capaces de detectar diferencias en la información genética entre las cepas de una misma especie, presentando ventajas debido al elevado poder discriminatorio, exactitud y rapidez⁽¹⁰⁻¹³⁾.

Uno de éstos métodos genotípicos basado en el ADN genómico es la técnica Random Amplified Polymorphic DNA o RAPD, el cual utiliza partidores arbitrarios de secuencia corta que se fijan en sitios múltiples del genoma usando bajas condiciones de temperatura,

detectando así polimorfismos entre cepas sin necesidad de conocimiento previo en la secuencia específica del organismo. Esta técnica permite conocer la variabilidad genética de los aislados de *Candida*, requisito para poder esclarecer similitud, así como las variaciones de los genotipos de las cepas⁽¹⁴⁻¹⁷⁾.

Debido a los pocos estudios de variabilidad genética en levaduras del género *Candida* en Perú, y debido a que los pacientes que padecen cáncer son una población altamente susceptible a desarrollar infecciones por estos agentes, estudiamos la variabilidad genética entre cepas de *C. albicans* aisladas de muestras clínicas de pacientes con cáncer de mama, estómago ó de próstata, portadores de catéter urinario, en Lima - Perú a través de la técnica de RAPD.

MATERIALES Y MÉTODOS

En un período de seis meses se realizó un estudio de vigilancia para búsqueda de levaduras del género *Candida albicans* en muestras de orina (urocultivos) y secreción vaginal (técnica de hisopado). Todos los pacientes sometidos a este estudio presentaban cáncer (de mama, estómago ó próstata), portaban catéter urinario; hospitalizados en el INEN de Lima, Perú

Cepas

Se utilizaron cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y *C. glabrata* ATCC J931010 mantenidas en el Laboratorio de Micología de la Universidad Mayor, Chile y las cepas provenientes de aislados clínicos del estudio, las cuales fueron identificadas a nivel de especie, mediante test de tubo germinal, microcultivo, análisis bioquímico con la galería API 32C AUX (Biomérieux), y crecimiento a 42 °C para tamizaje de *C. dubliniensis*. La susceptibilidad antifúngica se determinó a los antifúngicos Anfotericina B 10ug, Fluconazol 25ug, Voriconazol 1ug., Itraconazol 10ug, por el método de difusión en agar con discos (BioRad).

La lectura de los halos se realizó utilizando las condiciones del fabricante (BioRad).

Cuadro N°01 Lectura de halos de susceptibilidad antifúngica (BioRad).

Antifúngicos	RPMI 2% glucosa		
	Sensible	Intermedio	Resistente
Anfotericina B 10ug	≥ 18mm	12 a 17mm	≤ 11mm
Fluconazol 25ug	≥ 30mm	21 a 29mm	≤ 20mm
Itraconazol 10µg	≥16mm	10 a 15mm	·10mm
Voriconazol 1µg	≥ 22mm	16 a 21mm	≤ 15mm

A través de la técnica de RAPD se genotipificaron los aislamientos de *C. albicans*, más las cepas ATCC, usando la cepa de *C. glabrata* para apoyar en la organización del árbol de similitud (out-group), usando 3 partidores de

secuencia corta (10 nucleótidos), previamente evaluados en el laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Mayor de Chile. Los partidores utilizados fueron el OP BA03, OP BA09, OP BA10⁽¹⁵⁾.

Extracción de ADN genómico de levaduras

La extracción del ADN se realizó con apoyo del kit wizard genomic DNA purification (PROMEGA®). Previamente las cepas fueron sembradas en agar Sabourad, incubándose a 37°C por 24 horas. A partir de las colonias frescas, se realizaron inóculos en tubos Falcon con 25ml de medio YPD líquido, que se incubaron a 30 °C en agitación constante a 200rpm por 20 horas. Luego se tomó 1ml del medio desde la parte superior del tubo y se pipeteó hacia tubos Eppendorf de 1,5ml y se centrifugaron a 13,000g por 2 minutos. Se eliminó el sobrenadante por inversión y el sedimento se resuspendió en 293µl de EDTA 50mM. Luego se agregó 7,5 ul de Liticaza 20mg/ml mezclando suavemente por inversión, incubándose a 37°C por 60 minutos, hasta que se percibió la aparición de textura mucosa. Se centrifugó a 13,000 g por 2 minutos. Se eliminó el sobrenadante por inversión. Se agregó 300ul de solución de lisis (Promega®), se mezcló suavemente por inversión y se incubó por 5 minutos a temperatura ambiente.

