

Burduniuc Olga

doctor în științe medicale, conferențiar cercetător, șef laborator microbiologic
Agenția Națională pentru Sănătate Publică, Republica Moldova

Guțu Nadejda

medic microbiolog
Laboratorul Invitro Diagnostics, Republica Moldova

Bivol Maria

medic resident, anul III
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”,
Republica Moldova

Balan Greta

doctor în științe medicale, conferențiar universitar
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”,
Republica Moldova

CONSIDERAȚII GENERALE ASUPRA SPECIILOR DE CANDIDA IMPLICATE ÎN ETIOLOGIA INFECȚIILOR MICOTICE

Rezumat. Infecțiile oportuniste de origine fungică sunt o provocare a secolului XXI. Identificarea corectă a speciilor *Candida* implicate în dezvoltarea micozelor umane, determinarea sensibilității la antifungice sunt elemente cheie în gestionarea acestor infecții, în special în cazul rezistenței antifungice. Autorii acestei lucrări și-au propus drept scop studierea spectrului de specii patogene de *Candida*, aprecierea sensibilității la preparate antimicotice pe baza datelor de laborator. Sunt prezentate și patternurile de sensibilitate la antifungice a tulpinilor izolate pe parcursul anului 2020. A fost realizat un studiu descriptiv a distribuției speciilor de *Candida* și profilului de sensibilitate la antifungice. Identificarea speciilor de *Candida* izolate a fost realizată prin sistemul Vitek 2 cu cardurile YST pentru identificarea levurilor, la fel și profilurile de sensibilitate antifungică cu ajutorul cardurilor AST YS-08 pentru testarea sensibilității fungilor la sistemul Vitek 2 Compact. Din 169 tulpini recuperate, au predominat speciile *Candida albicans* cu 86,4% iar *Candida non-albicans* a constituit 13,6%. Din speciile de *Candida non albicans*, cele mai frecvente au fost *C. glabrata* (4,1%) și *C. krusei* (3,6%). Analizând rezultatele testării către

preparatele antifungice a tulpinilor recuperate s-a observat că 85,5% izolatele au fost sensibile la amfotericina B și 82,2% - la fluconazol. Speciile de *Candida* au fost rezistente la micafungin în 16% cazuri, în 15,4% cazuri la voriconazole, urmat de amfotericina B cu 13,6% cazuri și fluconazol cu 12,4% cazuri. *C.albicans* reprezintă specia fungică cel mai frecvent izolată, însă se observă și creșterea ponderii speciilor de *Candida non-albicans* precum *C. glabrata*.

Cuvinte-cheie: *Candida non-albicans*, *Candida albicans*, preparate antifungice, micoze.

Introducere

Un număr tot mai mare de infecții fungice sunt înregistrate anual la nivel global. În ultimii 20 de ani, întreaga lume a înregistrat o creștere semnificativă a infecțiilor cauzate de *Candida* spp. Acest lucru ridică o problemă importantă de sănătate publică, deoarece crește perioada de spitalizare ceea ce reprezintă o cauză relevantă a morbidității și mortalității în rândul pacienților. [1, 7, 15, 34]

Studiile analizate descriu *Candida* spp. ca specii ce fac parte din microflora comensale a organismului uman, dar în anumite condiții - mai ales la pacienții imunocompromiși – acestea reprezintă agenți patogeni capabili să determine infecții severe care implică organelor chiar și de importanță vitală ale corpului uman. [8, 24, 30, 34]

Genul constă dintr-un grup eterogen de organisme și aproximativ 20 de specii diferite de *Candida* sunt cunoscute ca fiind agenți etiologici ai infecției umane. [2, 6, 19, 30, 34]

Candida albicans este specia care cauzează în principal infecții nosocomiale, deși au fost raportate și unele specii de *C. non-albicans* ca agenți cauzali. Printre cele mai recurente specii de *Candida non-albicans* predomină *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* și *C. glabrata*. [16, 17, 20, 28]

Până de curând, *C. albicans* a fost recunoscută ca fiind cea mai comună specie care cauzează majoritatea cazurilor de candidoză. [3, 5, 10, 16]

