



Disponible en ligne sur  
**SciVerse ScienceDirect**  
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France  
**EM|consulte**  
www.em-consulte.com



COURTE COMMUNICATION/SHORT COMMUNICATION

# Identification de trois souches de *Candida africana* au Sénégal

*Identification of three Candida africana strains in Senegal*

Y. Dieng<sup>a,\*</sup>, D. Sow<sup>a,b</sup>, M. Ndiaye<sup>a</sup>, E. Guichet<sup>c</sup>, B. Faye<sup>a</sup>, R. Tine<sup>a,b</sup>,  
A. Lo<sup>a</sup>, K. Sylla<sup>a,b</sup>, M. Ndiaye<sup>a</sup>, A. Abiola<sup>a</sup>, T. Dieng<sup>a,b</sup>, J.L. Ndiaye<sup>a</sup>,  
P. Le Pape<sup>c</sup>, O. Gaye<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Service de parasitologie-mycologie, faculté de médecine et pharmacie, université Cheikh Anta Diop, BP 5005, Dakar Fann, Dakar, Sénégal

<sup>b</sup> Laboratoire de parasitologie et de mycologie, CHU de Fann, BP 5035, Dakar, Sénégal

<sup>c</sup> Laboratoire de parasitologie et de mycologie, CHU de Nantes, 44000 Nantes, France

Reçu le 1<sup>er</sup> avril 2012 ; reçu sous la forme révisée le 11 July 2012; accepté le 26 juillet 2012

Disponible sur Internet le 23 octobre 2012

## MOTS CLÉS

*Candida albicans* ;  
*Candida africana* ;  
*Candida dubliniensis* ;  
PCR ;  
Gène *hwp1* ;  
Dakar

## Résumé

**Justifications.** – La fréquence des candidoses a très nettement augmenté ces dernières années. *Candida albicans* est l'espèce la plus fréquente. Cependant, d'autres espèces pathogènes et résistantes à certains antifongiques commencent à émerger. Parmi elles figurent *Candida dubliniensis* et *Candida africana* qui présentent des similitudes morphologiques avec *Candida albicans*. D'où l'intérêt d'une identification correcte des isolats fongiques.

**Objectif.** – Rechercher ces nouvelles espèces parmi les souches de *Candida* isolées à Dakar.

**Matériel et méthodes.** – Des prélèvements vaginaux et oropharyngés ont été effectués au centre hospitalier universitaire de Fann à Dakar. Les souches isolées ont été identifiées grâce au test de germination, au test de chlamydo sporulation et à l'auxanogramme. Ensuite, une identification par PCR basée sur l'amplification du gène *hwp1*, a été réalisée pour différencier *Candida albicans* de *Candida dubliniensis* et de *Candida africana*.

**Résultats.** – Deux cent quarante-trois levures ont été isolées des prélèvements dont 231 au niveau vaginal et 12 au niveau oropharyngé. Les différentes espèces identifiées sur la base des méthodes phénotypiques sont *Candida albicans* qui est la plus fréquente, suivie de *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida dubliniensis*, *Candida kefyr* et *Candida lusitanae*. La PCR réalisée sur les 150 souches de *Candida* ayant présenté un test de germination positif, a permis d'identifier trois *Candida africana*, 109 *Candida albicans* et aucune souche de *Candida dubliniensis*.

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : yemoud1@yahoo.fr (Y. Dieng).

**KEYWORDS**

*Candida albicans*;  
*Candida africana*;  
*Candida dubliniensis*;  
 PCR;  
*Hwp1* gene;  
 Dakar

**Conclusion.** — Cette étude a permis d'isoler *Candida africana* pour la première fois au Sénégal. D'autres études sur un plus grand échantillon permettront de mieux connaître l'épidémiologie de ces trois espèces parmi les levures isolées.

