



Universidad Especializada de las Américas
Decanato de Postgrado

Trabajo de Grado para optar por el título de Doctorado en
Ciencias de la Salud y del Comportamiento humano

Tesis

Características Clínicas, Microbiológicas e Epidemiológicas de
especies de Cándida, asociadas a fungemia en la sala de
Neonatología, Hospital del Niño Dr. José Renán Esquivel desde
periodo 2014-16

Presentado por:
Nieto Ramos, Julio 6-79-4

Asesor:
Analinnette Lebrija

Panamá, 2021

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres, Julio Nieto Hurtado y Florencia Ramos de Nieto, por haberme dado la mejor herencia que los hijos pueden recibir, que es la oportunidad de estudiar. A pesar de que ninguno de los dos tuvo la oportunidad de poder asistir a la universidad, nunca nos negaron la oportunidad de poder hacerlo. Más allá de las barreras y obstáculos de la vida, nos manifestaban la importancia de los estudios como una herramienta para salir adelante.

Recuerdo cómo me apoyaron económicamente para poder iniciar y finalizar mis estudios de Licenciatura en Tecnología Médica en la Facultad de Medicina de la Universidad de Panamá. Con el grado de licenciatura pude ingresar a laborar en el Laboratorio Clínico del Hospital del Niño Dr. José Renán Esquivel, una vez pude observar la oportunidad que me daba la vida por medio de los estudios. Siendo funcionario de este hospital se dio la oportunidad de poder asistir a varios cursos y post grados internacionales en microbiología.

Gracias a la semilla sembrada por mis padres y mi experiencia en el hospital, surge el deseo de seguir con mis estudios. Por la sed de conocimiento, decido regresar a la universidad que me vio crecer e inicio estudios de postgrado obteniendo el título de Maestría en Ciencias Biomédicas con Especialización en Microbiología. Por mucho tiempo trabajé en la sección de microbiología y tuve la oportunidad de trabajar en grupos de investigación nacionales e

internacionales. Además, fui coordinador de calidad de microbiología y luego obtengo el cargo de jefe de microbiología.

A pesar de estar casado y con hijos sentía que aún no había terminado. Fue entonces cuando surge otra oportunidad e ingreso al programa de doctorado en Ciencias de la Salud y Comportamiento Humano con énfasis en Investigación Biomédica, donde he logrado conocer a muchos profesionales de diferentes áreas del conocimiento y colaborando con muchos de ellos.

Me queda claro que el estudio ha sido la llave que me permitió abrir puertas que, de otra manera, me hubiese sido imposible abrirlas. Quiero dedicar este trabajo a mis padres porque ellos fueron los que pusieron esa llave en mi mano aun cuando no sabía qué puerta abrir con ellas. Hoy puedo decir con toda seguridad que el estudio no nos hace alguien en la vida, pues sin ellos ya somos alguien. El estudio es la llave que abre las puertas que se presentan en nuestra vida. Puedo afirmar que para tener éxito en la vida solo basta estar preparado en el momento que la oportunidad llega y como esta escrito tiempo y ocasión nos acontece a todos.

Julio Nieto

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a Dios, en primer lugar, por poner en mí el querer como el hacer por su buena voluntad, y en segundo lugar por guiarme por medio de su Espíritu y nunca desmayar. Es Dios quien sabe qué puertas abrir y qué puertas cerrar. Agradezco a Dios por la sabiduría que jamás te dará el conocimiento.

Quiero agradecer a mi familia. Mi esposa Geneva Herrera, mi compañera, a quien amo profundamente. Por ella y con ella he conocido y he sentido el amor de Dios. A mis hijas Andrea, Anna y Anahiah, que son la alegría de mi vida, disfruto muchísimo de ellas. Creo que, sin su apoyo y comprensión, por las múltiples horas de ausencia, jamás podría haber culminado esta etapa de mi vida.

Quiero agradecer a la Universidad de Las Américas por la oportunidad y a todos mis profesores. Quiero agradecer muy especialmente a la Doctora Analinette Lebrija, realmente ha sido fundamental en este proceso. A todos mis compañeros, asesores y todas las personas que de una u otra manera han formado parte de esta etapa de mi vida.

A todos muchas gracias. Que Dios me los bendiga.

Julio Nieto

RESUMEN

La incidencia de fungemia en las unidades de cuidados intensivos de neonatología (UCIN) ha aumentado en las últimas décadas en recién nacidos prematuros y de bajo peso al nacer. El objetivo fue determinar las características clínicas, microbiológicas y epidemiológicas de las fungemias en pacientes pediátricos hospitalizados. El presente trabajo es un estudio transversal descriptivo, donde se realizó un muestreo no probabilístico a juicio de 142 pacientes con hemocultivos positivos por levaduras desde 2014 a 2016. Se evaluó los factores de riesgos y se calculó tasas asociados a fungemia. Se realizó identificaciones proteómicas (Vitek-MS) y pruebas de susceptibilidad (Epsilometría). Se encontró diferencias estadísticamente significativas entre tasa de incidencia de fungemia de 2014 versus (vs) el año 2015 (Valor estadístico Z de -4.00, valor p 0), y de 2015 vs el año 2016 (Valor estadístico Z de 2.861, valor p 0.004). Se encontró que *C. parapsilopsis sensu stricto* fue la especie más aislada seguido de *C. albicans*, excepto en el año 2016 donde *C. albicans* fue la especie predominante. Las pruebas de susceptibilidad acumulada indican que *C. parapsilopsis* fue sensible a anfotericina B y a micafungina en 99% y 100% de los casos, respectivamente. Mientras, que para fluconazol fue menos del 50%. La susceptibilidad de *C. albicans* a fluconazol fue de 38%, y para anfotericina B y micafungina fue de 100%. Se pudo concluir que hubo un incremento significativo en la tasa de fungemia neonatal en la UCIN durante periodo 2014, 2015 y 2016, sin aumento en la tasa de mortalidad general.

Palabras Clave: Candida, fungemia, neonatos, sensibilidad a antifúngicos, sepsis.

ABSTRACT

The incidence of fungemia in neonatal intensive care units (NICU) has increased in recent decades in preterm and low-birth-weight newborns. The objective was to determine the clinical, microbiological and epidemiological characteristics of fungemia in hospitalized pediatric patients. The present work is a descriptive cross-sectional study, where a non-probabilistic sampling was carried out according to the judgment of 142 patients with positive yeast blood cultures from 2014 to 2016. Risk factors were evaluated, and rates associated with fungemia were calculated. Proteomic identifications (using Vitek-MS) and susceptibility tests (using epsilometry method) were made. Statistically significant differences were found between the incidence rate of fungemia from the year 2014 versus (vs) 2015 (Z-statistic of -4.00, p-value 0), and from 2015 vs 2016 (Z-statistic of 2.861, p-value 0.004). It was found that *C. parapsilopsis* sensu stricto was the most isolated species followed by *C. albicans*, except in 2016 where *C. albicans* was the predominant species. Cumulative susceptibility tests indicate that *C. parapsilopsis* was sensitive to amphotericin B and micafungin in 99% and 100% of cases, respectively. While that for fluconazole it was less than 50%. The susceptibility of *C. albicans* to fluconazole was 38%, and for amphotericin B and micafungin it was 100%. It was possible to conclude that there was a significant increase in the neonatal fungemia rate in the NICU during the 2014, 2015 and 2016 period, without an increase in the general mortality rate.

Key Words: Candida, fungemia, neonates, antifungal sensitivity, sepsis

CONTENIDO GENERAL

INTRODUCCIÓN	9
CAPÍTULO I: ASPECTOS GENERALES DE LA INVESTIGACIÓN	13
1.1 Planteamiento del problema	13
1.1.1 Problema de investigación	30
1.2 Justificación	31
1.3 Hipótesis	37
1.4 Objetivos	37
1.4.1 Objetivo General	37
1.4.2 Objetivos Específicos	37
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	40
2.1 La epidemiología de las infecciones fúngicas en neonatos producidas por especies de <i>Cándida</i> y otros hongos levaduriformes	40
2.2 Diagnóstico clínico y microbiológico de especies de <i>Cándida</i> y de otros hongos levaduriformes	59
2.3 Prevención y Tratamiento: aspectos relevantes del manejo y terapias indicadas	69
CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO	90
3.1 Diseño de investigación y tipo de estudio	90
3.2 Población o Universo	91
3.3 Variables	92
3.4 Instrumentos y técnicas de recolección de datos y/o materiales	97
3.5 Procedimientos	98
CAPÍTULO IV: ANÁLISIS Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS	102
CONCLUSIONES	137
LIMITACIONES Y RECOMENDACIONES DE LA INVESTIGACION	139
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS E INFOGRAFIA	142
ANEXOS	153
ÍNDICE DE TABLAS	170

INDICE DE GRÁFICAS	171
ÍNDICE DE FIGURAS	172
INDICE DE CUADRO	173

INTRODUCCIÓN

La fungemia se define como la presencia de hongos en la sangre y por lo general ocurre en personas inmunocomprometidos. El tipo más común es producido por especies del género *Candida*, y es conocida como candidemia. La incidencia de infecciones micóticas constituye entre el 8 al 15% de todas las infecciones del torrente sanguíneo (Pouymiró *et al.*, 2011). Las especies de *Cándida* son el cuarto patógeno más aislado, con una alta mortalidad y costos hospitalarios. El diagnóstico depende de los cultivos, además del tratamiento temprano es decisivo para disminuir la mortalidad registrada entre 25 a 50% (Solís-Ayala *et al.*, 2014).

En las unidades de cuidados intensivos de neonatología (UCIN), los recién nacidos pretérmino pueden contraer infecciones micóticas con una alta morbilidad y mortalidad, así como también de frecuentes alteraciones del neurodesarrollo en los sobrevivientes. La fungemia neonatal es de difícil diagnóstico, dado el carácter transitorio de la candidemia y la dificultad para eliminarla por su rápida invasión de órganos y sistemas anatómicos. La mejor opción para disminuir la incidencia de la enfermedad, es prevenirla (Pouymiró *et al.*, 2011). La incidencia de candidiasis neonatal se elevó rápidamente entre 1980 y 1990, con la mejora en la supervivencia de infantes con bajo peso y el incremento del uso de catéter venoso central. Sin embargo, la identificación de infantes con candidemia es un desafío, ya que típicamente los infantes tienen síntomas no específicos y las capacidades diagnósticas son limitadas (Kelly *et al.*, 2015).

Los principales factores de riesgo de infección identificadas son: uso de catéter venoso central, nutrición parenteral, tratamiento con antibiótico de amplio espectro, cirugía, quemaduras, insuficiencia renal, ventilación mecánica, infección fúngica previa y la colonización previa con *Cándida* spp. Los pacientes críticos con alto riesgo de infección fúngica tienen tres o más factores de riesgos asociados (Solís-Ayala *et al.*, 2014).

En el Hospital del Niño Dr. José Renán Esquivel (HDN.DrJRE) cerca del 8% de todas las infecciones del torrente sanguíneo fueron producidas por especies de *Cándida* (Nieto *et al.*, 2012). Las especies *C. albicans* y *C. parapsilosis* son los patógenos fúngicos más frecuentes en la UCIN (Nieto *et al.*, 2014; Stockmann *et al.*, 2014). Las especies de *Cándida* no albicans (CNA) fueron más frecuentes en pacientes neutropénicos y una tendencia ha sido observada en pacientes recibiendo terapia con azoles (Fortun *et al.*, 2012).

La tasa general de infecciones asociadas a atención en salud (IAAS) en el HDN.DrJRE alcanzan 6.7%, mientras que en la UCIN alcanza 19.6%. La fungemia es un evento particularmente frecuente en la UCIN, con una tasa de mortalidad del 67% según los estudios revisados (Rueda *et al.*, 2010). La candidemia es una de las más frecuentes IAAS en nuestro hospital, la tercera causa de infecciones del torrente sanguíneo en la UCIN. En los últimos años la incidencia de candidemia en el escenario global ha disminuido. Sin embargo, en el HDN.DrJRE se mantiene un porcentaje importante de neonatos con infecciones por *Cándida* spp. durante su hospitalización (Caparó *et al.*, 2019).

En base a la evidencia recopilada en el HDN.DrJRE *Cándida* spp es la causa más común de infección del torrente sanguíneo de origen fúngica (Nieto *et al.* 2010, Nieto *et al.*, 2014). De este hecho surge la necesidad de conocer cuál es la tasa de incidencia de candidemia en el HDN.DrJRE y su comportamiento en los últimos años. No es sorprendente por lo tanto que surja la necesidad de encontrar la evidencia que explique y aclare este fenómeno en nuestra institución.

El análisis del informe de vigilancia epidemiológica de IAAS del HDN.DrJRE del año 2014, revela que existe un incremento importante de defunciones asociadas a infecciones con respecto al año 2013, siendo el grupo más afectado los menores de 1 a 11 meses de vida. Esto nos indica que las IAAS en el HDN.DrJRE es un problema que podría estar incrementando cada año si no se toman medidas al respecto (Informe epidemiológico de IAAS del HDN.DrJRE).

Los antecedentes planteados obligan en determinar si existen cambios epidemiológicos y microbiológicos en los casos de fungemias durante los últimos años en el HDN.DrJRE. Por esta razón, se ha propuesto un estudio transversal descriptivo para determinar las características clínicas, microbiológicas y epidemiológicas de las fungemias en pacientes pediátricas hospitalizados en el periodo 2014 al 2016. Este diseño metodológico permitió analizar la relación que existe entre la fungemia y los factores de riesgo como: vía de nacimiento, peso al nacer, edad gestacional, tiempo de estadía en la UCIN, ventilación mecánica, presencia de catéter venoso central, administración de nutrición parenteral, terapia antifúngica, tipo de antifúngico, cirugía abdominal y terapia con antibióticos de amplio espectro, género y especie de *Candida* y patrones de resistencia a los antifúngicos. También, se pudo determinar la actual tasa de incidencia y mortalidad asociada a fungemias. Además, se ha realizado un análisis inferencial de la media de dos poblaciones con varianzas desiguales, y así determinar si las diferencias encontradas entre las tasas de cada año fueron estadísticamente significativas.