Cu toate acestea, în ultimele decenii, mai multe studii au raportat că a existat o trecere progresivă de la o predominanță a *C. albicans* la *C. non-albicans*, cum ar fi *C. tropicalis*, *C. glabrata* și *C. krusei*. [4, 9, 11, 14] S-a raportat că speciile de *C. non-albicans* sunt o cauză majoră a infecției fungice oportuniste, care s-au

intensificat în rezultatul creșterii numărului de pacienți imunocompromiși. Utilizarea excesivă a antibioticelor cu spectru larg, catetere intravenoase, catetere ale tractului urinar, insuficiență renală, insuficiență hepatică, perioadă prelungită de spitalizare, chimioterapii citotoxice și transplanturi, tulburările metabolice și apariția SIDA sunt printre varietatea factorilor semnificativi care contribuie la creșterea infecțiilor fungice oportuniste. [30, 32, 35, 37]

Alte studii au demonstrat că diabetul zaharat, oferă un suport puternic pentru infecția fungică. De asemenea, au înregistrat o asociere specifică între pacienții cu leucemie și infecții cu *C. tropicalis* și pacienții cu transplant de măduvă osoasă și infecții cu *C. krusei*. [12, 18, 19, 24, 29]

În candidozele mixte umane, speciile de *Candida non-albicans* determină un profil rezistent ridicat la preparatele antifungice, ceea ce a crescut interesul față de aceste specii în scopul dezvoltării de noi strategii pentru eradicarea infecției. [13, 21, 25, 31]

Numeroase studii evidențiază *C. glabrata* ca fiind agent patogen nosocomial în infecțiile mucoasei și sistemice iar incidența sa majoră poate fi corelată cu tratamentele imunosupresoare și antimicrobiene. Din studiile epidemiologice, *C. albicans* și *C. glabrata* reprezintă speciile cele mai comune întâlnite în diferite biosubstrate. [22, 26, 36]

Numeroase studii evidențiază candidoza ca o problemă medicală în creștere, care necesită un diagnostic prompt și un tratament precoce. În acest context laboratoarele clinice pot avea nevoie de consolidarea capacităților de identificare a fungilor pentru a detecta simultan *C. albicans* și celelalte specii de *Candida* spp. în biosubstratele clinice. [23, 32, 33, 36]

Evidențele științifice din ultimii ani demonstrează importanța identificării corecte a speciilor *Candida* implicate în dezvoltarea micozelor umane și a determinării profilului de sensibilitate la antifungice. Astfel, identificarea corectă, în timp util a speciilor de *Candida* și determinarea printr-o metodă standardizată a sensibilității la antifungice este esențială, mai ales în contextul emergenței speciilor rezistente la antifungice și constituie elemente cheie, în managementul infecțiilor fungice invazive. [1, 12, 24, 33, 36]

Scopul prezentei lucrări constă în izolarea, studierea spectrului de specii patogene de *Candida* și caracterizarea profilului antifungic al speciilor de *Candida* izolate din diferite biosubstrate ale corpului uman.

Materiale și Metode

A fost realizat un studiu descriptiv a distribuției speciilor de *Candida* și profilului de sensibilitate la antifungice. Toate izolatele provin din laboratorul instituției private Invitro Diagnostics.

Microorganismele cercetate.

Au fost evaluate 169 de tulpini de *Candida* spp. recuperate din diverse biosubstrate clinice (secret vaginal, mase fecale, faringe, amigdale, ureche), pe parcursul anului 2020.

Izolarea și identificarea speciilor de Candida.

Prelevatele destinate investigării microbiologice au fost inoculate pe mediul Sabouraud Dextroză Agar cu cloramfenicol (Oxoid) în scopul izolării tulpinilor de *Candida* spp. Plăcile au fost incubate la 37°C timp de 48 de ore, cu examinarea vizuală a proprietăților culturale (prezența sau lipsa coloniilor specifice). Din coloniile specifice genului *Candida* au fost preparate frotiuri, colorate după Gram, cercetate aspectele morfologice și identificate microscopic. Concomitent cu acest test, din aceleași colonii a fost efectuată identificarea speciilor de *Candida* prin analiza la sistemul Vitek 2 cu Cardurile YST pentru identificarea levurilor.