© 2012 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

**Summary**

**Justification.** — The frequency of candidiasis has increased dramatically in recent years. *Candida albicans* is the most common species. However, other species which are pathogenic and resistant to usual antifungal agents beginning to emerge. These include *Candida dubliniensis* and *Candida africana*, which share morphological similarities with *Candida albicans*. Thus, it is of interest to correctly identify the fungal isolates.

**Objective.** — To seek these new species among *Candida* strains isolated in Dakar.

**Material and methods.** — Oropharyngeal and vaginal swabs were performed at Fann University Hospital in Dakar. The strains were identified by the germ tube test, the chlamyospore production test and an auxanogram. Then identification by PCR targeting the hyphal wall protein 1 (*hwp1*) gene, was performed for the discrimination between *Candida albicans*, *Candida dubliniensis* and *Candida africana*.

**Results.** — In total, 243 yeasts were isolated from samples including 231 in vaginal swab and 12 in oropharyngeal swab. Species identified by phenotypic methods are *Candida albicans*, which is the most frequent, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida dubliniensis*, *Candida kefyr* and *Candida lusitanae*. PCR performed on the 150 strains germ tube test positive identifies three *Candida africana*, 109 *Candida albicans* and no strain of *Candida dubliniensis*.

**Conclusion.** — This study isolates *Candida africana* for the first time in Senegal. Further studies on a larger sample will better know the actual proportion of these three species among the isolated yeasts.

© 2012 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

**Introduction**

Les candidoses sont des infections fongiques dont la fréquence a très nettement augmenté ces 20 dernières années. Le genre *Candida* renferme plus de 200 espèces dont seulement 12 sont responsables de maladie [11,19]. *Candida albicans* a été pendant longtemps l'espèce la plus pathogène. Toutefois, nous avons assisté ces dix dernières années à l'émergence des autres espèces non *albicans* qui deviennent de plus en plus pathogènes. C'est le cas de *C. dubliniensis* et de *C. africana* qui ont été identifiées comme étant de nouvelles espèces opportunistes.

*C. africana* est un pathogène opportuniste responsable d'infections vaginales. Elle a été décrite pour la première fois en 1995, comme une souche atypique de *C. albicans* car ne produisant pas de chlamydozoïdes sur milieux appauvris [15]. C'est par la suite qu'elle a été proposée comme nouvelle espèce de *Candida* sur la base des caractéristiques morphologique, biochimique et physiologique nettement différentes de celles de *C. albicans* [4]. Elle a été identifiée en Afrique, notamment à Madagascar et en Angola [21]. Mais également dans certains pays européens tels que l'Italie, l'Allemagne [1,17,21].

*C. dubliniensis* a été reconnue comme agent de pathologies superficielles et profondes aussi bien chez les patients infectés par le VIH que chez les patients séronégatifs. C'est ainsi qu'elle a été décrite comme étant à l'origine d'infections respiratoires, vulvo-vaginales, urinaires, cutanées et même du système nerveux central [6,13,14,20]. Cette espèce a été déjà isolée dans de nombreux pays d'Europe, d'Asie et d'Amérique. Sa prévalence était estimée à environ 20 % dans les prélèvements oropharyngés des sujets infectés par le VIH aux États-Unis

et en Irlande [4,9] et dans les candidoses vulvo-vaginales en Turquie et à Singapour [22,23]. En Afrique, *C. dubliniensis* est bel et bien présente. Les rares études effectuées dans le continent ont permis d'isoler l'espèce en Tunisie [10], en Afrique du Sud [2,3] et chez des enfants nigériens immigrés aux États-Unis [8].

En Afrique de l'Ouest, notamment au Sénégal, aucune souche de *C. africana* et de *C. dubliniensis* n'a été décrite à ce jour. Notre étude avait donc pour objectif de rechercher ces nouvelles espèces parmi les souches de *Candida* isolées à Dakar.