También, se ha realizado la identificación proteómica para cada aislado de levadura. Además, se realizaron pruebas de susceptibilidad antifúngica por el método de epsilometría a las equinocandinas (caspofungina, micafungina y anidulafungina), los azoles (fluconazol y voriconazol) y anfotericina B. Los resultados fueron presentados en tablas de frecuencia, gráficos y antifunjoigramos. Se pudo encontrar que se ha dado un aumento en la tasa de incidencia de fungemia durante el periodo de estudio, sin un aumento significativo en la tasa de mortalidad general. Los factores de riesgo más importante en el desarrollo de fungemia registrados fueron: la estancia hospitalaria prolongada, el bajo peso al nacer, la prematuridad y la administración de antibióticos de amplio espectro. La especie más frecuente fue *C. parapsilosis* sensu stricto, seguido de *C. albicans*. La susceptibilidad a los azoles fue menos del 50% para ambas especies, mientras que para anfotericina B y equinocandinas la susceptibilidad fue mayor del 90%.

CAPÍTULO I

CAPÍTULO I: ASPECTOS GENERALES DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Planteamiento del problema

El periodo perinatal es el tiempo transcurrido entre las 28 semanas de gestación y la primera semana de vida. Mientras que el periodo neonatal es la fase que va desde el nacimiento hasta los primeros 28 días de vida, en esta fase al producto se le conoce como neonato o recién nacido (RN) (García *et al.*, 2016).

El periodo perinatal es de alto riesgo para el feto en gestación, debido a las múltiples oportunidades de exposición a microorganismos virulentos. Los potenciales sitios de exposición son el útero, el canal del parto, la unidad de cuidados neonatal (UCIN), la práctica de procedimientos invasivos y el uso de dispositivos médicos, el personal de salud, los visitantes, los familiares y la comunidad. Todos en conjunto representan un riesgo para el feto en gestación y el neonato en las primeras semanas de vida (OPS/OMS, 2014).

El nacimiento prematuro es el que sucede entre las 28 y 36 semanas de gestación. La prematuridad es la causa más frecuente de morbilidad y mortalidad perinatal y es responsable de 75% de muerte neonatal no vinculada a malformaciones congénitas. La prematuridad alcanza una incidencia en Latinoamérica de 9%. La OPS reporta que cada año suceden en Latinoamérica y el Caribe 12 millones de nacimientos, y 180,000 muertes durante el primer mes de vida. Las principales causas de mortalidad en América Latina son las infecciones (32%), la asfixia (29%) y la prematuridad (24%) (Rodríguez *et al.*, 2013). Los neonatos prematuros están relativamente comprometidos, debido a un sistema inmune deficiente que los predispone a desarrollar infecciones. Factores adicionales como la hospitalización prolongada, la necesidad de procedimientos clínicos invasivos y el uso de dispositivos médicos (como catéteres), la ausencia de alimentación enteral, y el uso de antibióticos de amplio espectro, incrementan el riesgo de infección y sepsis en neonatos vulnerables (Kelly *et al.*, 2015). La prematuridad, es un importante desafío de

salud pública, afecta al 7-14% de los nacimientos en todo el mundo (Simeoni, 2014).

La sepsis es una enfermedad grave y ocurre cuando el cuerpo tiene una respuesta inmunitaria a una infección bacteriana, viral o fúngica en el torrente sanguíneo. Las sustancias químicas liberadas a la sangre para combatir la infección desencadenan una respuesta inflamatoria generalizada, lo que conduce a la formación de coágulos de sangre y la filtración de vasos sanguíneos. En el caso de los neonatos se denomina sepsis neonatal (Pérez *et al.*, 2018).

Dicho esto, se entiende por sepsis neonatal aquella situación clínica derivada de la invasión y proliferación de bacterias, hongos o virus en el torrente sanguíneo del recién nacido (RN), la cual se manifiesta dentro de los primeros 28 días de vida. Los microorganismos patógenos inicialmente contaminan la piel y/o mucosas del RN llegando al torrente circulatorio tras atravesar la barrera mucocutánea. La inmadurez de las defensas del neonato es uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de la infección (Fernández *et al.*, 2016).

El reconocimiento de la sepsis neonatal es complicado, debido a la frecuente presencia de condiciones no infecciosas que se asemejan a la sepsis. Esto ocurre especialmente en infantes prematuros con muy bajo peso al nacer (RNMBPN) y por la ausencia de una prueba diagnóstica óptima. Inclusive, las infecciones invasivas del torrente sanguíneo también pueden ocurrir en neonatos asintomáticos y no siempre es posible aislar el agente etiológico. De manera que, la evaluación de la historia del paciente y de los factores de riesgo en combinación con las pruebas diagnósticas son fundamentales para identificar a los neonatos quienes son más propensos a estar infectados (Shane y Stoll, 2014).

Según el mecanismo de transmisión se describen dos tipos de sepsis neonatal, temprana y tardía. La sepsis neonatal temprana o de transmisión vertical es

causada por gérmenes localizados en el canal genital materno, contaminando al feto por vía ascendente (progresando por el canal del parto hasta alcanzar el líquido amniótico) o por contacto directo con secreciones contaminadas al pasar por el canal del parto; esto ocurre durante las primeras 48 h de estancia hospitalaria. En cambio, en la sepsis neonatal tardía o nosocomial ocurre por microorganismos localizados en la UCIN y que colonizan al neonato a través del personal sanitario (manos contaminadas) y/o por el material de diagnóstico y/o tratamiento contaminado (termómetros, fonendoscopios, sondas, catéteres, electrodos, etc) (Fernández *et al.*, 2016). En el caso de la sepsis neonatal tardía esta ocurre después de las 48 a 72 h de estancia hospitalaria. Alrededor del mundo se estima que la tasa de muerte neonatal es de más de 1.4 millones cada año como consecuencia de las infecciones invasivas (Shane y Stoll, 2014).

Los microorganismos más comunes en la sepsis neonatal temprana son *Streptococcus agalactiae* y *E. coli*, de ahí que la ampicilina y un aminoglucósido es la terapia empírica más utilizada en la UCIN. En el caso de sepsis neonatal tardía en RN con peso menor de 1,500 gramos, los microorganismos Gram positivos son responsables de un 70% de las infecciones. Dentro de los microorganismos Gram positivos los *Staphylococcus coagulasa negativa* (SCN) representan el 50% de todos los casos, seguido de las infecciones por microorganismos Gram negativos y en tercer lugar por las infecciones fúngicas que representan el 10% de todos los casos de sepsis. En el caso de sepsis neonatal en RNMBPN se espera que el 2.5% o 1 de cada 40 evaluaciones por sepsis serán debido a infecciones fúngicas del torrente sanguíneo o fungemia (Berberian, 2014; Kaufman *et al.*, 2004).

La fungemia se define como la presencia de hongos en la sangre. Por lo general, ocurre en personas inmunocomprometidos. El tipo más común es producido por especies del género *Cándida*; y es conocida también como candidemia (Pouymiró *et al.*, 2011). La candidiasis invasiva engloba dos entidades clínicas distintas, la candidemia o invasión del torrente sanguíneo

por *Cándida* y la candidiasis diseminada o infección fúngica invasiva (IFI) multiorgánica (Shane y Stoll, 2014).

Aunque los agentes etiológicos más frecuentes de las IFI continúan siendo *C. albicans* y *Aspergillus fumigatus*, el número de especies capaces de causar infecciones invasoras ha aumentado considerablemente. Así, en los últimos años se ha incrementado el número de patógenos de otras especies de *Cándida*, *Aspergillus*, *Trichosporon*, *Fusarium*, *Scedosporium* y mucorales. Estas infecciones son más difíciles de diagnosticar y tratar, ya que los hongos emergentes son, en general, más resistentes a los antifúngicos disponibles, por lo que se asocian con una mayor mortalidad. Aunque estas IFI por hongos emergentes son infrecuentes, gran parte de su importancia reside en la agresividad de su comportamiento, en el grado de inmunosupresión del huésped o paciente en el que se asientan y en el amplio perfil de resistencia a la mayoría de los antifúngicos disponibles (Vallejo y Ruiz, 2012).

En la UCIN, los RN prematuros pueden contraer infecciones micóticas con una alta morbilidad y mortalidad, así como también frecuentes alteraciones en el neurodesarrollo de los sobrevivientes. Con una tasa de fatalidad entre el 15 a 60% (Al-Taiar *et al.*, 2013). La IFI por *Cándida* spp. en la UCIN, es la tercera causa más común de microorganismos aislados de hemocultivos en neonatos con sepsis neonatal tardía. Se estima que las infecciones por *Cándida* spp. contribuyen con 2.4% en el caso de sepsis neonatal temprana; y 10-12% de los casos de sepsis neonatal tardía (Al-Taiar *et al.*, 2013). Muchos factores han contribuido al reciente incremento de la incidencia de fungemia neonatal como: incremento global de la prematuridad, y los factores de riesgo relacionados a su manejo como intubación endotraqueal prolongada, catéter venoso central, nutrición parenteral, y el uso de antibióticos de amplio espectro (Caparó *et al.*, 2019).

Como se mencionó previamente la candidemia constituye la tercera causa de infección asociada a la atención en salud (IAAS) y la cuarta causa de todas las infecciones (Nieto *et al.*, 2010). La candidemia es el tipo de infección fúngica

más frecuente en pacientes críticos no-neutropénicos con un incremento muy notable en los últimos 20 años. Los infantes con candidiasis invasiva quienes sobreviven frecuentemente tienen a largo término daño neurológico en 57% de los casos, incluyendo parálisis cerebral, ceguera, daño auditivo, déficit cognitivo, y lecuomalacia periventricular (Kaufman, 2004).

Otro aspecto importante que ha despertado una considerable atención como parte del problema es la prevalencia y la importancia clínica de la candidemia persistente. La infección del torrente sanguíneo por especies de *Cándida* spp. contribuyen con un gran número de casos de sepsis neonatal, con una tasa de casos fatales extremadamente alta a pesar de una terapia antifúngica sistémica. Algunos estudios han encontrado que el 60% de las infecciones del torrente sanguíneo en neonatos son persistentes y en la mayoría de los casos los resultados clínicos son pobres (Al-Taiar *et al.*, 2013).

La alta incidencia de infección invasiva por *Cándida* spp. ocurre en infantes prematuros con peso al nacer menor de 1000 g o menos de 27 semanas de gestación (Kaufman y Manzoni, 2010). La mayoría de los casos de IFI en la UCIN son debido a *Candida* spp., y a la vez es la tercera causa más común de sepsis neonatal tardía en neonatos de menos de 1500 g al nacer (Kaur y Chakrabarti, 2017).

La incidencia de candidiasis neonatal se elevó rápidamente entre 1980 y 1990 con la mejora en la sobrevivencia de infantes con bajo peso y el incremento del uso de catéter venoso central. Las infecciones de origen desconocido o relacionada a catéter fue la fuente más frecuente de candidemia, donde *C. albicans* fue el agente más frecuente en infecciones de tracto urinario y abdominal, mientras que *C. parapsilosis* fue asociada con mayor frecuencia a episodios relacionados a catéter (Kelly *et al.*, 2015).

Las especies de CNA, fueron más frecuentes en pacientes neutropénicos y una tendencia ha sido observada en pacientes recibiendo terapia con azoles. Recientes estudios confirman un incremento en el número absoluto de

episodios de candidemia en España durante los últimos 10 años (Lazo *et al.*, 2018). Las infecciones del torrente sanguíneo por especies de CNA tienen una alta mortalidad en las UCI y largas estadías de acuerdo con la severidad del estado del paciente (Fortun *et al.*, 2012). Entre las especies de CNA, la *C. parapsilosis* es reconocida como una importante causa de IFI en la población de pacientes neonatos (Chow *et al.*, 2013).

Se estima que entre el 1.5 y 2.5% de todas las infecciones del torrente sanguíneo en RNBP, se debe a un agente etiológico de origen fúngico, los más comunes son *C. albicans* y *C. parapsilosis* (Shane y Stoll, 2014). Ambos son los patógenos fúngicos más frecuentes en la UCIN. La candidiasis es rara en infantes nacidos a término completo, mientras que la incidencia acumulativa de candidemia es 7% en neonatos prematuros con peso al nacer menor de 1000 g (Stockmann *et al.*, 2014).

En resumen, a nivel mundial, la incidencia global de las infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) varía enormemente de una institución a otra, desde un 3% hasta más de 25%, dependiendo del tipo de clínica u hospital, del número de camas y de especialidades, además del tipo de pacientes atendidos (Hammoud *et al.*, 2013). La incidencia de infecciones micóticas se ha elevado dramáticamente entre la década del 80 al 90 y constituyen entre el 8 al 15% de las infecciones hematógenas. La candidiasis neonatal causa una significativa mortalidad y morbilidad, con una tasa de fatalidad entre 15 a 60% (Hammoud *et al.*, 2013).

Los principales factores de riesgo de infección por *Cándida* identificados son: uso de catéter venoso central, nutrición parenteral total, tratamiento antibiótico, cirugía extensa, quemaduras, insuficiencia renal-hemodiálisis, ventilación mecánica e infección fúngica previa. La cirugía previa, la insuficiencia renal aguda y la nutrición parenteral son los factores de riesgos dominantes de este tipo de infecciones. Sin embargo, la colonización previa con *Cándida* spp. parece ser de particular importancia, debido a que la probabilidad de infección por *Cándida* en ausencia de colonizaciones previas es muy baja. Los pacientes

críticos con alto riesgo de infección fúngica tienen tres o más factores de riesgos asociados (Solís y Ayala *et al.*, 2014).