Determinarea sensibilității la preparatele la antifungice

Prepararea inoculului. Din coloniile izolate ale tulpinilor identificate a fost pregătit un inoculum prin suspendarea acestora în 3 ml de soluție salină sterilă (soluție apoasă de 0,50% NaCl, pH - 7,0) pentru a obține o turbiditate echivalentă cu cea a standardului McFarland 0,5. Ulterior, a fost montat testul pentru determinarea sensibilității la antifungice prin inocularea microplăcilor AST YS-08 – Card pentru testarea sensibilitatii fungilor la sistemul Vitek 2.

Interpretarea rezultatelor. Rezultatele au fost interpretate în baza standardului EUCAST. Izolatele cu concentrație minimă inhibitorie (CMI): < 2 μg/ml pentru amfotericina B, < 2 μg/ml - 5 flucitozină, < 0,5 μg/ml -miconazol, < 0,5 μg/ml -

ketoconazol, < 0,5 µg/ml -itraconazol, < 8 µg/ml -fluconazol) au fost considerate sensibile.

Controlul de calitate. Tulpina de referință *C. albicans* ATCC 10231 a fost utilizată pentru controlul intern al calității investigațiilor efectuate.

Rezultate și discuții

În studiul curent, analizând diversitatea speciilor de *Candida* din numărul total de tulpini recuperate și identificate (*tabelul 1*) până la nivel de specie ($n=169$), s-a constatat o predominare a speciilor de *C. albicans* ($n = 146$; 86,4%) comparativ cu *Candida non-albicans* ($n = 23$; 13,6%).

Tabelul 1

Ponderea speciilor *Candida albicans* și *Candida non-albicans* în funcție de biosubstrat

Biosubstrat/ Specia		Secret vaginal		Mase fecale		Amigdale		Faringe		Ureche	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>C. albicans</i>		104	61,5	14	8,3	8	4,7	20	11,8	-	-
<i>C. non-albicans</i>	<i>C. kefyr</i>	1	4,3	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>C. krusei</i>	5	21,7	1	4,3	-	-	-	-	-	-
	<i>C. glabrata</i>	5	21,7	1	4,3	1	4,3	-	-	-	-
	<i>C. dublinensis</i>	2	8,7	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>C. famata</i>	2	8,7	1	4,3	-	-	-	-	-	-
	<i>C. ciferii</i>	1	4,3	1	4,3	-	-	-	-	-	-
	<i>C. parapsilosis</i>	1	4,3	-	-	-	-	-	-	1	4,3
Total		121	71,6	18	10,7	9	5,3	20	11,8	1	0,6

Diversitatea speciilor de *Candida non-albicans* în acest studiu (*figura 1*), atestă predominarea, *C. glabrata* ($n = 7$; 4,1%), urmată *C. krusei* ($n = 6$; 3,6%), *C. famata* ($n = 3$; 1,8%), *C. parapsilosis* ($n = 2$; 1,2%), *C. dublinensis* ($n = 2$; 1,2%), *C. ciferii* ($n = 2$; 1,2%), *C. kefyr* ($n = 1$; 0,6%).