Se agregó 100ul de solución de precipitación de proteínas (Promega®) y se mezcló en vortex por un mínimo de 20 segundos. Luego se colocaron los tubos en freezer a -20°C por 5 minutos. Se centrifugó a 13,000 g entre 3 minutos, se traspasó el sobrenadante a otro tubo eppendorf con 300 µl de isopropanol a temperatura ambiente. Se mezcló suavemente por inversión y se centrifugó a 13,000g por 2 minutos. Se eliminó el sobrenadante y se añadió 300ul de etanol para lavar el ADN precipitado. Luego de extraer el etanol, se agregó 100 µl de agua miliQ rehidratando el ADN por un mínimo de 2 horas. Se añadió 5µl de RNasa 1mg/m. Se evaluó la calidad y cantidad de ADN por espectrofotometría UV a 260 nm y 280 nm, así como electroforesis en gel de agarosa 0,8% (90 Volts por 45 minutos)⁽¹⁵⁾.

Técnica RAPD

Cada reacción de RAPD contenía 100pg de ADN de la levadura en estudio (10pg/µl), tampón Taq pol 1X, nucleótidos dATP, dTTP, dCTP y dGTP a 100µM cada uno (dNTP), MgCl 2mM, patidor 10pmoles, Taq ADN polimerasa 0.2 Unidades, llevando todo a un volumen de 25 µl con agua destilada estéril. Para las reacciones RAPD se utilizaron tres partidores con a una concentración de 10pbmol/µl OPBA03 (5' GTGCGAGAAC 3'), OPBA09 (5' GGAAGTCCAC 3'), OPBA10 (5' GGACGTTGAG 3') con capacidad discriminatoria entre cepas de *C. albicans*⁽¹⁵⁾.

Programa RAPD y Visualización de los productos Amplificados

Se inició con un precalentamiento a 95°C por 3 minutos, luego se realizó la denaturación a 94°C por 1 minuto, se hibridó a 35°C por 2 minutos y se realizó la extensión final a 72°C por 5 minutos, sumando 40 ciclos y una extensión final a 72°C por 5 minutos. Las bandas amplificadas, fueron separadas en gel de agarosa al 1% sometida a electroforesis por 150 minutos a 70 voltios y visualizadas en transiluminar UV con registro fotográfico.

CONFECCIÓN E INTERPRETACIÓN DE ÁRBOLES DE SIMILITUD

Coeficiente de similitud

Se determinó el grado de similitud entre cepas mediante el coeficiente de DICE y se construyó un árbol o dendrograma de similitud con ayuda del programa TreeCon®, donde el valor o índice de similitud bajo esta metodología, sugiere⁽⁶⁾;

1 o 100% nos indica que las cepas son isogénicas o con origen clonal común.

Entre 0,90 a 0,99 las cepas son altamente relacionadas a nivel clonal.

Entre 0,80 a 0,89 las cepas son moderadamente relacionadas

Entre 0,70 a 0,79 las cepas son escasamente relacionadas

Entre 0,50 a 0,69 las cepas no están relacionadas

Menor de 0,40, las cepas pertenecerían a distintas especies.

RESULTADOS

Durante el período de estudio se incorporó a 60 pacientes adultos entre 20 a 69 años, de los cuales 33 (55%) eran varones y 27 (45%) mujeres, distribuidos en cuatro áreas del INEN (Ginecología, Urología, UCI y Gastroenterología). Todos los pacientes fueron sometidos a algún tipo de cirugía, y usaron catéter urinario por períodos de 3 a 5 días.

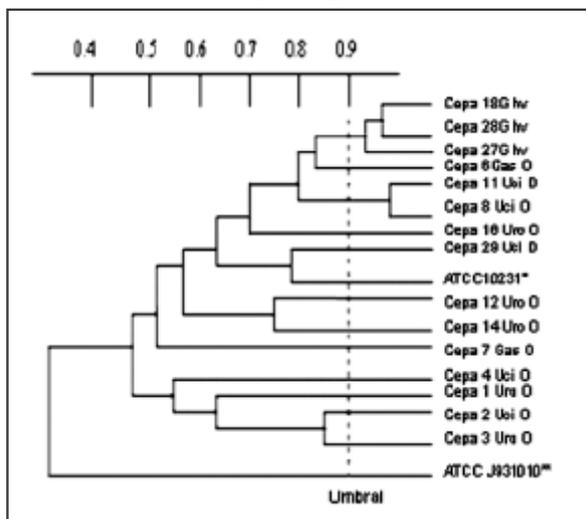
De los 60 pacientes, 15 (25%) desarrollaron un cultivo positivo para *Candida albicans*, siendo la orina la muestra con más aislamientos⁽¹²⁾. Sólo en 2 pacientes (3,3%) se aislaron otras levaduras, siendo estas identificadas como *C. glabrata* (Tabla N°01). Estos aislamientos no se consideraron en el estudio molecular. Todas las cepas fueron sensibles a los cuatro antifúngicos analizados.