**Patients et méthodes**

Nous avons réalisé une étude prospective descriptive longitudinale allant du mois d'octobre 2010 au mois de juin 2011. Elle a été effectuée au niveau du centre hospitalier universitaire (CHU) de Fann à Dakar. Les prélèvements vaginaux réalisés à l'aide d'un écouvillon, ont été faits au service de bactériologie-virologie du CHU de Fann, dans le cadre d'un bilan infectieux ou prénatal. Les prélèvements oropharyngés par écouvillonnage ont été recueillis au niveau des patients de la clinique des maladies infectieuses du même hôpital.

Ces prélèvements ont été acheminés au service de parasitologie-mycologie du CHU de Fann et de l'université Cheikh Anta DIOP de Dakar où ont été réalisés les différents tests d'identification des espèces.

**Identification par les méthodes phénotypiques**

Sur chaque prélèvement un examen direct et une culture sur le milieu Sabouraud chloramphénicol (SC) et sur le

milieu Sabouraud chloramphénicol-actidione (SCA) ont été réalisés. Toutes les cultures positives ont bénéficié du test de germination en sérum (test de blastèse), du test de chlamydosporulation avec le milieu PCB (Bio-Rad®) et de l'auxanogramme avec le kit Auxacolor™ 2 (Bio-Rad®).

### Examen direct

L'examen direct d'une émulsion de l'écouvillon dans de l'eau physiologique entre lame et lamelle permet de noter la présence de levures et/ou de filaments.

### Culture

L'écouvillon a été ensemencé aussi bien sur milieu SC que sur SCA. L'incubation a été faite à 27 °C pendant 24 à 48 heures.

### Identification de *Candida dubliniensis* et de *Candida africana* par la PCR

Récemment, a été mise au point une méthode d'identification par biologie moléculaire permettant de discriminer les trois espèces : *C. africana*, *C. albicans* et *C. dubliniensis* [18]. C'est une PCR qui utilise les amorces CR-f (5'GCTA CCACTTCAGAATCATCA 3') et CR-r (5'GCACCTTCAGTCGTA GAGACG 3'), spécifiques du gène *hyphal wall protein 1* (*hwp1*). Codant pour l'adhésine HWP1, le gène *hwp1* est hautement induit lors de la formation des tubes germinatifs et des filaments.

### Extraction d'ADN

La méthode dite « colony PCR » a été sélectionnée. Simple et efficace, elle consiste à déposer directement une colonie du prélèvement mycologique étudié dans le mix PCR et à doubler le temps de dénaturation par rapport au programme initial.

### Amplification génique

La réaction d'amplification s'est faite dans un volume final de 50 µL contenant : PCR buffer 10 × = 5 µL ; MgCl<sub>2</sub> 25 mM = 3 µL ; dNTP 10 mM = 1 µL ; amorce sens = 1 µL (10 picoMoles) ; amorce antisens = 1 µL (10 picoMoles) ; ADN à amplifier = 1 µL ; Taq polymérase = 1 µL ; eau distillée déminéralisée = 37 µL.

L'amplification a été réalisée dans un thermocycleur (PTC-100, Bio-Rad®) selon le programme suivant : une étape de dénaturation initiale à 95 °C durant dix minutes suivie d'une amplification comprenant 30 cycles composés d'une phase de dénaturation à 95 °C durant 45 secondes, d'une phase d'hybridation à 58 °C durant 40 secondes et d'une phase d'élongation à 72 °C durant 55 secondes, enfin une étape d'extension finale à 72 °C durant 10 mn. Les amplicons obtenus ont été analysés après migration électrophorétique à travers un gel d'agarose à 1,3 %. La taille attendue était de 941 pb pour *C. albicans*, de 569 pb pour *C. dubliniensis* et de 700 pb pour *C. africana*.

Les données ont été saisies sur Excel™ et analysées avec le logiciel STATA IC10.

## Résultats

Deux cent quarante-trois prélèvements positifs ont été recueillis. Ils étaient constitués de 231 prélèvements vaginaux soit 95,06 % et de 12 prélèvements oropharyngés soit 4,94 %. L'âge des participants à l'étude variait entre 14 à 57 ans avec un âge moyen de 30,5 ± 9,31 ans.