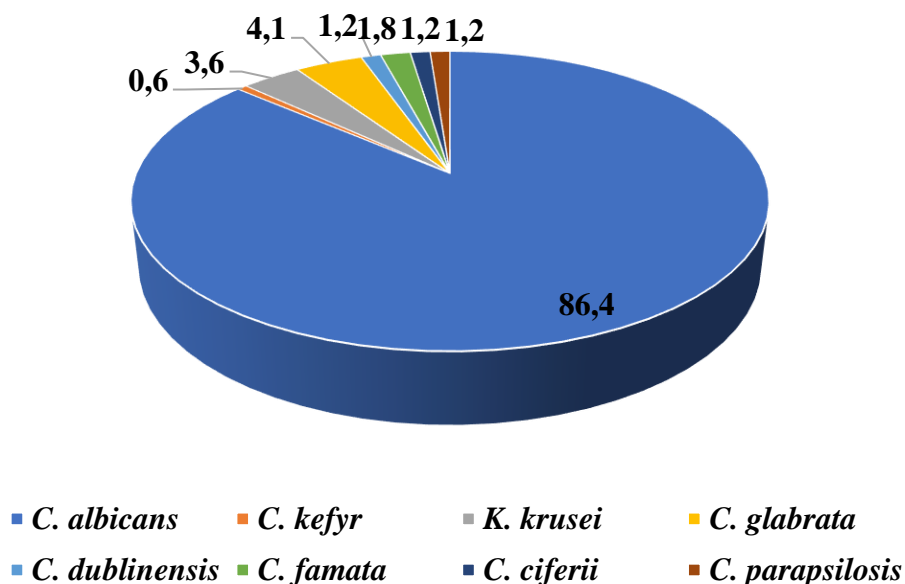


Fig. 1. Spectrul speciilor de *Candida* izolate din diverse biosubstrate

În această lucrare, datele obținute în funcție de biosubstratele din care au fost recuperate tulpinile de *Candida* spp., cele mai multe izolate de *C. albicans* au fost din secret vaginal, cu o pondere de 71,2 % ($n=104$), urmate de cele din faringe – 13,7 % ($n=20$), mase fecale – 9,6% ($n=14$), amigdale – 5,5% ($n=8$), în timp ce din ureche nu a fost izolată nici o tulpină de *C. albicans*.

Distribuția speciilor de *Candida* non-*albicans* în funcție de biosubstratul din care au fost izolate este următoarea: din secret vaginal – 73,9% ($n=17$), mase fecale – 17,4% ($n=4$), amigdale – 4,3% ($n=$), ureche – 4,3% ($n=1$), iar din faringe nu a fost izolată nici o tulpină de *Candida* non-*albicans* (figura 2).

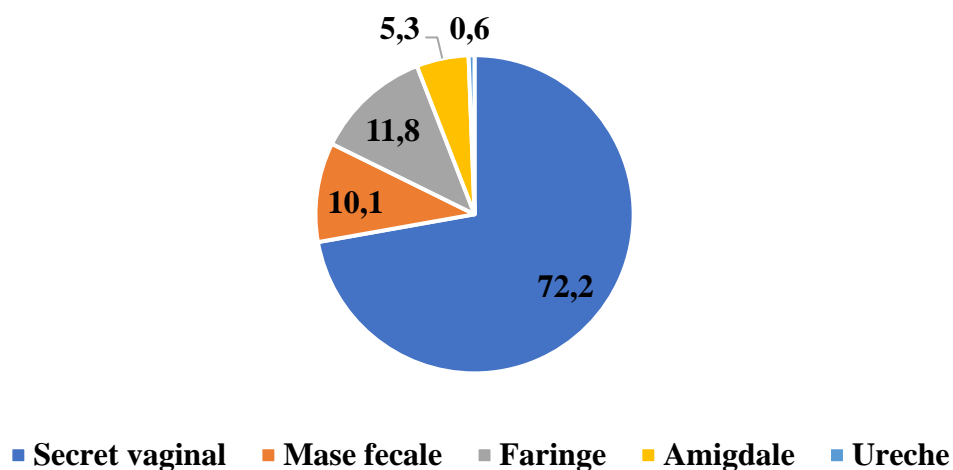


Fig. 2. Ponderea speciilor de *Candida* izolate din diverse biosubstrate, %

Paralel cu aceste evidențe, majoritatea izolatelor de *Candida* spp. au fost recuperate din prelevatele vaginale, urmate de probele de mase fecale, probe din faringe, amigdale și ureche. Cu toate acestea, *C. albicans* a fost identificată ca fiind cea mai frecventă specie de *Candida* izolată din secretul vaginal, faringe și mase fecale.

Suportul laboratorului microbiologic în alegerea terapiei este decisiv prin precizarea sensibilității tulpinii de *Candida* la antifungicul administrat. Rezultatele testării sensibilității la antifungice atestă că majoritatea izolatelor au fost sensibile la preparatele antifungice testate (fluconazole – 82,2; voriconazole – 79,9; micafungin – 78,1; amfotericina B – 85,2) și au demonstrat rezistență moderată la aceste preparate (tabelul 2, figura 3).