La prematuridad y el peso al nacer son dos importantes factores de riesgo asociados a las IFI. Los neonatos prematuros tienen una permeabilidad incrementada de su piel y de sus membranas mucosas a organismos exógenos si la comparamos con la de los niños mayores. La inmadurez de los mecanismos inmunológicos de los neonatos con bajo peso incrementa el riesgo de candidiasis sistémica, cuando son colonizados durante la primera semana de vida (van Asbeck *et al.*, 2007). El uso de dispositivos médicos como el catéter venoso central (CVC) aumenta el riesgo de adquirir una infección fúngica si lo comparamos con aquellos neonatos que no usan catéter

La estancia hospitalaria y el personal de salud también juegan un rol importante como factores de riesgo en la transmisión horizontal fúngica, y subsecuente desarrollo de las IFI en neonatos. Gran parte de los agentes infecciosos asociados a sepsis neonatal tardía, proceden de los ambientes hospitalarios nosocomios. Por ejemplo, estudios previos indican que *C. parapsilosis* es una causa frecuente de brotes infecciosos en neonatos desde fuentes comunes (Nieto *et al.*, 2014). Sin embargo, la posible fuente y ruta de transmisión de *C. parapsilosis* no siempre es fácil de identificar, y en algunas instancias la epidemiología de la infección por *C. parapsilosis* permanece obscura (Kaufman, 2010).

Si *C. parapsilosis* es la primera causa de candidemia en HDN.DrJRE, fuentes ambientales podrían estar involucradas o actuando como reservorios, conociendo que la colonización durante el parto es por *C. albicans* y no por *C. parapsilosis*. Los autores especulan que la transmisión horizontal de este organismo ocurre subsecuentemente de un caso a otro por la interacción directa entre los trabajadores de salud y los infantes. Fuentes ambientales como el uso de algodón no estéril, hacinamiento en la UCIN, bolsas plásticas para el transporte de medicamentos intravenosos, pudieran jugar un rol vital en la transmisión de la infección (Juyal *et al.*, 2015). Están los funcionarios

involucrados en los mecanismos de transmisión, se podría especular, pero se requieren estudios para tener certeza sobre estas consideraciones. Algunos autores indican que la mejor opción para disminuir la incidencia de la enfermedad, es prevenirla evitando la colonización temprana (Pouymiró *et al.*, 2011).

La candidiasis neonatal es de difícil diagnóstico, dado al carácter transitorio de la candidemia y la dificultad para eliminarla por su rápida invasión de órganos y sistemas anatómicos (Hammoud *et al.*, 2013). Sin lugar a duda, su detección y tratamiento temprano es decisivo para disminuir la mortalidad registrada entre 25 a 50% (Solís-Ayala *et al.*, 2014).

Sin embargo, la identificación de infantes con candidemia es un desafío, ya que típicamente los infantes tienen síntomas no específicos y las capacidades diagnósticas son limitadas (Kelly *et al.*, 2015). El diagnóstico definitivo de una fungemia requiere del aislamiento del microorganismo de la sangre u otro sitio normalmente estéril (Nieto *et al.*, 2014).

El diagnóstico clínico y de laboratorio de las fungemias es complicado. Los hemocultivos permanecen como el estándar de oro para el diagnóstico de candidiasis neonatal. Sin embargo, los estudios de autopsia sugieren que la sensibilidad de los cultivos de sangre es menos del 50% aun cuando el volumen de sangre sea óptimo (Kelly *et al.*, 2015). El examen de hemocultivo es el único recurso con que cuenta el HDN.DrJRE para el diagnóstico de candidemia. Recientes reportes de control de calidad de la prueba de hemocultivo indican que el 87% de todos los hemocultivos enviados al Laboratorio Clínico tienen volumen inadecuado. Adicionalmente, cerca del 30% de todos los hemocultivos que son recibidos en el laboratorio proceden de la sala de la UCIN y alrededor del 78% tienen volumen inadecuado (Inf. de Calidad de Hemocultivo, Lab. Clín. HDN.DrJRE). Si se considera el hecho que la sensibilidad de los hemocultivos (con volúmenes adecuados) para detectar cepas de *Cándida* es menos del 50% y los datos de calidad, se podría sugerir

que la tasa de incidencia de candidemia puede ser mayor de lo reportado actualmente.

Actualmente, existen diversos métodos de identificación de especies de *Cándida* asociadas a infecciones fúngicas. El uso de métodos fenotípicos para la identificación de *Cándida* spp. presenta limitaciones para discriminar entre una especie y otra. Errores en la identificación fenotípica conducen al reporte de especies de *Cándida* inexistente, afectando la frecuencia de aislamiento (Hata *et al.*, 2007; Nieto *et al.*, 2015). El uso de métodos moleculares y proteómicos es fundamental, porque permite la oportunidad de distinguir cepas específicas entre las especies de *Cándida*, sobre todo cuando se trata de especies poco comunes o especies crípticas (Ramos *et al.*, 2018).

La completa identificación de las especies de *Cándida*, sólo es posible utilizando pruebas moleculares y proteómicos. Es conveniente mencionar que los métodos fenotípicos no están programados aun para identificar nuevas especies de *Cándida* como: *C. pseudorugosa*, *C. rugosa*, *C. tunisiensis*, *C. neorugosa*, *C. auris*, *C. africana*, *C. bracarensis* y *C. mengyuniae*, las cuales han sido asociadas a fungemia nosocomial y algunas con resistencia a distintos antifúngicos. La adecuada identificación de las especies previamente citadas sólo fue posible con el uso de herramientas moleculares (Eddouzi *et al.*, 2013, Paredes *et al.*, 2012, Pfaller *et al.*, 2006, Taverna *et al.*, 2012, Warren *et al.*, 2010). Los métodos de tipificación molecular han sido aplicados para delinear la identidad genética de cepas comunes en pacientes infectados y permiten adecuar la discriminación entre las especies de *Candida*, para ayudar a la investigación epidemiológica de las IAAS (van Asbeck *et al.*, 2007).

Cuando el peso de la decisión para iniciar la terapia empírica por *Cándida* spp., recae sobre el médico tratante, muchos factores de riesgo deben ser considerados. Estudios para evaluar la seguridad y eficacia del uso empírico de antifúngicos son necesarios. Ningún agente antifúngico ha sido aprobado para el uso en neonatos por la US Food and Drug Administration (FDA) (Stockmann *et al.*, 2014). No obstante, el retraso en iniciar una terapia

antifúngica apropiada está asociado con un incremento en la mortalidad de la candidiasis invasiva (Kelly *et al.*, 2015).

Se debe considerar que el incremento del uso de fluconazol ha sido significativamente asociado con un incremento de la candidemia causada por especies de CNA, mientras que el incremento del uso de equinocandinas y voriconazol ha sido asociado con una disminución de la incidencia de *C. parapsilosis* (Fortun *et al.*, 2012). Este hallazgo sugiere que evitando el uso de fluconazol se puede ayudar a disminuir la incidencia de candidemia causada por especies de CNA (Cheng *et al.*, 2012). Un fenómeno semejante ha ocurrido en el HDN.DrJRE, donde *C. parapsilosis* es la principal causa de candidemia en neonatos (Nieto *et al.*, 2014).

La incidencia de candidemia persistente reportada en algunos países es de 52%, mientras que Estados Unidos de América (EEUU) solo el 24% fueron reportadas como infecciones persistentes (Hammoud *et al.*, 2013). Aunque la candidemia persistente pudiera indicar tratamiento fallido, es conocido que el aclaramiento de las especies de *Cándida* del torrente sanguíneo toma algún tiempo a pesar de que el tratamiento sea efectivo. Por esta razón, es importante definir si un hemocultivo positivo repetidamente es parte de la historia natural de la candidemia en un paciente que está respondiendo al tratamiento o si representa falla terapéutica. Ha sido sugerido que la resistencia intrínseca a drogas es rara, lo que lleva a considerar que, la falla terapéutica no juega un rol importante en la candidemia persistente. Las infecciones bacterianas en la cual el hemocultivo persiste positivo después de iniciada la terapia antimicrobiana, es indicativa de un resultado clínico desfavorable. En el caso de *Cándida* spp., le toma un tiempo aclararse del torrente sanguíneo. Es incierto saber si la persistencia de la candidemia representa falla del tratamiento, dando como resultado un pobre resultado clínico o es parte de la historia natural de la candidemia en un paciente respondiendo al tratamiento (Hammoud *et al.*, 2013).

Las tasas de infección varían por región geográfica, por los recursos disponibles, por factores de riesgo de la madre y del infante (Shane y Stoll, 2014). La estimación exacta de los casos de candidemia no es posible en los países en vías de desarrollo, donde no existe estudios de vigilancia sistemática. Los datos existentes están basados en poblaciones que proceden de los países desarrollados, y la mayoría de estos datos proceden de hospitales o grupos específicos de pacientes. La incidencia mundial de candidemia se estima entre 2 a 14 casos/100,000 habitantes y de 6.87/1000 pacientes hospitalizados en unidades de cuidados intensivos (UCI). Se estima que la incidencia global de candidemia ha incrementado 5 veces más en los últimos 10 años. Las tasas de candidemia registran un aumento de entre 4 a 15 veces más, si se compara con las registradas en los países desarrollados (Kaur y Chakrabarti, 2017).

La incidencia reportada en países en vías de desarrollo está entre 0.026 a 4.2 casos de candidemia/1000 admisiones (Incluye Asia 0.026-4.2; América Latina 1.01-2.63; Sur África 0.28-0.36; Emiratos Árabes Unidos 0.77). Mientras que, en los países desarrollados se reporta una incidencia en el rango de 0.03 a 1.87 casos/1000 admisiones (Incluye Estados Unidos 0.03; Europa 0.321.19; Australia 2.41; Reino Unido 1.87). La incidencia de candidemia en las salas de UCIN es excepcionalmente alta en los países en vías de desarrollo (4.2 caso/1000 admisiones) comparado a los países desarrollados que registran rango de 0.043-0.47 casos/1000 admisiones. La tasa de mortalidad en los países desarrollados es menor al 50%, mientras que en los países en vías de desarrolla supera el 50% (Kaur y Chakrabarti, 2017).

En Dinamarca, la tasa anual de incidencia por candidemia fue de 7.6 a 11.0 episodios/100,000 habitantes para el año 2004, lo cual resultó alto si se compara con la tasa anual de 3.9 a 4.4 episodios/100,000 habitantes registrada en otras ciudades Escandinavas vecinas. Otros países como Australia reportaron una tasa de 2.4 episodios anuales, mientras que en Escocia la tasa anual es de 4.1 episodios/100,000 habitantes (Weitkamp *et al.*, 2008).

Un estudio realizado en EEUU entre los años 1996 y 2007. incluyó más de 100,000 infantes prematuros que fueron admitidos en UCIN. En este estudio, se encontró una incidencia de 6.3 episodios de sepsis de aparición temprana (SAT)/1000 admisiones; con 59.4% causada por organismos Gram positivos, 30.7% por organismos Gram negativos y 7.7% por levaduras (Ramasethu, 2017).

En Atlanta y Baltimore en EEUU, entre el año 2008 y 2011 la tasa anual de incidencia de candidemia reportada fue más alta que la encontrada en Dinamarca, 13.3 y 26.2 /100,000 habitantes, respectivamente (Lausch *et al.*, 2018). En el Monroe Carell jr. Children's Hospital en Nashville, Tennessee (EEUU), se reportó entre el 2004 y 2005 una incidencia de infección invasiva por *Cándida* de 10% en RNBPN, con una incidencia de candidemia de 6.8%. Todos los RNEBPN tenían una edad gestacional menor de 26 semanas y un peso al nacer menor de 750 g (Weitkamp *et al.*, 2008).

En un centro médico en la ciudad de Detroit (EEUU), se condujo un estudio retrospectivo que incluyó todos los pacientes con infección fúngica invasiva que fueron admitidos en la UCIN desde enero de 2000 a diciembre de 2011. La incidencia de infección fúngica invasiva en la UCIN fue de 9.87/1000 admisiones por año (con un rango 2.7-20.2). El 95.2% de los pacientes con infección fúngica fue producida por especies de *Cándida*, de los cuales la mayoría tenían infección del torrente sanguíneo. Se observó, que *C. albicans* contabilizó el 48% del total de los aislados seguido de *C. parapsilosis* con 38%. Más del 52% de los aislados fueron especies de CNA. Más de un tercio de los pacientes tenía uno o más órganos comprometidos como resultado de la infección del torrente sanguíneo. En este estudio, más del 80% de los neonatos con menos de 1500 g de peso al nacer tenían infección del torrente sanguíneo (Agarwal *et al.*, 2017).

Otro estudio realizado en México, con un diseño de cohorte retrospectivo llevado entre 1997-2010, encontró durante el periodo de 4 años que la incidencia anual de candidiasis invasiva disminuyó de 3.6/1000 infantes a 1.4.

Gran parte de la disminución se encontró en infantes con peso menor de 750 g y con peso entre 750-999 g. También se encontró un aumento del uso de fluconazol profiláctico en neonatos con peso al nacer de menos de 750 g y una disminución del uso de antibióticos de amplio espectro (Aliaga *et al.*, 2018).