L'examen au spéculum au cours de la phase de prélèvement, avait objectivé un col d'aspect normal chez 75,6 % des femmes examinées et un col d'aspect inflammatoire chez 24,4 % d'entre elles.

L'examen microscopique des échantillons à l'état frais, nous a permis d'observer dans la totalité des prélèvements, la présence de levures à type de blastospores. Cependant, aucun filament mycélien n'a été noté lors de cet examen direct.

### Identification des levures sur la base du test de germination, du test de chlamydosporulation et de l'auxanogramme

L'agent pathogène le plus fréquemment rencontré est *C. albicans* (52,75 %) suivi de *C. tropicalis* (4,4 %) *C. glabrata* (4,4 %), *C. dubliniensis* (1,1 %). Les autres espèces de levures (2,75 %) étaient constituées de *C. lusitaniae*, *C. kefir* et de *Trichosporon* sp. Toutefois, il faut noter que certaines levures n'ont pas bénéficié d'une identification complète suite à une rupture de PCB et d'Auxacolor™2. Parmi elles figurent 20,33 % de levures avec test de filamentation (TF) positif et 14,29 % de levures avec TF négatif.

### Identification des souches de *Candida* par la PCR

La PCR faite sur les 150 souches qui avaient un test de filamentation positif a permis d'obtenir les résultats suivants : trois (2 %) et 109 (73 %) souches respectivement de *C. africana* et *C. albicans* ont été identifiées.

Aucune souche de *C. dubliniensis* n'a été identifiée parmi ces isolats. Cette espèce a le plus souvent été isolée de la cavité buccale de sujets atteints par le VIH. Il serait particulièrement plus intéressant de travailler sur un échantillon plus grand de prélèvements oropharyngés avant de pouvoir conclure à la présence ou non de cette espèce au Sénégal. La biologie moléculaire utilisée pour la recherche de cette espèce ne pouvant être un outil de routine, il serait intéressant de pouvoir disposer de méthodes phénotypiques assez fiables et peu coûteuses pour une large utilisation dans nos pays.

De même, 38 souches soit 25 % n'ont pas été identifiées après PCR et ne correspondaient à aucune des trois espèces. Elles représentaient les levures qui avaient un test de blastèse positif mais n'avaient pu bénéficier de la chlamydosporulation ni de l'auxanogramme suite à la rupture de ces derniers.

Les trois souches de *C. africana* ont été isolées chez deux patientes mariées reçues dans le cadre de leur bilan prénatal et chez une patiente célibataire sans enfants reçue pour des leucorrhées abondantes et fétides (Tableau 1).

Ces trois souches de *C. africana* ont produit des tubes germinatifs sur sérum mais pas de chlamydosporulation sur

**Tableau 1** Données cliniques des patientes porteuses de *Candida africana*.  
*Clinical data of patients with Candida africana.*

	Patiente n° 1	Patiente n° 2	Patiente n° 3
<i>Renseignements cliniques</i>			
Âge	39 ans	25 ans	30 ans
Situation matrimoniale	Mariée	Célibataire	Mariée
Antécédents obstétricaux	4 gestes, 3 pères	0 geste, 0 père	1 geste, 0 père
Motifs d'examen	Bilan prénatal	Leucorrhées abondantes fétides	Bilan prénatal
<i>Aspect macroscopique des pertes</i>			
Couleur	Blanchâtres	Jaunâtres	Blanchâtres
Abondance	Peu abondantes	Abondantes	Peu abondantes
Consistance	Épaisses	Caillebotées	Épaisses
odeur	Non fétides	Fétides	Non fétides
<i>Aspect du col</i>			
Aspect inflammatoire du col	Non	Oui	Non

milieu appauvri (PCB). De plus, elles ont donné un profil biochimique identique à *C. albicans* sur l'Auxacolor™ 2 (Tableau 2).