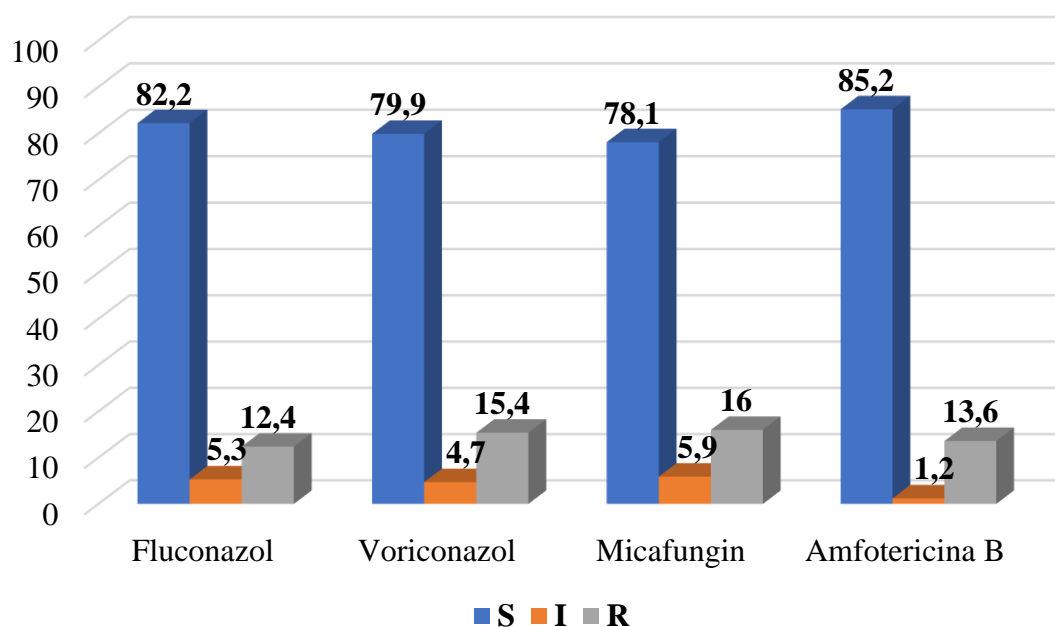


Fig. 3. Distribuția speciilor de *Candida* în funcție de sensibilitatea la antifungice

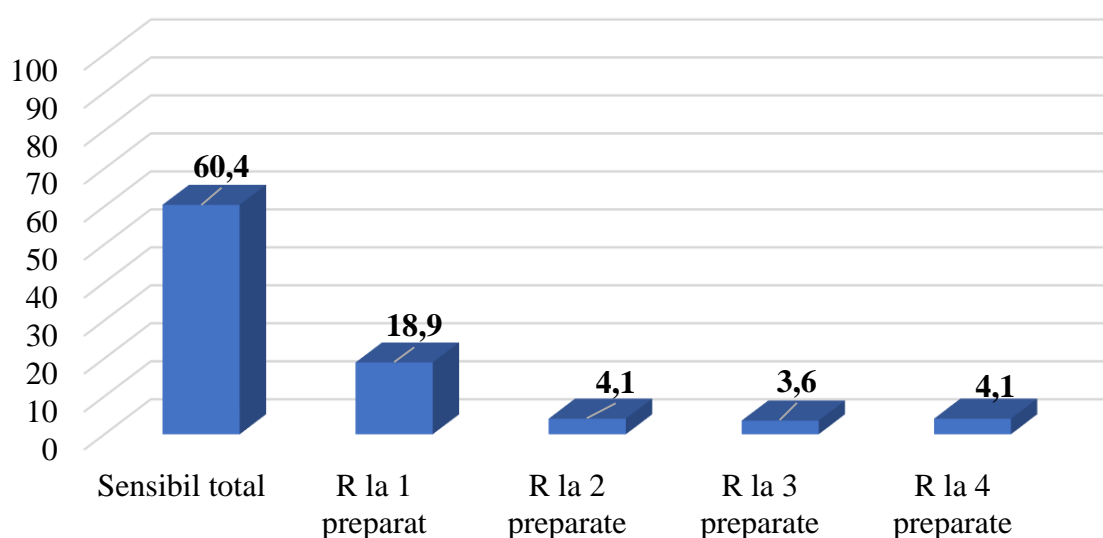
Astfel, rata susceptibilității tulpinilor de *Candida albicans* a constituit 89% pentru fluconazol, 84,2% pentru voriconazole, 82,9% pentru micafungin și 76,5% pentru amfotericina B. În cazul tulpinilor de *Candida non-albicans* cea mai mare rată a sensibilității se atestă la amfotericina B – 78,3%, urmată de voriconazol – 52,2%, și fluconazole, micafungin – câte 43,5% (figura 2).