Al genotipificar las 15 cepas de *C. albicans* aisladas de orina y de hisopado vaginal más las dos cepas control; el partidor OPBA09 generó mayor polimorfismo (90,9%) en comparación con los otros dos partidores utilizados.

Tabla N°01. Levaduras aisladas de acuerdo al tipo de muestra según el tiempo de permanencia de la sonda.

Levadura aislada	Tipo de muestra	Tiempo de permanencia de la sonda (total de aislamientos: 17)		Total
		4 días	5 días	
<i>Candida albicans</i>	Orina	10	2	12
	Hisopado	0	3	3
	Total	10	5	15
<i>Candida glabrata</i>	Orina	1	0	1
	Hisopado	1	0	1
	Total	2	0	2

Figura N°01. Dendrograma realizado con el programa TreeCon® a partir de los coeficientes de similitud generados de las 15 cepas de *C. albicans* aisladas de muestras de hisopado vaginal hv y de orina O y de las dos cepas control *C. albicans** y *C. glabrata*** obtenidos con los tres partidores, en pacientes internados en Ginecología G, gastroenterología Gas, Unidad de cuidados intensivos Uci y urología Uro.



El dendrograma muestra la presencia de 15 ramas bien definidas entre las cepas de *C. albicans*. Doce de estas ramas, en su mayoría representadas por cepas únicas, evidenciaron índice de similitud Sab menor a 0,9 evidenciando el polimorfismo entre los aislados. Dos ramas incluyen cepas con Sab mayor a 0,9 lo que indicaría una mayor relación clonal entre las respectivas cepas de los distintos pacientes, sugiriendo un origen común de éstas vinculadas a un posible brote (Figura N°01).

DISCUSIÓN

Las levaduras del género *Candida* siguen teniendo un papel importante en la epidemiología de las infecciones nosocomiales, principalmente en países en vías de desarrollo, quienes presentan mayores tasas de candidemia que países desarrollados^(3-5,9). Por otro lado *candiduria* es un problema permanente y de alta frecuencia en pacientes sometidos a cateterización

vesical, principalmente en pacientes con algún grado de inmunodepresión y/o internados en unidades de paciente crítico^(6,15). La incidencia de *candiduria* nosocomial en los 60 pacientes incluidos en el estudio, sometidos a cirugía y portadores de catéter urinario fue de 22%, recuperando la levadura mayoritariamente al cuarto día de cateterización, siendo muy similar a estudios previos realizados en Sudamérica^(7,15). Estudios epidemiológicos de infección nosocomial en hospital terciario, evidencia que infección del tracto urinario es de alta incidencia con tasas mensuales entre 0,0 a 39,4 por mil días de exposición al catéter urinario permanente (CUP) y que levaduras en especial las del género *Candida spp.*, se reportan como los principales agentes de estos cuadros^(7,8).

Molecularmente, se ha evidenciado que las cepas de las distintas especies de *Candida* que colonizan la mucosa vaginal, son las que posteriormente se desplazan y desarrollan *candiduria* nosocomial en estas pacientes, luego de ser sometidas a cateterización vaginal⁽¹⁵⁾. Entre las 27 pacientes estudiadas, se verificó la presencia de levaduras en hisopado vaginal en 15%, siendo esta prevalencia intermedia al compararse con otros estudios^(1,7,15).

La gran mayoría de las cepas aisladas de orina corresponde a la especie *C. albicans* (92%) y una a *C. glabrata* (8%), al igual que las recuperadas del hisopado vaginal correspondiendo a 3 *C. albicans* y 1 *C. glabrata*. La frecuencia de la especie de *C. albicans* detectada en este estudio es muy superior a lo reportado en la última década y recientemente entre los diversos estudios epidemiológicos de infección asociada a atención de salud por levaduras, sin embargo mantiene la tendencia en *candiduria*, donde *C. albicans* es acompañada de *C. glabrata*⁽⁷⁾. Esta tendencia también se observa en candidemia de algunos países desarrollados⁽³⁻⁵⁾, la cual difiere de Latinoamérica⁽⁹⁾.