## Discussion

*C. albicans* demeure l'espèce la plus fréquemment isolée à partir des produits pathologiques. Sa pathogénie est le plus souvent liée à sa capacité de produire des filaments mycéliens. Cependant, durant ces dernières années, certains

auteurs ont identifié d'autres espèces de *Candida* non-*albicans* capables de produire des filaments dans du sérum exactement comme *C. albicans*. Il s'agit notamment de *C. dubliniensis* et de *C. africana*. La première a été décrite comme étant à l'origine de candidose oropharyngée mais a été aussi isolée au niveau d'autres sites pathologiques [4]. Alors que *C. africana* est responsable essentiellement de vaginite [15] bien qu'elle ait été une fois isolée en dehors du vagin [12].

Cette étude réalisée pour la première fois au Sénégal visait à identifier ces trois espèces dans des prélèvements.

**Tableau 2** Caractéristiques morphologiques et biochimiques des espèces de *Candida* isolées.  
*Characteristic of Candida species isolated.*

	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	<i>Candida africana</i>
<i>Caractères morphologiques</i>			
Pousse sur Sabouraud chloramphénicol + actidione	+	+	+
Nombre de colonies	En nappe	< 10 colonies	10–20 colonies
Test de germination sur sérum	+	+	+
Production de chlamydozoaires	+	+	–
<i>Profil biochimique à l'Auxacolor™ : code =</i>			
Glucose	+	+	+
Maltose	+	+	+
Saccharose	+	+	+
Galactose	+	+	+
Lactose	–	–	–
Raffinose	–	–	–
Inositol	–	–	–
Cellobiose	–	–	–
Tréhalose	+	+	+
Adonitol	+	+	+
Melezitose	–	–	–
Xylose	+	+	+
Arabinose	–	–	–
Détection de l'activité N-acétyl-galactosaminidase (hexosaminidase)	–	+	+

Les souches isolées de *Candida albicans* présentaient soit un code 71450 ou 71452. En revanche, les deux souches de *C. dubliniensis* identifiées à l'auxacolor avaient un code 71410 alors qu'il était 71452 pour les trois souches de *C. africana* confirmées par la PCR.

Ainsi, trois souches de *C. africana* ont été identifiées par PCR à partir de prélèvements vaginaux sur un total de 150 souches isolées de prélèvements vaginaux et oropharyngés soit une proportion de 2 %. Ce taux est relativement plus faible que celui observé par Oresio et al. qui ont identifié 27 souches de *C. africana* sur un total de 376 échantillons traités par PCR dont 163 prélèvements vaginaux [16].

Pour aboutir à l'identification correcte de cette espèce, nous avons utilisé plusieurs méthodes. Après isolement des colonies à partir du milieu SCA, nous avons réalisé le test de germination puis en cas de positivité, le test de chlamydo sporulation sur PCB. En effet, les auteurs ont rapporté que *C. africana* produit des tubes germinatifs sur sérum mais est incapable de chlamydo sporulation sur milieu appauvri [21]. Ces caractères morphologiques rapportés dans la littérature ont été confirmés dans cette étude où les trois souches isolées ont produit des tubes germinatifs sur sérum mais pas de chlamydo spores sur PCB. Les trois souches de *C. africana* isolées avaient un profil biochimique identique à celui de *C. albicans*. Il en était de même pour les souches identifiées comme étant *C. dubliniensis* qui se sont révélées être *C. albicans* à la PCR. Cela s'explique probablement par le fait que l'AuxanColor™ 2 n'utilise pas l'assimilation de certains sucres tels que N-acetylglucosamine, glucosamine, DL-lactate et methyl- $\alpha$ -D-glucoside permettant de discriminer les trois espèces [1,17,21]. Il serait donc plus intéressant d'utiliser des galeries d'identification qui intègrent l'assimilation de ces sucres [7]. Il est à noter que 38 souches qui avaient un test de blastèse positif sans bénéficier de la chlamydo sporulation ni de l'auxanogramme n'avaient pas été identifiées par la PCR. Or, il est une pratique courante dans certains laboratoires polyvalents du pays de ne réaliser que ce test de blastèse pour identifier *C. albicans*. Les résultats de notre étude montrent que 25 % de notre échantillon étaient des *C. non albicans* à test de blastèse positif. Il pourrait s'agir de *C. stellatoidea*, variété de *C. albicans* et d'une souche résistante à l'actidione de *C. tropicalis* qui est une espèce pouvant filamenter en sérum humain.