Tabelul 2

Sensibilitatea tulpinilor de *Candida* spp. izolate la preparatele antifungice

Antimicotice	S		I		R	
	n	%	n	%	n	%
Fluconazol	139	82,2	9	5,3	21	12,4
Voriconazol	135	79,9	8	4,7	26	15,4
Micafingin	132	78,1	10	5,9	27	16,0
Amfotericina B	144	85,2	2	1,2	23	1,8

Rata rezistenței tulpinilor de *Candida albicans* pentru voriconazol și micafungin a constituit 14,4% ($n=21$), urmată de 13% ($n=19$) pentru micafungin, 6,2% ($n=9$) pentru fluconazol. Cele mai multe izolate de *Candida non-albicans* sau dovedit a fi rezistente la fluconazol cu o rată de 47,8% ($n=11$) (figura 4).

Fig. 4. Paternuri de rezistență a tulpinilor de *Candida* spp. izolate

În rezultatul comparării pattern-urilor de rezistență înregistrate la speciile de *Candida* izolate se atestă cea mai mare rată a sensibilității la amfotericina B – 85,2% din tulpinile izolate ($n=144$), urmată de 82,2% ($n=139$) - la fluconazol și 79,9% ($n=135$) - la voriconazol. Cea mai mică rată a fost înregistrată la micafingin – 78,1% ($n=132$).

Cele mai multe tulpini de *Candida* spp. au fost rezistente la micafungin - 16% ($n=27$), voriconazol - 15,4% ($n=26$). De asemenea, 5,9% din tulpini au fost raportate intermediar la micafungin ($n=10$).

Cele mai multe tulpini de *Candida* spp. au fost rezistente la micafungin - 16% ($n=27$), voriconazol - 15,4% ($n=26$). De asemenea, 5,9% din tulpini au fost raportate intermediar la micafungin ($n=10$).

Analizând fungigrama tulpinilor recuperate s-a observat că 97 tulpini de *C. albicans* au fost sensibile la toate preparatele antifungice, 27 tulpini au prezentat rezistență la un singur preparat antifungic, 4 tulpini au fost rezistente la 2 preparate antifungice, 5 tulpini - la 3 preparate și 4 tulpini - la 4 preparate antifungice. Dintre speciile de *Candida non-albicans* 2 au prezentat sensibilitate la toate preparatele antifungice testate. La un singur preparat antifungic au fost rezistente 4 tulpini, la 2 preparate antifungice - 3 tulpini, la 3 preparate - 1 tulpină și la patru preparate - 3 tulpini de *Candida non-albicans*.

Rezultatele studiului curent este în conformitate cu multe alte studii realizate la nivel internațional, care au demonstrat modificarea particularităților epidemiologice a infecțiilor fungice, cu o predominare etiologică moderată sau mai accentuată a speciilor de *Candida albicans*.

Totalizând cele relatate anterior reiterăm importanța realizării cu acuratețe a testelor de identificare a speciilor de fungi și determinare a sensibilității la preparatele antimicotice pentru managementul eficient al infecțiilor fungice.

Concluzii

1. Ultimile decenii, se atestă majorarea considerabilă a incidenței infecțiilor fungice pe motivul majorării numărului de pacienți imunodeprimați, intervențiilor medicale invazive, utilizării abusive a antimicrobienelelor.

2. Studiile analizate au demonstrat importanță implimentării metodelor contemporane în identificarea speciilor *Candida* implicate în infecțiile date.

3. Totodată, se denotă necesitatea elucidării paternurilor de sensibilitate la antifungice în scopul inițierii unui tratament antifungic adecvat.