La Red Latinoamericana de Enfermedades Fúngicas Invasoras, realizó un estudio de vigilancia entre noviembre de 2008 y octubre de 2010, con el objetivo de conocer la epidemiología de las candidemia en Latinoamérica. Se registraron 302 episodios de candidemia en pacientes con menos de 18 años, 29% de los cuales eran recién nacidos (<28 días). La incidencia de candidemia en niños fue de 0.81/1000 admisiones. Las principales especies aisladas fueron *C. albicans* (43.8%), *C. parapsilosis* (27%) y *C. tropicalis* (14.6%). Se aisló con baja frecuencia *C. guilliermondii* (4.5%), *C. krusei* (4.5%) y *C. glabrata* (3.4%). En Chile en el Hospital Luis Calvo Mackenna, se registró una incidencia de candidemia de 0.56 episodios/1000 admisiones. Donde *C. albicans* representa 44.8% y *C. parapsilosis* 31% de los aislados de *Candida* spp. (Izquierdo y Santoloya, 2014).

Un estudio dirigido en Perú, con el objetivo de describir las características clínicas y epidemiológicas de la candidemia en un hospital de tercer nivel durante los años 2011-2014. Luego de la revisión de las historias clínicas de los pacientes que tuvieran al menos un hemocultivo positivo para *Cándida* spp. Las características evaluadas fueron la edad, sexo, servicio de procedencia, alteración del sistema inmune, colonización previa por hongos, neoplasia, insuficiencia renal crónica, diabetes, uso de corticoides, uso de dispositivo invasivo, exposición a antibióticos de amplio espectro, ventilación mecánica, hemodiálisis, nutrición parenteral total, sepsis grave, cirugía previa, y días de estancia hospitalaria. Los resultados encontrados fueron los siguientes 71 pacientes presentaron candidemia. Los servicios con mayor cantidad de pacientes infectados fueron la UCI 17 (23.94%) y medicina interna 17 (23.94%). Las especies aisladas fueron *C. albicans* 33 (46.48%), *C. parapsilosis* 16 (22.54%), *C. glabrata* 9 (12.68%), *C. tropicalis* 8 (11.27%), *C. guilliermondii* 4 (5.63%), y *C. krusei* 1 (1.41%). Las características más

frecuentes de estos pacientes fue el uso de dispositivo invasivo (88.73%) y la exposición a antibióticos de amplio espectro (83.1%) (Moreno y Moreno, 2017).

En un hospital de Costa Rica se analizaron 210 episodios distintos de candidemia. Por año ocurrieron en promedio 42 episodios distintos de candidemia, para una incidencia acumulada de 1.47 casos/1000 pacientes egresados. Se observó un incremento significativo de la incidencia a partir del año 2010 ($p < 0,0001$), cuando el riesgo de padecer una candidemia aumentó en 2.15 veces (IC 95% 1.63 a 2.82). Este cambio en la incidencia de candidemia se debió principalmente a un mayor número de casos de infección por *C. parapsilosis* y *C. albicans*. El riesgo de enfermar por estas especies incrementó en 2.76 veces (IC 95% 1.79 a 4.25) y 2.4 veces (IC 95% 1.53 a 3.77), respectivamente. *C. parapsilosis* fue la especie más frecuentemente documentada (42%), seguida por *C. albicans* (38%), *C. tropicalis* (10%) y *C. glabrata* (7%). *C. parapsilosis* fue la especie más frecuente en 4 de los 5 años de estudio. La excepción ocurrió en el 2009, donde la frecuencia de *C. parapsilopsis* disminuyó y fue desplazada por *C. albicans*. Agrupadas todas las especies de CNA, constituyeron el 62% de las causantes de candidemia. El rango de edad fue 18-89 años. No existió diferencia estadísticamente significativa entre la edad promedio de los pacientes y la especie involucrada. Este estudio muestra las características epidemiológicas y clínicas más sobresalientes de la candidemia en un hospital de referencia de Costa Rica. La tasa de candidemia en este hospital, estaba dentro del rango reportado en la literatura médica (0.17 a 3.7 casos/1.000 ingresos) (Villalobos *et al.*, 2015).

En 2012, se notificó un brote hospitalario de *C. auris* en Venezuela, el primero notificado en la Región de las Américas. La incidencia y prevalencia real de este patógeno no está bien establecida, debido a que los métodos de detección que se utilizan de forma rutinaria identifican a la *C. auris* como parte del complejo *C. haemulonii*, con quién está filogenéticamente relacionada, o la identifican como otras levaduras de aislamiento frecuente. Por lo que se piensa que *C. auris* puede ser una causa más frecuente de candidemia de lo que originalmente se consideró (OPS).

Los casos notificados de *C. auris* se presentaron en pacientes con estancia prolongada en los centros hospitalarios, particularmente en las UCI neonatales y de adultos. Gran parte de estos pacientes habían recibido antibioticoterapia de amplio espectro, eran portadores de catéteres intravenosos y habían sido sometidos a ventilación mecánica. La mayoría de los aislamientos se han realizado en sangre, aunque también hay reportes de *C. auris* en otras muestras biológicas como orina y en lavado broncoalveolar. Se desconoce el mecanismo de transmisión. Debido a los problemas de identificación de la *C. auris* con los métodos comerciales su caracterización se realiza por secuenciación o métodos proteómicos (OPS).

El brote en Venezuela de *C. auris* se registró de marzo de 2012 a julio de 2013, en la UCI de un centro hospitalario de tercer nivel en Maracaibo y afectó a 18 pacientes, 13 de los cuales eran pediátricos. La tasa de letalidad fue del 28%. Cabe destacar que inicialmente todos los aislamientos se identificaron como *C. haemulonii*. En cuanto a la sensibilidad de las cepas, la totalidad de los aislamientos presentaron resistencia a fluconazol y voriconazol. Adicionalmente, la mitad de los aislamientos presentaron concentración inhibitoria mínima (CIM) elevada a la anfotericina B (OPS).

En Colombia se notificaron casos de infección por *C. auris* de forma aislada en varias ciudades (Ciudad de Santa Marta, Bogotá y Valledupar) desde el 2013. Posteriormente en la ciudad de Barranquilla se notificaron 27 aislamientos entre los años 2015-2016. En el mes de agosto de 2016, se notificó un brote en el distrito de Cartagena, en una UCIN pediátrica. Se identificaron 5 casos de infección diseminada de *C. auris*. Inicialmente los cinco aislamientos se habían identificado como *C. albicans*, *C. guillermondii* y *Rhodotorula rubra*, pero tras la realización de MALDI-TOF se confirmó que se trataba de *C. auris*. Todos los casos confirmados presentaron como factor de riesgo el uso de CVC, ventilación mecánica o catéter urinario. En cuanto al antifunjoگرامa, los aislados fueron sensibles a fluconazol y resistentes a anfotericina B. También,

se presentaron 3 casos confirmados *C. auris* en de Hospital Santo Tomas, Ciudad de Panamá (OPS).

En el HDN.DrJRE (Panamá) durante el año 2014 egresaron un total de 14,254 pacientes de las diferentes salas de hospitalización, y se observó que durante este periodo se presentaron 989 episodios de infecciones intrahospitalarias (IIH) en 829 pacientes en salas de hospitalización. La tasa global promedio de IIH fue de 6.71% con un rango entre 0.7% a 19.73%. La estratificación de tasas de IIH por sala de hospitalización, demostró diferencias significativas con cifras de 1.4 a 5% en salas de medicina, mientras que en las salas críticas como la UCIN, unidad de quemados y unidad de terapia intensiva (UTI), las tasas alcanzaron cifras de 19.7%, 19.6% y 14.0%, respectivamente. Cuando se realizó el análisis por grupo de edades se encontró que el grupo etario más afectado correspondió a los menores de 1 mes, seguido por los menores de 1 a 11 meses, doden ambos grupos estaban hospitalizados en la UCIN (HDN.DrJRE 2014).).

Las defunciones por IAAS representó el 13.5% de todas las defunciones, siendo las causas más frecuentes la letalidad por sepsis (bacteriemias y fungemias). La tasa de letalidad general durante el 2014 fue de 7.9%, mientras que en la sala la UCIN alcanzo un 12.8%. Al comparar estas tasas con las tasas obtenidas en el año 2013 se pudo observar un incremento importante de defunciones asociadas a infecciones, siendo el grupo más afectado los menores de 1 mes a 11 meses de vida (HDN.DrJRE 2014).

Las infecciones del torrente sanguíneo representan el 45.8% de IAAS, seguido de infecciones respiratorias, infecciones de vías urinarias, piel y heridas quirúrgicas. En el HDN.DrJRE se aislaron un total de 641 gérmenes de los diferentes focos de infección, de los cuales el 46% correspondían a Bacilos Gram negativos, 30% a Cocos Gram positivos y en tercer lugar los hongos con 15% de todos los aislamientos (HDN.DrJRE, 2014). Cerca del 8% de todas las infecciones del torrente sanguíneo de pacientes hospitalizados en el

HDN.DrJRE fueron producidas por especies de *Candida*, ubicándose como la segunda causa de infección después de las enterobacterias (Nieto *et al.*, 2012).

Pocos trabajos han sido realizados en el HDN.DrJRE en Panamá referente a las infecciones por *Candida*. Uno de los primeros trabajos que se puede mencionar, fue el realizado en el 2006, donde se encontró que *C. albicans*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* fueron las especies más aisladas procedentes de distintas fuentes corporales. Se encontró una resistencia a fluconazol de hasta 37.5% en algunas especies usando el método de ATB-Fungus (Cisternas, 2006). Otro estudio realizado en el año 2006 utilizó la caspofungina para el tratamiento de candidemia con el propósito de evaluar su eficacia y tolerabilidad en pacientes neonatos obteniendo resultados favorables (Sáez-Llorens *et al.*, 2009).

Un estudio para medir el impacto de la profilaxis de fluconazol en la reducción de la candidiasis neonatal fue realizado en el HDN.DrJRE entre el año 2007 al 2009 en neonatos con peso menor de 1250 g. En el año 2007, 9.7% de los neonatos con peso de 1250 g en la UCIN desarrollaron sepsis por *Candida* con una mortalidad del 47%. Seiscientos sesenta y cinco (665) neonatos fueron incluidos en el estudio, distribuido de la siguiente manera; 334 en el grupo control y 252 en el grupo experimental. Las especies de *Candida* aisladas (n=21) en los pacientes que no recibieron fluconazol profiláctico fueron *C. albicans* (43%), *C. parapsilopsis* (43%), *C. tropicalis* (9%), *C. famata* (2%). Mientras que en los pacientes recibiendo fluconazol fueron (n=3) *C. parapsilopsis*, *C. famata* y *C. albicans*. En conclusión, la profilaxis con fluconazol disminuyó la frecuencia de infección por *Candida* de 7.7 a 1.2%. El 50% de los pacientes con infección por *Candida* desarrollaron bolas fúngicas renales y la mortalidad fue del 67% (Rueda *et al.*, 2010).

Otro estudio realizado en el HDN DRJRE, evaluó la distribución y susceptibilidad antifúngica de especies de *Candida* aisladas de hemocultivos entre 2009 al 2010. Se evaluaron 55 cepas, la distribución final fue la siguiente: complejo *C. parapsilosis* (40%), *C. tropicalis* (29.1%), *C. albicans* (20%), *C.*

guilliermondii (3.64%), *Sporobolomyces salmonicolor* (1.81%), *Saccharomyces cerevisiae* (1.81%), y el complejo *C. haemulonii* (3.64%). Las especies del complejo *C. parapsilosis* presentaron 77.3% de resistencia a caspofungina y 4.3% a itraconazol. *C. tropicalis* presentó 6.3% de resistencia a caspofungina y a itraconazol, mientras que *C. albicans* resultó con 18.2% de resistencia a caspofungina y anfotericina B, y 9.1% de resistencia a fluconazol, itraconazol y voriconazol. Algunas cepas de *C. albicans* fueron resistentes a varios antifúngicos. No se encontraron cepas con resistencia a posaconazol (Nieto *et al.*, 2014).

En cuanto a los métodos usados en laboratorio clínico del HDN.DrJRE para la identificación de especies de *Cándida*, se comparó la utilidad del sistema Vitek2 vs el método de PCR fingerprinter. Con el Vitek2 el 16.4% (9/55) de los aislados fueron mal identificados como *C. famata*, y 41.7% (23/55) presentaron bajo poder de discriminación entre *C. famata* y *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* o *C. tropicalis*. Se concluyó que los métodos fenotípicos amplían el enfoque de identificación, pero pueden verse limitados en especies menos comunes. Además, se requiere el uso de métodos complementarios para optimizar los resultados. El método de PCR fingerprinter logro identificar sólo el 78% de los aislados clínicos (Nieto *et al.*, 2015).

Sin ignorar la reciente aparición de *C. auris* como patógeno emergente en Pakistán en el año 2015. Que dio como resultado una alerta sanitaria emitida por la OMS debido a su dispersión global.

1.1.1 Problema de investigación

Los antecedentes planteados nos obligan a formular la siguiente pregunta: ¿Cuáles son los cambios epidemiológicos y microbiológicos de las fungemias durante los últimos años en el HDN.DrJRE?

1.2 Justificación

Las IAAS se definen como una condición localizada o sistémica que resulta como una reacción adversa a la presencia de un agente infeccioso o su toxina y que afecta a un paciente durante el proceso de atención en una instalación de salud y que no estaba presente ni incubándose al ingreso. La tasa general de IAAS en el HDN.DrJRE alcanzan 6.7%, mientras que en la UCIN alcanza 19.6%. La fungemia es un evento particularmente frecuente en la UCIN, con una tasa de mortalidad del 67% según los estudios revisados.