En définitive, l'identification de ces différentes espèces a été confirmée par la PCR qui a permis d'amplifier le gène *hwp1*. Parmi les 150 isolats de levures traités par PCR lors de cette étude, nous avons trouvé trois souches ayant donné des bandes à la taille de 700 pb correspondant ainsi à *C. africana*. Cette espèce a longtemps été considérée comme une souche atypique de *C. albicans* mais en 2001 elle fut proposée comme une nouvelle espèce de *Candida* au regard de ses différences morphologiques et biochimiques d'avec *C. albicans* [21]. Par la suite, des études comparatives basées sur des techniques génétiques ont clairement montré que *C. africana* ne pouvait pas être considérée comme une nouvelle espèce du fait de sa ressemblance génétique avec *C. albicans* [1,5,17]. C'est ainsi que certains auteurs ont proposé une nouvelle taxonomie en le nommant *C. albicans* var. *africana* [17]. De récentes études de biologie moléculaire abondent aussi dans le même sens et tendent à le considérer comme étant un bio-variant de *C. albicans*. Sa position taxonomique et ses relations phylogénétiques avec les autres espèces de *Candida* demeurent donc très controversées [15].

Sur le plan clinique, *C. africana* est d'une part, isolée dans notre étude chez une patiente qui a présenté des signes d'une vaginite comme décrit par certains auteurs [17], elle est célibataire, sans enfants et sans autre facteur favorisant local. D'autre part, elle a été isolée chez deux femmes enceintes qui ne présentaient pas de signes de vaginite et pouvant donc être considérée comme un saprophyte de la muqueuse vaginale.

Devant l'émergence d'espèces de *C. non-albicans* qui deviennent de plus en plus moins sensibles aux antifongiques sur certains terrains d'immunodépression, il devient impératif de disposer de méthodes permettant de les identifier pour une meilleure prise en charge.

## Conclusion

Cette étude a donc permis de déterminer la proportion réelle de chacune de ces trois espèces parmi les levures isolées au Sénégal. En perspective, d'autres études sur un plus grand échantillon provenant de plusieurs sites de prélèvement, permettront ainsi de mieux connaître l'épidémiologie, le profil génétique et la sensibilité in vitro des différentes souches de *Candida* isolées au Sénégal.

## Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

## Références

- [1] Alonso-Vargas R, Elorduy L, Eraso E, Cano JF, Guarro J, Pontón J, et al. Isolation of *Candida africana*, probable atypical strains of *Candida albicans*, from a patient with vaginitis. *Med Mycol* 2008;46:167–70.
- [2] Bignon E. Oral candidiasis and oral yeast carriage among institutionalised South African paediatric HIV/AIDS patients. *Mycopathologia* 2007;163:67–73.
- [3] Bignon E, Pujol C, Joly S, Soll DR. Racial distribution of *Candida dubliniensis* colonization among South Africans. *J Clin Microbiol* 2003;41:1838–42.
- [4] Erico SL, Liliane AS, Cristina WN, Gilson Z, Janio MS, Sydney HA. *Candida dubliniensis*: epidemiology and phenotypic methods for identification. *Mycopathologia* 2010;169:431–43.
- [5] Forche A, Schönian G, Gräser Y, Vilgalys R, Mitchell TG. Genetic structure of typical and atypical populations of *Candida albicans* from Africa. *Fungal Genet Biol* 1999;28:107–25.
- [6] Fotedar R, Al-Hedaithy SS. *Candida dubliniensis* at a University in Saudi Arabia. *J Clin Microbiol* 2003;41:1907–11.
- [7] Gales AC, Pfaller MA, Houston AK, Joly S, Sullivan DJ, Coleman DC, et al. Identification of *Candida dubliniensis* based on temperature and utilization of xylose and methyl- $\alpha$ -D-glucoside as determined with the API 20 C AUX and Vitek TBC Systems. *J Clin Microbiol* 1999;37:3804–8.
- [8] Jabra-RMA, Falkler WA, Enwonwu CO, Onwujekwe DI, Merz WG, Meiller TF. Prevalence of yeast among children in Nigeria and the United States. *Oral Microbiol Immunol* 2001;16:383–5.
- [9] Jabra-Rizk MA, Ferreira SMS, Sabet M, Falkler WA, Merz WG, Meiller TF. Recovery of *Candida dubliniensis* and other yeast from human immunodeficiency virus associated periodontal lesions. *J Clin Microbiol* 2001;39:4520–2.