La resistencia a los antifúngicos puede clasificarse como clínica o in vitro. La primera es consecuencia de la baja biodisponibilidad del fármaco; la segunda puede ser primaria donde la levadura muestra resistencia natural ó secundaria en la que cepas susceptibles se transforman en resistentes debido al contacto previo con el antimicótico. En nuestro estudio todas las cepas aisladas presentaron sensibilidad a los antimicóticos testados, debido a que los pacientes no fueron sometidos a terapias antifúngicas de largo plazo, lo que hubiese disminuido la susceptibilidad de las levaduras y aumentaría la aparición de cepas resistentes⁽¹⁶⁾.

La genotipificación se realizó a las cepas de *C. albicans* por amplificación arbitraria del ADN polimórfico denominado RAPD, empleando tres partidores arbitrarios con capacidad para discriminar cepas de esta especie, empleados en forma independientes, cuyos patrones de amplificación fueron unidos para

generar una matriz que apoyó su análisis a través de un dendrograma de similitud. La cantidad de partidores utilizados en ésta técnica puede variar en número, algunos autores utilizan algunos pocos partidores con alto poder discriminatorio, mientras que otros utilizan más de cinco partidores para combinar sus resultados en el análisis y generar robustez en las conclusiones, recomendándose emplear varios partidores con elevado poder discriminatorio⁽¹⁵⁻¹⁸⁾. En nuestro estudio, seleccionamos 3 partidores con alta capacidad discriminatoria entre cepas de *C. albicans*⁽¹⁵⁾, siendo el partidore OPBA09 el que demostró mayor capacidad para detectar polimorfismo entre las cepas analizadas.

Estudios han demostrado que la técnica de RAPD es rápida, económica y factible de aplicar en rutina, presentando como desventajas la baja reproducibilidad entre laboratorios, recomendando en su aplicación la cuidadosa estandarización del protocolo, considerando entre los puntos clave la elección adecuada de los partidores, cantidad y pureza del ADN, tipo de polimerasa, condiciones de la reacción de amplificación, tipo de termociclador y experiencia del observador⁽¹⁵⁻¹⁸⁾.

Se muestra un elevado polimorfismo genético entre los diferentes aislamientos de *C. albicans* de los pacientes internados en el INEN de Lima, Perú, generándose un dendrograma con 12 ramas bien definidas y representadas en su mayoría por una sola cepa e índice de similitud bajo ($Sab < 0,9$) indicando predominio de cepas independientes entre los pacientes o sin un origen clonal común, concordando con diversos estudios^(13,15,17). Por otro lado dos ramas agrupan 2 y 3 cepas con $Sab > 0,9$, lo que indicaría una mayor relación clonal entre las respectivas cepas de los distintos pacientes, relacionadas con el origen de la muestra y servicio de internación, lo que estaría revelando la posibilidad de brote por transmisión de cepas entre pacientes. Algunos estudios epidemiológico-moleculares con RAPD, han evidenciado relación clonal entre cepas de una misma especie aisladas de distintos sitios de un mismo paciente como fuente endógena(13,15) o entre pacientes y personal de salud confirmando origen exógeno en la candidiasis nosocomial⁽¹²⁾.

Conflicto de interés: los autores declaran que no ha existido conflicto de interés en la realización de este trabajo.

Fuente de financiamiento: Trabajo de investigación para obtener el grado de Magíster en Microbiología en la Universidad Peruana Cayetano Heredia- Lima- Perú con colaboración en la parte molecular del Laboratorio de Micología de la Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad Mayor, Santiago de Chile.