Enmarcado en este concepto la candidemia es una de las más frecuentes IAAS en el hospital, la tercera causa de infecciones del torrente sanguíneo en la UCIN. En los últimos años la incidencia de candidemia en el escenario global ha disminuido. Sin embargo, en el HDN.DrJRE se mantiene un porcentaje importante de neonatos con infecciones por *Candida* spp., durante su hospitalización. De este hecho, surge la necesidad de conocer cuál es la tasa de incidencia de candidemia en el HDN.DrJRE y su comportamiento en los últimos años. Por lo tanto, no es sorprendente que surja la necesidad de encontrar la evidencia que explique y aclare este fenómeno en nuestra institución.

El análisis del informe de vigilancia epidemiológica de IAAS del HDN.DrJRE (2014), revela que existe un incremento importante de defunciones asociadas a infecciones con respecto al año 2013, siendo el grupo más afectado los menores de 1 a 11 meses de vida. Esto nos indica que las IAAS en el HDN.DrJRE es un problema que podría estar incrementando cada año si no se toman medidas al respecto. Además, que el pronóstico de infantes con candidiasis invasiva permanece bajo con una mortalidad entre el 40 a 50%.

La infección del torrente sanguíneo es la forma más común de infección fúngica en la UCIN y la diseminación a otros órganos es muy común en infantes con menos de 32 semanas de gestación. Otro punto interesante, es que la eliminación de las especies de *Cándida* del torrente sanguíneo es baja en

RNMPN y en infantes con infección *C. albicans*, según los descritos por Argwal y sus col. (2016). En base a la evidencia recopilada en el HDN.DrJRE *Cándida* spp., es la causa más común de infección del torrente sanguíneo de origen fúngica afectando en la mayoría de los casos a pacientes de la sala de neonatología (Nieto *et al.*, 2010; Nieto *et al.*, 2014). Esto sugiere que los médicos neonatólogos deberían mantenerse alerta de estas infecciones fúngicas invasivas. A pesar, que Cheng y sus col. (2013). han reportada que las fungemias por especies de CNA es una rara entidad clínica con desenlaces fatales, en el HDN.DrJRE, la mayoría de las candidemias son producidas por especies de CNA.

Considerando los datos señalados previamente y los estudios realizados por Rueda y sus col. (2010), la profilaxis con fluconazol fue establecida como una política de salud en el HDN.DrJRE en neonatos con peso menor de 1250 g. A pesar de esto, se ha observado un aparente aumento de la incidencia de candidiasis en la sala de UCIN en los últimos años. La evidencia indica que las infecciones por *Cándida* spp., es la segunda causa de infección del torrente sanguíneo pese a la aplicación de la profilaxis con fluconazol (Nieto *et al.*, 2012). Resulta necesario conocer a fondo la problemática de lo que está ocurriendo, razón por la cual se requiere más estudios sobre este tema.

El retraso en el inicio de una terapia antifúngica apropiada está asociado con incremento de la mortalidad de candidiasis invasiva. Sin embargo, la identificación de un infante con candidiasis es un desafío, ya que los infantes tienen síntomas inespecíficos y las capacidades diagnósticas son limitadas (Kelly *et al.*,2015).

Si las infecciones por *Cándida* son una grave complicación en los pacientes neonatos con diagnóstico a menudo tardío. Conocer las características epidemiológicas, clínicas y microbiológicas de los neonatos con fungemia, podría ayudar a prevenir o retrasar la infección por *Cándida* spp., y disminuir de esta forma la morbimortalidad neonatal. Esto sería de gran beneficio para

cientos de pacientes neonatos pretérmino que son admitidos en la sala de UCIN.

Como hemos mencionado previamente la candidiasis invasiva tiene una mortalidad de 30-40% la cual resulta alta si la comparamos con otras infecciones como las infecciones por virus respiratorios. Sin dejar de mencionar que la candidiasis invasiva está asociada con afectaciones en el neurodesarrollo de los sobrevivientes. El 73% de los RNMPN (<1,000 g) mueren o tienen discapacidad en el neurodesarrollo a los 18-22 meses de edad ajustada. También, están más propensos a tener moderada a severa parálisis cerebral (13.6 vs. 5.8%), además de ceguera y pérdida auditiva (8.1 vs. 1.9%) que infantes no infectados, según el reporte de Hsieh y col. (2012) La reducción de secuelas como la invasión de ojos que puede causar ceguera, meningitis y absceso cerebrales que pueden causar daño neurológico irreversible, abscesos renales que pueden causar falla renal, y endocarditis que amerita intervención quirúrgica y tratamiento prolongado, son elementos que se deben considerar para justificar la realización de este trabajo. En la medida que se puedan identificar los puntos débiles y desarrollar estrategias de prevención.

La reducción en los costos de tratamientos, exámenes de gabinete, consultas y días de hospitalización producto de la disminución en la incidencia de candidemia, conducirá a un ahorro de dinero en gastos hospitalización y tratamiento. Este conocimiento será de gran utilidad para desarrollar medidas preventivas racionales y nuevas estrategia terapéuticas basadas en evidencia científicas comprobable.

Otro aspecto importante, es aplicación de nuevas herramientas diagnósticas que se desean implementar en este estudio para la identificación de las especies de Cándida. El uso del método proteómico podría facilitar el diagnóstico microbiológico, esclareciendo las dudas existentes en trabajos previos realizados en el hospital en cuanto a la identidad de muchos de los microorganismos que han sido identificado por métodos fenotípicos. Errores en la identificación de aislados clínicos de Cándida conducen al reporte de agentes inexistentes contribuyendo de esta forma a sub o sobrestimar la

frecuencia de aislamiento de las distintas especies de *Cándida* (Nieto *et al.*, 2015). También, es importante mencionar que la identificación de especies de *candida* usando métodos fenotípicos puede tomar de 24 a 48 horas, el método proteómico logra realizar la identificación en la mayoría de los casos en 30 segundos. La rápida identificación tendría un gran impacto en la terapia y pronóstico de estos pacientes (Kathuria *et al.*, 2015).

Errores de identificación podrían conducir a errores de tratamiento por los médicos tratante, sobre todo en los casos cuando se reportan microorganismos con resistencia natural a los antifúngico como especies que son, generalmente, sensibles a ellos o viceversa. Cabe mencionar que, actualmente, hemos obtenido resultados de cepas sensibles para caspofungina usando el método Vitek2 y resistente por el método de difusión de discos para la misma cepa de *C. parapsilosis*. Frente a estas circunstancias se hace necesario ensayar nuevos métodos para determinar cuál resultado es el correcto. Sumado a esto la persistencia de fungemia en pacientes tratados con fluconazol con resultados *in vitro* de susceptible, son elementos que requieren ser investigados.

Hemos presentado argumentos teóricos, reportes nosocomiales y microbiológicos que justifican la realización de este proyecto. Si consideramos los siguientes elementos: el alto porcentaje de IAAS, el diagnóstico tardío de la fungemia como una de las primeras complicaciones de los neonatos pretérmino, tasas de mortalidad que alcanzan hasta 67%, secuelas y alteraciones neurológicas en los sobrevivientes, la baja sensibilidad de los hemocultivos y las limitaciones de los métodos diagnósticos fenotípicos. Podríamos concluir que, conocer las características clínicas, epidemiológicas y microbiológicas de los pacientes pediátricos con fungemia, es necesario para formular recomendaciones según el comportamiento epidemiológico de este evento salud, y fortalecer la vigilancia epidemiológica, prevención y control de IAAS.

El principal beneficio es el conocimiento y la transferencia de tecnología en un tema de salud pública que ha sido poco estudiado en nuestro país. Generando nuevos datos que permitan mejorar los procedimientos diagnósticos y corregir errores y limitaciones de los métodos usados actualmente en el país para la identificación de especies Cándida. Errores que podrían generar errores en tratamiento y de manejo de las fungemias.

Con este trabajo los principales beneficiarios son todos los pacientes neonatos hospitalizados en salas de cuidados intensivos del HDN.Dr.JRE, que son susceptibles a una infección por Cándida. También, serán beneficiados los pediatras neonatólogos e intensivistas que atienden estos pacientes, por medio de conocimiento actualizado y propio de nuestra institución en aspectos microbiológicos y epidemiológicos. Este conocimiento será útil para recomendar nuevas estrategias para manejo y tratamiento de las fungemias. El personal de laboratorio será beneficiado con la transferencia de conocimiento y tecnología.

Al término de esta investigación se espera que los resultados obtenidos establezcan fundamentos claros de la epidemiología y características microbiológicas de las especies de Cándida asociadas a Fungemia en este nosocomio. No queda claro si la terapia profiláctica con fluconazol ha disminuido la incidencia de candidemia en la sala de neonatología. Ni tampoco ha tenido efecto en la tasa de mortalidad la cual alcanza un 67% según los datos publicados por Rueda en el 2012.

Nosotros esperamos que los resultados de este estudio nos permitan recomendar medidas preventivas racionales que eviten la colonización prematura de neonatos prematuros con diferentes especies de Cándida. De esta forma se podría disminuir la tasa de mortalidad previniendo o retardando la aparición de la candidemia.

Desde el punto de vista microbiológico con el uso de técnicas proteómicas, esperamos delinear grupos de Cándida que son fenotípicamente

indistinguibles, como es el caso del complejo *C. parapsilosis* y *C. haemulonii*. Además, es de vital importancia determinar la ocurrencia de candidemia por *C. famata* y la emergencia de nuevas cepas. Es necesario conocer los perfiles de susceptibilidad a los distintos antifúngicos para elaborar un antifunjoograma, los cuales son útiles para desarrollar nuevas estrategias terapéuticas en el tratamiento de candidemia.

Recientes estudios han encontrado una substancial disminución en la incidencia de candidiasis invasiva en la UCIN. Esta disminución fue resultado de cambios progresivos en la práctica clínica neonatal descrito por Aliaga y sus col. (2018). Sugerir recomendaciones en la prevención de las IIH, entrenamiento al personal de salud en la higiene de manos, entrenamiento del personal dedicado al manejo de CVC, sugerir nuevas estrategias para el control de resistencia basándose en la estricta implementación de barreras de contactos y adecuado uso de antifúngicos, campañas educativas a los usuarios del hospital podrían mitigar la transmisión de IIH.

Ante los primeros brotes por *C. auris* en América Latina asociados con el ámbito de servicios de salud, la OPS/OMS (2019) recomienda a los estados miembros establecer sus capacidades para detectar precozmente y notificar, de manera que pueda implementar las medidas de prevención adecuadas para evitar y controlar la diseminación local y en los servicios de salud de otros países de la región de las Américas.

Los estudios publicados por Agarwal y sus col. (2017) concluyen que la vigilancia continua con estudios multicéntricos con mayor número de pacientes, y un seguimiento sistemático a largo termino es necesario para una mejor comprensión del manejo óptimo de las infecciones fúngicas invasivas durante el periodo neonatal.

El tiempo y la sensibilidad diagnóstica son los principales aspectos en el manejo de las fungemias, y una comprensión de las características diagnósticas, grupos de riesgo y epidemiología es de vital importancia para la

selección de pacientes quienes pudieran ser beneficiados de una terapia antifúngica temprana, y de la selección del más apropiado agente antifúngico antes que la identificación de la especie de candida este viable. Por medio de este estudio esperamos obtener información valiosa sobre el comportamiento epidemiológico y microbiológico de la fungemia. Los resultados obtenidos serán de gran utilidad para establecer nuevas estrategias de prevención y manejo de pacientes con fungemia en nuestra institución.

1.3 Hipótesis

1.3.1 Hipótesis de nula: No existe incremento en la tasa de incidencia de fungemia entre el año 2014, 2015 y 2016 con un nivel de significancia estadística del 5%.

1.3.2 Hipótesis alterna: Existe incremento en la tasa de incidencia de fungemia entre el año 2014, 2015 y 2016 con un nivel de significancia estadística del 5%.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

Determinar las características clínicas, microbiológicas y epidemiológicas de las fungemias en pacientes pediátricas hospitalizados en el Hospital del Niño, periodo 2014 al 2016.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Estimar y comparar la tasa anual de incidencia de fungemia.

- Presentar las especies de *Cándida* más frecuentes aislados en pacientes con fungemia.
- Describir los principales factores de riesgo asociados al desarrollo de fungemia.
- Presentar un antifunograma hospitalario para distintos antifúngicos de uso sistémico, que permitan formular nuevas estrategias terapéuticas empíricas.

CAPÍTULO II

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 La epidemiología de las infecciones fúngicas en neonatos producidas por especies de *Cándida* y otros hongos levaduriformes

En general, las infecciones del torrente sanguíneo (ITS) por *Cándida* se estiman en 400.000 casos en el mundo. La infección por *Cándida* spp. es más frecuente en países en vías de desarrollo. Las tasas de mortalidad cruda y atribuible a candidemia es de 42 y 27%, respectivamente. La colonización por *Cándida* ocurre en más de 80% de los pacientes críticamente enfermos, después de una semana en Unidad de Cuidados Intensivos (UCI). A pesar de los avances en pruebas diagnósticas rápidas, el diagnóstico microbiológico de la candidemia es tardío. Por otra parte, la distribución de especies ha cambiado en los últimos años, con emergencia de especies no-albicans, lo que se ha asociado a la profilaxis con azoles y equinocandinas, que ha ido seleccionando especies multi-resistentes (Chowdhary et al, 2016).

Entre las **características generales de las levaduras** podemos mencionar que son organismos unicelulares Gram positivos con forma redonda u oval con un tamaño que va de 2 a 60 μm . Las especies de *Cándida* y otros organismos levaduriformes de importancia médica son células eucariotas que están bajo diferentes grupos taxonómicos, que incluyen el filum *Ascomycota* y *Basidiomycota*. En general, las levaduras se reproducen asexualmente por la formación de blastocondias (proceso conocido como gemación) y sexualmente por la producción de ascoporas y basidiosporas (Lorane, 2002; Mahon et al, 2014; Murray et al, 2008; Reidel et al, 2019; Tille et al, 2014).