- [10] Khelif M, Sellami H, Sellami A, Chelly H, Makni F, Bouaziz M, et al. *Candida dubliniensis*: first identification in Sfax hospital, Tunisia. *Mycoses* 2009;52:171–5.
- [11] Manzano-Gayosso P, Hernández-Hernández F, Bazán-Mora E, Méndez-Tovar LJ, González-Monroy J, López-Martínez R. Identificación y tipificación de levaduras aisladas de pacientes de un hospital de la Ciudad de México. *Rev Argent Microbiol* 2000;32:1–6.
- [12] Odds FC, Bougnoux ME, Shaw DJ, Bain JM, Davidson AD, Diogo D, et al. Molecular phylogenetics of *Candida albicans*. *Eukaryot Cell* 2007;6:1041–52.
- [13] Odds FC, Nuffel LV, Dams G. Prevalence of *Candida dubliniensis* isolates in a yeast stock collection. *J Clin Microbiol* 1998;36:2869–73.
- [14] Polacheck I, Strahilevitz J, Sullivan D, Donnelly S, Salkin IF, Coleman DC. Recovery of *Candida dubliniensis* from non-human immunodeficiency virus-infected patients in Israel. *J Clin Microbiol* 2000;38:170–4.
- [15] Romeo O, Criseo G. *Candida africana* and its closest relatives. *Mycoses* 2011;54:475–86.
- [16] Romeo O, Criseo G. Molecular Epidemiology of *Candida albicans* and its closely related yeasts *Candida dubliniensis* and *Candida africana*. *J Clin Microbiol* 2009;47:212–4.
- [17] Romeo O, Criseo G. Morphological, biochemical and molecular characterization of the first Italian *Candida africana* isolate. *Mycoses* 2008;52:454–7.
- [18] Romeo O, Criseo G. First molecular method for discrimination between *Candida Africana*, *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* by using hwp1 gene. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008;62:230–3.
- [19] Rubén LM. Candidosis, a new challenge. *Clin Dermatol* 2010;28:178–84.
- [20] Sullivan DJ, Westerneng TJ, Haynes KA, Bennett DE, Coleman DC. *Candida dubliniensis* sp. nov.: phenotypic and molecular characterization of a novel species associated with oral candidosis in HIV-infected individuals. *Microbiology* 1995;141:1507–21.
- [21] Tietz HJ, Hopp M, Schmalreck A, Sterry W, Czaika V. *Candida africana* sp. nov., a new human pathogen or a variant of *Candida albicans*? *Mycoses* 2001;44:437–45.
- [22] Us E, Cengiz SA. Prevalence and phenotypic evaluation of *Candida dubliniensis* in pregnant women with vulvovaginal candidosis in university hospital in Ankara. *Mycoses* 2006;50:13–20.
- [23] Yang CW, Barkham TMS, Chan FY, Wang Y. Prevalence of *Candida dubliniensis*, in Singapore. *J Clin Microbiol* 2003;41:472–4.