Agradecimientos: Al PhD. Pedro Chimoy Effio, docente

de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo y a la MSc. Dora Maurtua Torres, docente de la Universidad Peruana Cayetano Heredia por su asesoría en este trabajo. Al Lic. Luis Miguel Serquén, biólogo del laboratorio de investigación en Biología Molecular del Hospital Regional Lambayeque - Perú, por su ayuda en la elaboración e interpretación de los resultados de este estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Calderone R A. *Candida* and Candidiasis. Editorial ASM Press, Washington DC; 2002. p. 37-53.
2. Silva V, Zepeda G, Rybac ME, Febré N. Portación de levaduras en manos de estudiantes de medicina. *Rev Iberoam Micol* 2003; 20: 41-5.
3. Silva V, Zepeda G, Abarca C, Cabrera M, Contreras L. Epidemiología de Sepsis por levaduras y su diagnóstico. Confrontando nuestra realidad con el mundo. *Rev Ciencia y Salud* 2002; 6 (1): 51-5.
4. Pfaller MA, Diekema D J. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 133-63.
5. Richardson M, Lass-Flörl C. Changing epidemiology of systemic fungal infections. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14 Suppl. 4: 5-24.
6. Boccia, D, Posteraro, B, LA Sorda, M, Vento G, Matassa P, Tempera A.; Petrucci S, Fadda G. 2002. Genotypic Analysis by 27A DNA Fingerprinting of *Candida albicans* Strains Isolated during an Outbreak in a Neonatal Intensive Care Unit. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 23 (5): 281-284
7. Febré N, Silva V, Medeiros EAS, Wey SB, Colombo AL, Fischman O. Microbiological characteristics of yeasts isolated from urinary tracts of intensive care unit patients undergoing urinary catheterization. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1584-6.
8. Febré N, Medeiros EAS, Wey SB, Larrondo M, Silva V. ¿Es aplicable el sistema de vigilancia epidemiológica de las infecciones intrahospitalarias que recomienda el CDC Americano (NNIS) en un hospital chileno? *Rev Méd Chile* 2001; 129: 1379-86.
9. Nucci M, Queiroz-Telles F, Alvarado-Matute T, Tiraboschi IN, Cortes J, Zurita J, et al. Epidemiology of candidemia in Latin America: A Laboratory-Based Survey. *PloS ONE* 2013; 8 (3): e59373. Doi:10.1371/journal.pone.0059373
10. Paniagua G, E Monroy, J Pineda, E Negrete, S Vaca. Caracterización genotípica de cepas de *Candida albicans* aisladas de la mucosa oral y vaginal de pacientes no inmunocomprometidos. *Rev Med Hosp Gen Mex* 2010; 73(2):94-101
11. Fernandez F. Aplicaciones de las técnicas de PCR a la epidemiología molecular de las enfermedades infecciosas. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004; 22(6): 355-60
12. Abdeljelil JB, Saghrouni F, Emira E, Valentin-Gomez E, Chatti N, Boukadida J, Saïd MB, Agudo LC.

- Molecular typing of *Candida albicans* isolates from patients and health care workers in a neonatal intensive care unit. *J Appl Microbiol* 2011; 111: 1235-49.
13. Bonfim-Mendonca PS, Fiorini A, Shinobu-Mesquita CS, Baeza LC, Fernandez MA, Svidzinski TI. Molecular typing of *Candida albicans* isolates from hospitalized patients. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2013; 55(6): 385-91
 14. Ruíz A, D Calderón, J Gómez. Variabilidad molecular de aislamientos de *Candida* spp. por la técnica de ADN amplificados aleatoriamente (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD) en mujeres de Armenia, Colombia. *Asociación Colombiana de Infectología* 2009; 13: 21-35.
 15. Silva V, Hermosilla G, Abarca C. Nosocomial Candiduria in women undergoing urinary catheterization clonal relationship between strains isolated from vaginal tract and urine. *Medical Mycology* 2007; 45: 645 - 651.
 16. Gonzales H, Da Silva I, Reyes E. Caracterización Molecular de cepas de *Candida albicans* aisladas de Candidiasis oral en personas VIH positivo. *Ciencia & trabajo* 2006; 8(22): 172- 180
 17. Pinto P, M Resende, C Koga-Ito, M Tendler. Genetic Variability Analysis among Clinical *Candida* spp. Isolates Using Random Amplified Polymorphic DNA. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2004; 99 (2): 147-152.
 18. García R, N Umetsu, M Vitule, L Yamamoto, T Suely. et al. Comparison of four random amplified polymorphic DNA (RAPD) system to assess genetic relatedness and fluconazole susceptibility of *Candida tropicalis* pediatric isolates. *Pediatrics*. 2008; 30(2):88-94.

Correspondencia

Zhandra Lizette Arce Gil. Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo

Dirección: Av. San Josémaría Escriba de Balaguer N° 855 - Chiclayo Perú.

Teléfono: +51-074- 606200

Correo: zarce@usat.edu.pe

Revisión de pares

Recibido: 02/09/2015

Aceptado: 25/09/2015