Macroscópicamente muchas levaduras pueden aparecer como colonias húmedas, pastosas, lisas o rugosas y cremosas en medios de aislamiento. Algunas levaduras pueden producir capsula resultando en una colonia con apariencia brillante o mucoide. El uso de las características microscópicas y macroscópicas en conjunto con el análisis bioquímico han sido tradicionalmente utilizadas para la identificación de levaduras. Estos

organismos fermentan los carbohidratos y junto con las características morfológicas y de las colonias se distingue por ejemplo *C. albicans* de otras especies de *Candida* (Lorane, 2002; Mahon *et al*, 2014; Murray *et al*, 2008; Reidel *et al*, 2019; Tille *et al*, 2014).

El número de infecciones fúngicas causadas por organismos levaduriformes ha incrementado significativamente durante los recientes años. La mayoría de estas infecciones han sido causadas por una variedad de especies de *Cándida*. Sin embargo, otras levaduras también causan enfermedad significativa sobre todo en hospederos particularmente inmunocomprometidos. Las levaduras causan muchas infecciones oportunistas sobre todo en pacientes con postcirugía, con trauma, y con uso prolongado de catéter intravenoso. Algunas de estas levaduras son resistentes a los agentes antifúngicos usados comúnmente, lo cual enfatiza la necesidad de una pronta y apropiada identificación y de realizar pruebas susceptibilidad antifúngica (Lorane, 2002; Mahon *et al*, 2014; Murray *et al*, 2008; Reidel *et al*, 2019; Tille *et al*, 2014).

Estos microorganismos son ubicuos en el medio ambiente y a menudo son parte de la flora nativa de humanos y animales. Los pacientes inmunocomprometidos son particularmente susceptibles a la infección de levaduras que logran colonizar el microbioma endógeno normal de los humanos, y ocasionalmente causan enfermedad en el hombre (Lorane, 2002; Mahon *et al*, 2014; Murray *et al*, 2008; Reidel *et al*, 2019; Tille *et al*, 2014).

Las especies de *Cándida* son un tipo de levaduras responsables de la mayoría de las infecciones oportunistas. Se considera la cuarta causa más común de infecciones del torrente sanguíneo adquiridas en hospitales de los EEUU, con una tasa de mortalidad de hasta el 50% (Tille *et al*, 2014). Las infecciones por *Cándida* son producidas por una variedad de especies. *C.albicans* es la especie aislada con mayor frecuencia, pero existen otras especies emergentes que incluyen *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. krusei*. La frecuencia con la cual, estos microorganismos son aislados varía por institución y distribución geográfica. *C. albicans* es la especie predominante en gran parte

del mundo. *C.parapsilosis* predomina en Australia, en zonas de Latinoamérica y países de la cuenca mediterránea de Asia, África y Europa; en contraste, *C. glabrata* tiene un papel importante en EEUU y zonas del centro y norte de Europa. Asimismo, de acuerdo con las características de los pacientes, hay diferencias en la distribución de especies: *C. parapsilosis* se asocia a pacientes pediátricos y adultos jóvenes; *C. tropicalis*, *C. glabrata* y *C. krusei*, en pacientes con cirugías, tumores sólidos, leucemias y a largos tratamientos con corticoides (Guzzetti *et al*, 2017).

Hasta recientes años *C. albicans* fue la levadura más aislada de infecciones, contabilizando al menos 60% a 70% de las infecciones producidas por organismos levaduriformes. Recientes datos epidemiológicos revelan un cambio en el paradigma de las infecciones por *Cándida*. Estudios en áreas de UCI confirman un incremento en el número de especies de CNA aisladas, por encima de un 50% del total de casos. Las especies de *cándida* son parte del microbiota de los humanos, pero ellos pueden ser, también, endémicos en los hospitales. Las infecciones pueden ser causadas por levaduras de origen endógeno o pueden ser adquiridas en el hospital (Lorane, 2002; Mahon *et al*, 2014; Murray *et al*, 2008; Reidel *et al*, 2019; Tille *et al*, 2014).

Debido a que las especies de *cándida* son levaduras que están comúnmente presentes como flora normal de piel y las mucosas en los aparatos respiratorio, digestivo y genital femenino, ellas pueden proliferar y hallarse asociado con otras enfermedades. El espectro clínico de la enfermedad va desde infección superficial de la piel a enfermedad diseminada. Algunas veces producen enfermedad, general, progresiva en pacientes debilitados o con inmunosupresión, especialmente si hay trastornos en la inmunidad celular. Las especies de *cándida* pueden producir infección en la sangre, tromboflebitis, endocarditis, o infección ocular y otros órganos cuando se introduce por vía intravenosa (Lorane, 2002; Mahon *et al*, 2014; Murray *et al*, 2008; Reidel *et al*, 2019; Tille *et al*, 2014).

Cuando las condiciones del huésped son alteradas, las especies de *candida* son capaces de causar enfermedad en cualquier sitio. En individuos con un

sistema inmune intacto, las infecciones son localizadas y limitadas. La candidiasis es también reconocida como un indicador de inmunosupresión. En individuos infectados con virus de inmunodeficiencia humana, así como pacientes recibiendo terapia antimicrobiana prolongada, u otro agente quimioterapéutico la candidiasis se manifiesta como una infección seria, y en algunos casos como enfermedad diseminada (Lorane, 2002; Mahon *et al*, 2014; Murray *et al*, 2008; Reidel *et al*, 2019; Tille *et al*, 2014).

La candidiasis es una infección causada por *Cándida* spp. Esta puede incluir candidiasis oroesofágica, candidiasis intertriginosa, paroniquia, onicomicosis, infecciones respiratorias, vulvovaginitis, infección ocular, endocarditis, meningitis, fungemia o candidemia, o infección diseminada. La incidencia de candidiasis invasiva ha incrementado en pacientes con la inmunidad comprometida, expansión de la UCI y retraso en la terapia. Entre las infecciones emergentes se incluye: infección del torrente sanguíneo, osteomielitis, endocarditis, endoftalmitis, meningitis, peritonitis, miositis, y pancreatitis. La candidiasis invasiva y propagación hematogena que conduce a meningitis ha también incrementado en casos pediátricos en asociación con muchos factores de riesgo incluyendo edad gestacional, administración de antibióticos, cateterización vascular central, nutrición parenteral, y el uso de antiácidos. Niños y adolescentes también son susceptibles a la infección por candida por tratamientos asociados a la atención en salud como es el caso del uso de dispositivos médicos como catéter permanente, malignidades hematológicas, trasplante de células hematopoyéticas (Lorane, 2002; Mahon *et al*, 2014; Murray *et al*, 2008; Reidel *et al*, 2019; Tille *et al*, 2014).

La patogénesis de las infecciones por candida es extremadamente compleja y probablemente varía con cada especie. La adhesión de organismos al epitelio gastrointestinal o tracto urinario es un factor crucial. *Cándida* spp comúnmente coloniza las superficies de las mucosas. Su habilidad para invadir y causar infección depende de su adherencia a las superficies antes de que la infección ocurra por medio de proteasas. Las moléculas hidrofóbicas sobre la superficie de *Candida* spp también parece ser importante en la patogénesis, y una fuerte

correlación existe entre la adhesión y las superficies hidrofóbicas. Los aislados clínicos parecen haberse adaptado para formar biopelículas polimicrobianas con bacterias patógenas como *Staphylococcus aureus*. Adicionalmente, altas concentraciones de fosfolipasas encontrados en cepas de *C. albicans* se correlacionan con una alta mortalidad en experimentos con animales si lo comparamos con infecciones experimentales usando cepas que producen una baja concentración de fosfolipasas. El cambio de fenotipo (habilidad para producir hifas y pseudohifas) que se observa en *C. albicans* también juega un rol importante en la patogénesis (Lorane, 2002; Mahon *et al*, 2014; Murray *et al*, 2008; Reidel *et al*, 2019; Tille *et al*, 2014).

Las CNA, se consideran patógenos emergentes en cierta población de pacientes. Por ejemplo, la incidencia de infección por *C. glabrata* es más alta en adultos mayores que en adultos jóvenes y niños. Un estudio reportó que los casos de *C. glabrata* incrementan con la edad con ningún caso reportado en menores de 14 años, mientras que el 42% de los casos se reportaron en mayores de 80 años (Cavling *et al*, 2011). Recientes estudios han demostrado su habilidad de desarrollar resistencia a drogas antifúngicas comunes como fluconazol y equinocandinas. *C. glabrata* ha sido aislado de infecciones serias incluyendo endocarditis, meningitis, y enfermedad diseminada. *C. tropicalis* ha demostrado ser prevalente en pacientes con malignidades hematológicas, especialmente en pacientes neutropénicos. Este organismo invade el tracto gastrointestinal eficientemente, particularmente en pacientes oncológicos. Este fenómeno resulta de la expresión de aspartyl proteasas y proteinasas ácidas como factores de virulencia. Porque *C. krusei* tiene resistencia natural a los azoles, la identificación de esta especie es esencial para el propio manejo clínico del paciente. *C. parapsilosis* es la primera causa de infecciones en la unidad de cuidados intensivos de neonatología UCIN. También, es la segunda especie de *Cándida* más aislada de cultivos de sangre, esto pudiese ser parcialmente por su habilidad para crecer en soluciones de hiperalimentación y en catéter intravenoso (Lorane, 2002; Mahon *et al*, 2014; Murray *et al*, 2008; Reidel *et al*, 2019; Tille *et al*, 2014).

Una variedad de otras *Cándida* spp han sido identificadas en infecciones y deberían ser consideradas cuando se evalúa levaduras aisladas de cultivo. Esto incluye *C. catenulate*, *C. ciferrii*, *C. dubliniensis*, *C. guilliermondii*, *C. haemulonii*, *C. kyfer*, *C. krusei*, *C. lipolytica*, *C. lusitaniae*, *C. norvegensis*, *C. pulcherrima*, *C. rugosa*, *C. utilis*, *C. viswanathii*, y *C. auris* (Tille *et al*, 2014).

La epidemiología de la sepsis neonatal, de las infecciones fúngicas invasivas, de la candidemia o fungemia y de la candidiasis invasiva en pacientes neonatos: A nivel mundial la mortalidad neonatal representa el 41% del total de muertes que ocurren en menores de 5 años. Dentro de las causas descritas por la OMS la sepsis ocupa la tercera posición, después de la prematuridad y la asfixia perinatal (Arias *et al*, 2015).

Los neonatos están relativamente comprometidos, debido a la función de un sistema inmune innato deficiente que predispone a los infantes prematuros a desarrollar infecciones invasivas. La hospitalización prolongada, procedimientos invasivos y el uso de dispositivos médicos, la ausencia de alimentación enteral, y el uso de antibióticos de amplio espectro incrementan el riesgo en neonatos vulnerables. Los neonatos pretérmino en extremo (<28 semanas) y con muy bajo peso al nacer (MBPN) tienen múltiples comorbilidades y enfrentan desafíos como la prematuridad, infecciones, hemorragias, enterocolitis necrotizante (EC), síndrome de distrés respiratorio y anomalías de los ductos arteriosos (Kaur *et al*, 2017).

La infección en infantes pretérmino ha cambiado, y paso de ser de una entidad clínicamente prevenible a esperada. Debido a que los infantes tienen un sistema inmune inmaduro, una piel y tracto gastro intestinal inmaduro, la necesidad de una estancia en la UCIN y de procedimientos invasivos como intubación y la colocación de catéter venoso central (Kaufman, 2012).

El reconocimiento de la sepsis neonatal es complicado por la frecuente presencia de condiciones no infecciosas que se asemejan a la sepsis,

especialmente en infantes pretérmino con MBPN, y por la ausencia de una prueba diagnóstica óptima. Inclusive las infecciones invasivas pueden también ocurrir en neonatos asintomáticos, y no siempre es posible aislar el agente etiológico. De manera que, la evaluación de la historia del paciente y de los factores de riesgo en combinación con las pruebas diagnósticas, ayudan a identificar a los neonatos quienes son más propensos a estar infectados. Alrededor del mundo, se estima que la infección invasiva neonatal causa aproximadamente 36% de los 4 millones de muertes neonatales por año. Las tasas de infección varían por región geográfica, los recursos disponibles, factores de riesgo de la madre y del infante (Shane y Stoll, 2014).

La sepsis neonatal se divide en sepsis de aparición temprana y tardía. Se pueden diferenciar por el tiempo de aparición de los síntomas, por la virulencia de los organismos infectando y patogénesis asociada. En el caso de la sepsis de aparición temprana se define por la aparición de signos o síntomas y un cultivo positivo asociado antes de las 72 horas de vida del neonato. Mientras que la sepsis de aparición tardía ocurre después de las 72 horas de vida. Los microorganismos más comunes en sepsis temprana son *Streptococcus agalactiae* y *E. coli*. En el caso de sepsis tardía en recién nacidos con peso al nacer menor de 1,500 g, los microorganismos Gram positivos ocurren en un 70% de las infecciones. Los *Staphylococcus coagulasa negativa* (SCN) producen el 50% de los casos, seguido de infecciones por microorganismos Gram negativos e infecciones fúngicas (10%). Aunque los SCN son responsables por el 50% de las infecciones, solamente 12.5% de las veces la infección debido a SCN son clínicamente significativas. El 2.5% (una de 40) de las evaluaciones por sepsis serían debido a infecciones fúngicas del torrente sanguíneo en infantes con MBPN (Kaufman, 2010).