4. Studiul realizat a evidențiat predominarea specie *Candida albicans* că în biosbstratele investigate, fenomen constat și de alte cercetători

5. Rezultatele testării la antifungice denotă că majoritatea izolatelor au fost sensibile la amfotericina B și fluconazol. Speciile de *Candida* au semnalat rezistență moderată la micafungin și voriconazole.

Referințe:

1. Adhikary R., Joshi S. Species distribution and anti-fungal susceptibility of candidemia at a multi super-speciality center in Southern India. In: *Ind J Med Microbiol.* 2013;29: 309-11.
2. Bailly S., et al. Impact of antifungal prescription on relative distribution and susceptibility of *Candida* spp. - Trends over 10 years. In: *J Infect.* 2016;72(1):103-11.
3. Balan G., Burduniuc O., Ulinici M., Puscas N., Grumeza M., Guțu N. A study on biofilm production among *Candida* species. In: VIII Annual International Scientific-Practical Conference „Medicine pressing questions”. Baku, Azerbaijan. 2019. p. 60. ISSN 978-9952-8279-6-4.
4. Balan G., Burduniuc, O. Antimicrobial susceptibility and biofilm production among *Staphylococcus* and *Candida* species. In: *The Moldovan Medical Journal.* Chișinău, 2020, 63 (1), 3-7. ISSN 2537-6373 (Print), ISSN 2537-6381.
5. Burduniuc O. Actualități în diagnosticul infecțiilor fungice invazive. În: *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină.* 2019, nr. 2(80), pp. 54-60. ISSN 1729-8687.
6. Burduniuc O. Biofilmele fungice – provocare actuală la nivel mondial. În: *Studia Universitatis Moldaviae, Seria “Științe Reale și ale Naturii”.* Chișinău, 2020, 1(131), 100-110. ISSN 1814-3237, ISSN, Online 1857-498x.
7. Burduniuc O. Factorii de virulență a fungilor patogeni: semnificația clinică și detectarea fenotipică. În: *Studia Universitatis, Seria Științe Reale și ale Naturii.* 2018, 6(116), 3-13. ISSN 1814-3237.
8. Burduniuc O. *Fungii patogeni și rezistența la antimicotice.* Tipografia Print-Caro, 2018. 274 p., ISBN 978-9975-56-538-7.
9. Burduniuc O., Bîrcă E., Burduniuc A., Grumeza M., Bivol M. Distribuția speciilor clinice de *Candida* și sensibilitatea acestora la antifungice. În: *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină.* 2020, 5(87), 31-36. ISSN 1729-8687
10. Burduniuc O., Mares M., Denning D.W. Burden of Serious Fungal Diseases in Republic of Moldova. In: *Medical Mycology.* 2018, 56, S1–S159 doi: 10.1093/mmy/myy036 p. S104 (IF: 2.799)
11. Cataldi V., Di Campi E., Fazii P., Traini T. Luigina Cellini¹ and Mara Di Giulio¹, **Candida* species isolated from different body sites and their antifungal susceptibility pattern: Cross-analysis of *Candida albicans* and *Candida glabrata* biofilms In: *Medical Mycology,* 2017, 55, 624–634.
12. Dharwad S., et al. Species identification of *Candida* isolates in various clinical specimens with their antifungal susceptibility patterns. In: *J Clin Diagn Res.* 2011 (suppl-1); 5(6): 1177-81.