Una evaluación de todos los nacimientos vivos en 16 UCIN universitarias en EEUU de 2006 a 2009 encontró una tasa promedio de sepsis temprana de 0.98 por 1,000 nacidos vivos, con una tasa de casos fatales de 16%. La tasa de infección y de casos fatales incrementa con el decrecimiento de la edad gestacional y el peso al nacer. Las infecciones por hongos son poco frecuentes

en sepsis temprana, contrario a lo que ocurre en sepsis tardía donde puede alcanzar hasta un 5%. *Cándida* spp es responsable del 4% de todas las infecciones. En otros estudios de cohorte las infecciones fúngicas pueden alcanzar hasta un 12%. Los organismos Gram positivos son más comúnmente asociados con sepsis de aparición tardía en infantes con MBPN, aunque la mortalidad es dos o tres veces mayor en infantes con candidiasis invasiva e infecciones por bacilos Gram negativos que aquellos con infecciones por organismos Gram positivos (Shane y Stoll, 2014).

Existe una considerable variación de un hospital a otro en la incidencia de sepsis de aparición tardía en un rango de 10.6 a 31.7%, esto se debe a la variación en el peso al nacer, edad gestacional, sexo y raza. En EEUU entre 1996 a 2007 se encontró que la incidencia de sepsis de aparición tardía en 248 UCIN fue de 6.3 por cada 1000 admisiones. El 59.4% fueron producidas por cocos Gram positivos, 30.7% por bacilos Gram negativos y 7.7% por levaduras. Se encontró que los microorganismos responsables de las IAAS pueden formar parte de la microflora del paciente (presente en la piel, nasofaringe, tracto gastrointestinal), o por la transmisión de microorganismos procedentes de los familiares, de los trabajadores de la salud o del ambiente hospitalario (Ramashetu, 2017).

La candidiasis es la micosis más común en neonatos, que abarca desde infecciones leves hasta formas graves, con elevada mortalidad en especial en neonatos pretérminos menores de 1,000 g de peso al nacer (Arias *et al*, 2015). La IFI se considera una infección de tipo oportunista que acontece casi exclusivamente en el paciente inmunodeprimido y en el paciente crítico. La mayoría de las IFI son la consecuencia de condiciones de salud de fondo asociadas con inmunosupresión. En nuestro entorno existen numerosas especies fúngicas oportunistas que pueden colonizar e infectar al paciente inmunológicamente deprimido. Las principales IFI oportunistas son las siguientes: Candidiasis invasiva (CI), Aspergilosis invasiva, Zygomycosis, Fusariosis, infección por *Scedosporium* spp, e infección por hongos dematiaceos. Generalmente, estas infecciones son asociadas con una alta

mortalidad, y los resultados clínicos satisfactorios requieren un diagnóstico temprano y una efectiva terapia antifúngica (Arias *et al*, 2015).

La CI engloba dos entidades clínicas distintas, la candidemia o la invasión limitada al torrente circulatorio, y la candidiasis diseminada o infección multiorgánica (Swanson *et al*, 2014). La CI se define como el aislamiento de una cepa de *Cándida* spp desde un sitio estéril del cuerpo. El sitio más frecuente de aislamiento es la sangre la cual se conoce como candidemia y representa el 70% de los casos, seguido por 15% de aislamientos de especímenes de orina recolectados por punción suprapúbica o por sonda urinaria con un recuento mayor de 10,000 UFC/ml la cual se conoce como candiduria, 10% de líquido cefalorraquídeo y 5% otros fluidos corporales como líquido peritoneal y articular (Arias *et al*, 2015; Izquierdo *et al*, 2014).

La CI causa una importante morbilidad y mortalidad en infantes con extrema prematuridad. La mortalidad promedio en 78 infantes con CI fue de 20.5%, de los infantes fallecidos 18.8% presentaron candidemia y 17.2% candiduria. El 75% de los infantes fallecieron cuando la *Cándida* spp fue aislada en sangre y orina (Swanson *et al*, 2014).

El estimado de la incidencia de candidemia se ha incrementado 5 veces globalmente en menos de 10 años. En los países en vías de desarrollo la tasa de candidemia es de 4 a 15 veces más alta que la encontrada en países desarrollados. La incidencia de candidemia pediátrica reportada en las UCIN en países en vías de desarrollo es de 42.7 casos/1000 admisiones, mientras que en los países desarrollados la incidencia reportada varía de 0.043 a 0.47 casos/1000 admisiones. La incidencia de la CI en la UCIN ha aumentado considerablemente en las últimas décadas, debido al aumento en la supervivencia de los recién nacidos prematuros y de bajo peso al nacer, asociado a cambios en los procedimientos diagnósticos y terapéuticos. La frecuencia es variable dependiendo del centro y de su complejidad. Los datos existentes se basan en estudios multicéntricos principalmente EEUU, con limitados reportes sobre la incidencia de CI en Latinoamérica. Por lo cual,

parece fundamental que cada UCIN evalúe la tasa de incidencia de infecciones invasoras por *Cándida* spp, con el objetivo de establecer una adecuada estrategia local de vigilancia, prevención, diagnóstico y manejo (Kaur *et al*, 2017).

La candidemia constituye la tercera causa de infección del torrente circulatorio en las IAAS y ocupa la cuarta posición de todas las infecciones. La candidemia, es la IFI más frecuente en pacientes críticos no-neutropénicos con un incremento muy notable en los últimos 20 años. Los infantes con CI quienes sobreviven frecuentemente tienen a largo termino daño neurológico en 57% de los casos (Kaufman, 2010). Incluyendo parálisis cerebral, ceguera, daño auditivo, déficit cognitivo, y lecuomalacia periventricular. Se conoce que la incidencia de CI es de 1.6-3.0% en neonatos con MBPN y de 15-20% en neonatos con extremo muy bajo peso al nacer (EMBPN). Las especies de *Cándida* son los patógenos fúngicos más comunes, y comprenden el 70-90% de todas las infecciones fúngicas en neonatos (Chang *et al*, 2013).

Epidemiología de transmisión de los microorganismos asociados a IAAS: Se debería mantener en mente, que nuestra piel y manos tiene dos tipos diferentes de flora microbiana que coexiste (flora residente y flora transitoria). Los gérmenes de nuestra flora transitoria son aquellos más frecuentemente asociados con IAAS y son el blanco primario del lavado manos en la UCIN. La flora transitoria reside en la superficie de estrato corneo y es adquirido por contacto directo con los pacientes recién nacidos o con superficies ambientales. Los microorganismos pueden ser transmitidos a otros pacientes o al medio ambiente si ellos no son removidos por fricción mecánica y desinfección con la solución antiséptica. Las enterobacterias, *S. aureus* y *Cándida* spp son gérmenes de la flora transitoria, y su presencia está asociada con un inadecuado o insuficiente lavado de manos o falla en una adecuada limpieza de la UCIN. La flora residente tiene una baja patogenicidad y permanece como residente en las láminas profundas de la piel. Estos microorganismos solamente producen infección cuando las barreras normales

es interrumpida, como el caso de la colocación de catéter venoso central (Vain *et al*, 2012).

La principal fuente de infección ocurre desde la colonización cutánea y gastrointestinal. Se presume que 5% de los recién nacidos presentan una colonización gastrointestinal al momento de ingresar a la UCIN, llegando a 50% en la primera semana y 75% al llegar al mes de vida. La principal fuente de adquisición de *C. albicans* es el canal del parto, a diferencia de *C. parapsilosis* que se asocia en mayor medida a una transmisión horizontal (Arias *et al*, 2015). Se han producido brotes de CI por *C. parapsilosis* en la UCIN, secundarios a la transmisión por las manos del personal (Izquierdo *et al*, 2014).

Es necesario comprender que no todas las infecciones por *Cándida* son relacionadas a catéter, la mayoría de las infecciones son diseminadas desde otros sitios como tracto respiratorio, tracto gastrointestinal, tracto urinario y la piel. Ya que las especies de *Candida* son levaduras que frecuentemente colonizan la piel, tracto gastrointestinal (TG), y tracto genitourinario femenino. Los infantes admitidos en la UCIN son colonizados por *Cándida* spp rápidamente después del nacimiento. El TG y respiratorio son los sitios más frecuentes de colonización durante las dos primeras semanas de vida. La colonización de la piel ocurre en infantes con más de dos semanas de edad y pudiera estar relacionado con el contacto con la madre o las manos de los profesionales de salud al cuidado del paciente. Los profesionales de la salud pueden ser la fuente primaria de colonización por *C. parapsilosis* en la UCIN (Kaufman *et al*, 2010).

La colonización de infantes por *Cándida* spp no es suficiente para el desarrollo de CI, aunque entre 5% a 10% de los infantes con MBPN (< de 1500 g) colonizados por *Cándida* spp desarrollan enfermedad invasiva. Los infantes prematuros están predispuestos a CI por muchas otras razones: las barreras típicas no están bien desarrolladas (la piel de infantes de menos de 30 semanas es delgada y pobremente formada). La inmadurez de las barreras y funciones inmunes del TG predisponen la translocación de especies de

cándida. La inmunidad celular también se encuentra afectada lo cual se evidencia por hallazgos como neutropenia, linfopenia, alteración de la quimiotaxis y fagocitosis de los neutrófilos (Kelly *et al*, 2015).

Finalmente, los factores de virulencia de la levadura que coloniza también parece ser un importante factor que determina el riesgo de progresión a enfermedad invasiva. Una especie de Cándida que atraviesa las mucosas y entra al torrente sanguíneo tiene predilección por invadir tejidos como sistema nervioso central, riñones, hígado, bazo, corazón, y retina. En el sistema nervioso central puede producir meningoencefalitis, absceso cerebral y ventriculitis con hidrocefalo obstructivo. Las especies de cándida se puede también infiltrar con o sin formación de absceso en el hígado, bazo y más comúnmente en los riñones. La endocarditis y endoftalmitis endógena resulta de la invasión de válvulas cardiacas y ojos durante la fungemia (Kelly *et al*, 2015).

Aunque existen más de 150 especies de cándida, la frecuencia de distribución de los casos de CI en infantes es producida por pocas especies. La especie más común es *C. albicans* con 45% a 55% episodios de CI. *C. parapsilosis* es la más frecuente CNA aislada con 20% a 35%, seguido de *C. tropicalis* con 1% a 6%. Otras especies con una proporción relativamente más pequeña (< 5%) pudieran estar presente como *C. krusei* y *C. glabrata*, la cuales tienen especial consideración por su inherente o potencial resistencia a fluconazol. *C. albicans* es también más patogénica que otras especies de Cándida. En algunos estudios la mortalidad asociada con CI causada por *C. albicans* fue más alta que por la causada por *C. parapsilosis* (Kelly *et al*, 2015).

En otro estudio se registró en 177 episodios candidemia una incidencia de 2.2 episodios/1000 egresos. La distribución por especies indica que *C. albicans* fue la especie más frecuente (44,6%), seguida de *C. parapsilosis* (27,7%) y *C. tropicalis* (7,3%). *C. famata*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. lusitaniae* y *C. pelliculosa* se aislaron, cada una de ellas, en un porcentaje menor o igual al 2% de los casos. Además, no se observó diferencias por sexo (Guzzetti *et al*, 2017).

En promedio se estima que entre un 1.5% a 2.5% de todas infecciones del torrente sanguíneo son debido a agentes etiológicos fúngicos. La mayoría de los estudios coinciden que las levaduras más comunes son *C. albicans* y *C. parapsilosis* (Arias *et al*, 2015; Shane y Stoll, 2014). En otra investigación *C. albicans* represento el 59% de todos los aislados, seguido de *C. parapsilosis* (29%), *C. glabrata* (3%), *C. lusitaneae* (2%), *C. lambia* (2%), *C. tropicalis* (1%) y dos aislamientos no identificados (2%) (Swanson *et al*, 2014).

En medio de las especies de CNA, *C. parapsilosis* es reconocida como una importante causa de CI en pacientes neonatos. Desde el 2005 los genogrupos de *C. parapsilosis* (I, II y III), fueron designados como tres especies estrechamente relacionadas, pero fenotípicamente indistinguibles. Estos 3 genogrupos han sido actualmente designados como *C. orthopsilosis*, *C. metapsilosis*, y *C. parapsilosis* sensu stricto la cual representa la mayoría de los aislados clínicos. *C. parapsilosis* en particular coloniza a los neonatos en semanas después que *C. albicans*, lo cual es consistente con la observación que *C. parapsilosis* en rara ocasiones es responsable de sepsis de aparición temprana (Chow *et al*, 2013).

En algunos estudios *C. parapsilosis* comprende el 33.47% de todas las infecciones neonatales por *Cándida* spp. La variación geográfica en la infección por *C. parapsilosis* incluye una baja incidencia en Europa y una alta incidencia en Norte América y Australia. La formación de biopelículas fue un determinante de virulencia significativo de *C. parapsilosis*, y la prematuridad, la colonización previa y cateterización fueron los principales factores de riesgo. En conclusión *C. parapsilosis* es un significativo patógeno neonatal, y comprende la tercera parte de todas las infecciones por *Cándida* y está asociada con 10% de mortalidad. De ahí la importancia de establecer estrategias de prevención para evitar la transmisión horizontal en la UCIN (Pammi *et al*, 2013).

Los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de fungemia son (i) enfermedad crítica con una prolongada estadía en la UCI; (ii) cirugía abdominal, especialmente si esta es complicada o repetida; (iii) bajo peso al nacer; (iv) pancreatitis necrotizante aguda; (v) enfermedad maligna; (vi) trasplante de órganos, especialmente de hígado; (vii) colonización por candida; (viii) uso de antibióticos, catéter venoso, esteroides, diálisis, y nutrición parenteral total (Cavling *et al*, 2011).