13. Fleck R., Dietz A., Hof H. In vitro susceptibility of *Candida* species to five antifungal agents in a German university hospital assessed by the reference broth microdilution method and Etest. In: *J Antimicrob Chemother.* 2007;59:767–71.
14. Ghaddar N., Anastasiadis E., Halimeh R., Ghaddar A., Dhar R., AlFouzan W., Yusef H., El Char M. Prevalence and antifungal susceptibility of *Candida albicans* causing vaginal discharge among pregnant women in Lebanon. In: *BMC Infect Dis.* 2020; 20(1):32. doi: 10.1186/s12879-019-4736-2. PMID: 31931738; PMCID: PMC6958632.
15. Ghazi S., et al. The epidemiology of *Candida* species in the Middle East and North Africa. In: *J Mycol Med.* 2019;29:245–52.
16. Golia S., Reddy K.M., Karjigi K.S., et al. Speciation of *Candida* using chromogenic and cornmeal agar with determination of fluconazole sensitivity. In: *Al Ameen J Med Sci.* 2013;6(2):163-6.
17. Jayalakshmi L., RatnaKumari G., Samson S.H. Isolation, speciation and antifungal susceptibility testing of *Candida* from clinical specimens at a tertiary care hospital. In: *Sch J App Med Sci.* 2014;2:3193–8.
18. Kiraz N., Oz Y. Species distribution and in vitro antifungal susceptibility of clinical *Candida* isolates from a university hospital in Turkey over a 5-year period. In: *Med Mycol.* 2011;49:126–31.
19. Manikandan C., Amsath A. Characterization and susceptibility pattern of *Candida* species isolated from urine sample in pattukkottai, Tamilnadu, India. In: *Int J Pure Appl Zool.* 2015;3:17–23.
20. Mohandas V., Ballal M. Distribution of *Candida* species in different clinical samples and their virulence: biofilm formation, proteinase and phospholipase production: a study on hospitalized patients in southern India. In: *J Glob Infect Dis.* 2011;3(1):4-8. doi:10.4103/0974-777X.77288.
21. Mondal A., et al. Species distribution and in vitro antifungal susceptibility patterns of *Candida*. In: *J Inst Med.* 2013;35:45–9.
22. Ogba O.M., et al. Characterization of *Candida* species isolated from cases of lower respiratory tract infection. In: *World J AIDS* 2013;3:201-6.
23. Pahwa N., Kumar R., Nirkhiwale S., et al. Species distribution and drug susceptibility of *Candida* in clinical isolates from a Tertiary Care Centre at Indore. In: *Indian J Med Microbiol.* 2014;32(1):44-8.
24. Pușcaș N., Bălan G., Burduniuc O. Micro-test system for rapid isolation and identification of *Candida* species in urinary tract infections. In: *Antropological Research and Studies.* București, România. 2017, nr. 7, p. 64-70. ISSN 2360-3445; ISSN-L 2360 – 3445.

25. Rajeevan S., Thomas M., Appalaraju B. Characterisation and Antifungal susceptibility pattern of *Candida* species isolated from various clinical samples at a tertiary care centre in South India In: *Indian J Microbiol Res* 2016;3(1):53-57, DOI: 10.5958/2394-5478.2016.00014.5.
26. Sajjan A.C., Mahalakshmi V.V., Hajare V. Prevalence and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from patients attending tertiary care hospital. In: *IOSR J Dent Med Sci*. 2014;13:44–9.
27. Seyoum E., Bitew A. Mihret A. Distribution of *Candida albicans* and nonalbicans *Candida* species isolated in different clinical samples and their in vitro antifungal susceptibility profile in Ethiopia. In: *BMC Infect Dis*. 2020; 20(1):231. doi: 10.1186/s12879-020-4883-5. PMID: 32188422; PMCID: PMC7081544.
28. Sida H., Pethani J., Dalal P., et al. Study of Changing Trend in the Clinical Distribution of *Candida* Species in Various Clinical Samples at Tertiary Care Hospital, Ahmedabad, Gujarat. In: *Ntl J Community Med*. 2017;8:109–11.
29. Storti L. R., Pasquale G., Scomarim R., Galastri A. L., Walderez F. A., Rodrigues C. P. *Candida* spp. isolated from inpatients, the environment, and health practitioners in the Pediatric Unit at the University Hospital of the Jundiaí Medical College. In: *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* State of São Paulo, Brazil 45(2):225-231 2012.
30. Vijaya D., Harsha T.R., Nagaratanamma T. *Candida* speciation using CHROM agar. In: *J Clin Diagn Res*. 2011;5(4):755-7.
31. Yang C. W., Barkham T. M., Chan F.Y., Wang Y. Prevalence of *Candida* species, including *Candida dubliniensis*, in Singapore. In: *J Clin Microbiol*. 2003;41(1):472-474. doi:10.1128/jcm.41.1.472-474.2003.
32. Yesudhasan B.L., Mohanram K. *Candida tropicalis* as a predominant isolate from clinical specimens and its antifungal susceptibility pattern in a Tertiary Care Hospital in Southern India. In: *J Clin Diagn Res*. 2015;9(7):DC14-6.