Los factores del huésped más importantes se considera la cirugía encontrada en 56% de los casos, es importante mencionar que el 81% de los casos fueron cirugía abdominal, y más de la mitad fueron internados en la UCI. Un tercio presentaron enfermedades malignas, incluyendo 24% de pacientes con tumores sólidos, 9% con enfermedad hematológica, y 5% de los pacientes fueron neutropénicos. El 12% de los pacientes eran diabéticos, 1% infantes prematuros, y 2% de pacientes con quemaduras. Pacientes con CVC se contabilizo el 92%, 23% pacientes fueron dializados, y 27% de los pacientes recibieron terapia con corticosteroides dos semanas antes. La mayoría de los pacientes (87%) recibieron antibióticos dos semanas antes, siendo las cefalosporinas, penicilinas, metronidazol y quinolonas los antibióticos más comunes (Cavling *et al*, 2011).

Los factores de riesgo para candidemia pueden estar relacionado al huésped o a los cuidados de salud. Las comorbilidades para un alto riesgo candidemia incluye pancreatitis aguda necrotizante, malignidades hematológicas, tumores de órganos sólidos, neutropenia ($<500/\text{mm}^3$), deterioro de las condiciones clínicas, insuficiencia renal crónica y ataque previo de candidemia. Los factores del huésped más prevalentes son la multimorbilidad (dos o más enfermedades de base, 74.2%) y enfermedad gastrointestinal (52.5%). La enfermedad hematológica fue infrecuente (7.8%). Otros factores de riesgo asociados incluyen exposición a antibióticos (90.5%), CVC (71.9%), y colonización por *Candida spp* (66.7%) (Lausch *et al*, 2018). Los factores asociados al cuidado de salud incluyen cirugía reciente (especialmente abdominal), trasplante de órgano sólido, hemodiálisis, estadía prolongada en UCI (≥ 7 días), ventilación

mecánica, uso de catéter venoso central, nutrición parenteral, catéter urinario, glucocorticoides, terapia con agentes antimicrobiana y quimioterapia (Kaur *et al*, 2017; Ramasethu, 2017).

En pacientes neonatos presentan factores de riesgo específicos adicionales como la prematuridad y bajo peso al nacer. En un estudio conducido entre 2006 a 2008 se describe una tasa de sepsis tardía en infantes de 400 a 1500 g al nacer de 24%, y en infantes de 22 a 28 semanas de edad gestacional de 36% (2003-2007). Factores de riesgo para desarrollar IAAS incluye prematuridad, bajo peso al nacer, lavado de manos deficiente, procedimientos invasivos, alteración de las barreras mucosas y piel, dispositivos intravenosos, nutrición parenteral, exposición a antagonistas de histaminas, antibióticos de amplio espectro y esteroides. La prolongada estadía y un censo incrementado en la UCIN fueron también identificados como factores de riesgos de IAAS (Shane y Stoll, 2014).

Tres prácticas médicas han sido asociadas a un incremento de riesgo de IFI: el uso de antibióticos de amplio espectro (cefalosporinas de tercera generación y carbapenémicos), el uso de inhibidores (bloqueadores de receptores H₂, inhibidores de bombas de protones) y el uso de esteroides postnatal. El uso de estos medicamentos durante el periodo de alto riesgo de infección para los infantes pretérmino es crítico, sobre todo cuando ellos tienen CVC, no recibe alimentación enteral completa, y/o son intubados (Kaufman, 2010).

Los factores de riesgo de la candidiasis neonatal generalmente ocurren después de las dos primeras semanas de vida del neonato con extrema prematuridad o infantes de cualquier edad gestacional con procesos en el TG. El riesgo para sepsis fúngica esta incrementado por la colonización adquirida verticalmente de la madre, así como también por la transmisión horizontal en el ambiente de la UCIN. Existe una correlación positiva entre múltiples sitios de colonización y el riesgo para candidiasis invasiva (Shane y Stoll, 2014). Ha sido propuesto el uso de factores de riesgo para determinar cómo y cuándo una terapia empírica antifúngica debe ser considerada. La aparición repentina

de trombocitopenia (<100000/ml) en infantes con MBPN ocurre en 85% de los casos de fungemia y persiste en promedio por 2 días, aunque la trombocitopenia no es específica de infección fúngica. Algunos autores han propuesto utilizar los siguientes factores de riesgo de forma individual o combinada para determinar la terapia: edad gestacional, exposición a cefalosporinas de tercera generación en los 7 días previos, y trombocitopenia (Kaufman, 2010).

El sexo masculino y el nacimiento vaginal fueron descritos junto con la edad gestacional y peso al nacer como predictores de infección. Los infantes de sexo masculino fueron más propensos a tener una candidiasis invasiva que los de sexo femenino, y el nacimiento vaginal fue un factor de riesgo significativo para el desarrollo de infección. El nacimiento vaginal y recibir antibióticos durante la primera semana de vida incrementa el riesgo de candidiasis invasiva en los subgrupos con 22-25 semanas y de 26-28 semanas (Sawnsen *et al*, 2014). Un resumen de los factores de riesgos más importantes asociados con candidiasis invasiva en neonatos se presenta en la Tabla 1.

- **La prematuridad y peso al nacer:** La tasa de infección fue inversamente relacionado al peso al nacer y la edad gestacional, con 50% de las infecciones ocurriendo en infantes nacidos con menos de 25 semanas de gestación o peso al nacer menor de 750 g (Ramasethu, 2017). La extrema prematuridad es un fuerte factor de riesgo para desarrollar CI. La incidencia de CI es baja (0.06%) en infantes con peso al nacer mayor de 1,500 gramos. En comparación, con el desarrollo de CI en 2% a 5% de los neonatos con MBPN, frente a 4% a 16% de los neonatos con EMBPN (peso al nacer < de 750 gramos). La mortalidad por CI en infantes con menos de 750 gramos al nacer puede alcanzar hasta un 50% (Kelly *et al*, 2015). Otros datos indican que la CI ocurre en 9% de los neonatos con 1,000 gramos de peso al nacer. La incidencia de infección invasiva puede variar entre 2 a 28% en sitios donde se estudiaron más de 50 neonatos (Izquierdo *et al*, 2014; Shane y Stoll, 2014). En la Tabla 2 se presenta la incidencia de candidiasis en recién nacidos según el peso del neonato al nacer.

- **Hospitalización en la UCIN:** El tiempo de estadía en la UCIN está fuertemente relacionada al riesgo de CI, con una incidencia que puede variar entre 2.4% a 20.4% (Kelly *et al*, 2015).
- **Terapia con antibióticos de amplio espectro:** La exposición a antibiótico es un fuerte factor de riesgo modificable, sobre todo cuando se selecciona la terapia empírica. La práctica de utilizar antimicrobianos en la UCIN permite influenciar el tipo de microorganismo responsable para sepsis neonatal y su patrón de resistencia (Shane y Stoll, 2014). La terapia antimicrobiana incrementa la densidad de colonización de *Cándida* spp por reducción de la presión competitiva de bacterias comensales por el uso de antibióticos de amplio espectro como las cefalosporinas de tercera generación. El uso de cefalosporinas de tercera generación duplica el riesgo de desarrollo de CI en infantes con extremo bajo peso al nacer. Cada día aumenta la evidencia que el uso excesivo o inapropiado de antibióticos en la UCIN permite serios resultados adversos. Como resultado tenemos la emergencia de organismos multidrogo resistentes, aumento de la tasa de CI, EN, sepsis de aparición tardía y muerte (Chang *et al*, 2008; Hsieh *et al*, 2012).

La alteración del microbioma neonatal por exposición antibióticos ha sido sugerida como un mecanismo para algunos de estos efectos adversos. Esta alteración del microbioma del infante puede permitir los pobres resultados no solamente para ese infante, sino también para otros infantes en la UCIN por la transmisión horizontal de patógenos. Por ejemplo, la exposición de neonatos con MBPN a cefalosporinas de tercera generación y el retraso en la alimentación enteral, ambos factores juntos incrementan la susceptibilidad a la candidiasis. También, el número de antibióticos administrados y el número de días de administración de antibióticos fueron asociados con un incremento del riesgo de candidemia (Chang *et al*, 2008; Hsieh *et al*, 2012).

Cuadro 1: Factores de riesgo asociados con candidiasis invasiva.

Variable	Factor de riesgo
Edad gestacional	Menor de 28 semanas
Peso al nacer	Menor de 1,000 gramos
Uso de antibióticos	Cefalosporinas de 3 ^a y 4 ^a generación, carbapenémicos.
Medicamentos que comprometan el sistema inmunológico.	Antiácidos (anti H2 e inhibidor de bombas de protones), corticoides posnatales.
Condiciones específicas	Enterocolitis, defectos de la pared abdominal, perforación intestinal, candidiasis cutánea o colonización.
Dispositivos invasivos	Intubación orotraqueal mayor de 7 días, catéter venoso central, dispositivos para alimentación enteral y colonización del CVC.

Fuente: Arias *et al*, 2015.

Tabla 1: Incidencia de candidiasis en reciente nacidos según el peso.

Peso en gramos	Incidencia
Mayores de 1,500	1%
1,001-1,499	1%
751-1,000	4%
450-700	12%

Fuente: Arias *et al*, 2015.

- Uso de catéter venoso central:** Los CVC son indispensables para el tratamiento de infantes prematuros críticos, minimizando la necesidad de punciones y facilitando la administración nutrición parenteral, productos sanguíneos, terapia inotrópica. Sin embargo, estos dispositivos también juegan un rol crítico en la patogénesis de las infecciones incluyendo CI proveyendo un portal de entrada para las especies de *Cándida*, así como también una superficie extraña para adhesión y formación de biopelículas. La remoción del catéter colonizado es a menudo necesario para eliminar la candidemia, mientras que el retraso en la remoción del catéter está asociado con un incremento en el riesgo de muerte o daño en el neurodesarrollo por la CI (Kelly *et al*, 2015).
- Otros Factores:** La translocación a través TGI es la principal fuente de CI. La EN, anomalías TGI congénitas, perforación intestinal espontánea, cirugía abdominal previa, todas estas condiciones clínicas están asociadas

con un incremento del riesgo de CI. El uso de antagonistas H₂ promueven el sobrecrecimiento de *Cándida* spp en el TGI por medio de la supresión de la producción de ácido gástrico y pudiera facilitar la invasión por medio de la inhibición del estallido respiratorio de los neutrófilos. El tratamiento con corticoides incrementa el riesgo de CI en infantes prematuros, alterando el número y función de los linfocitos T (Kelly *et al*, 2015). La presencia de tubo endotraqueal incrementa el riesgo de candidiasis invasiva por más del 50% (Ventilación mecánica por más de 48 horas).

La colonización por *Cándida* spp se considera un factor de riesgo de progresión a CI. El porcentaje de recién nacidos pretérmino colonizados que presentan una CI varía entre 7% y 28%. La colonización rectal es la más frecuente (Izquierdo *et al*, 2014). Las especies de *Cándida* colonizan al neonato de forma vertical al nacer o por transmisión horizontal. El número de sitios colonizados es directamente proporcional al riesgo de desarrollo de CI y la colonización de la piel, TG, y tracto respiratorio ocurre en 26.7% a 62.5% de los neonatos enfermos dentro de las dos primeras semanas de vida. Sin embargo, en los países en vías de desarrollo la colonización por *Candida* puede ocurrir mucho más temprano, como en el caso de la India donde más del 70% de los neonatos pretérminos fueron colonizados dentro de una semana y 38% fueron colonizados dentro de las 24 después del nacimiento (Kaur *et al*, 2017).

El retraso en la nutrición enteral total está asociado con colonización con *C. parapsilosis*. Múltiples estudios han demostrado la transmisión horizontal de fuentes ambientales en brotes, y de las manos de los proveedores de salud. La transmisión vertical ha sido implicada como una fuente de colonización neonatal con *C. albicans*, con el nacimiento vía canal del parto como un factor riesgo de riesgo independiente (Chow *et al*, 2013).

2.2 Diagnóstico clínico y microbiológico de especies de *Cándida* y de otros hongos levaduriformes

El diagnóstico clínico de la CI es de vital importancia, debido a que un retraso en el inicio de una apropiada terapia antifúngica está asociado con un incremento en la mortalidad. Sin embargo, la identificación de infantes con CI es un desafío, debido a que los infantes presentan síntomas inespecíficos, y las capacidades diagnósticas son limitadas. Como se mencionó previamente, las manifestaciones clínicas de los infantes con CI son inespecíficas y sutiles e incluyen: letargia o apnea, intolerancia a los alimentos, hipotermia, dificultad respiratoria, apneas, inestabilidad hemodinámica e hiperbilirrubinemia. Se debe sospechar de una CI en aquellos pacientes con factores de riesgo, que presentan manifestaciones clínicas similares a las de una sepsis bacteriana. La hipertemia solo está presente en la mitad de los infantes con CI. Los principales órganos blancos de CI son el tracto genitourinario, globo ocular, sistema nervioso central, hígado, bazo, corazón, tejido celular subcutáneo, aparato locomotor y pulmón (Izquierdo *et al*, 2014). La trombocitopenia no es específica para el diagnóstico de CI. Sin embargo, la edad gestacional en conjunto a la exposición de cefalosporinas de tercera generación 7 días antes de la aparición de los síntomas y trombocitopenia son factores de riesgo importantes de infección fúngica en neonatos con signos y síntomas de sepsis (Shane y Stoll, 2014).

La intolerancia a la glucosa y leucopenia o leucocitosis son también hallazgos comunes, aunque el recuento de blancos es normal en 40% de los infantes con sepsis fúngica. Finalmente, la proteína C reactiva y procalcitonina son a menudo elevadas en infantes con sepsis fúngicas, pero la especificidad es pobre. El 25% de los episodios de sepsis confirmada por *Cándida* spp fue considerada clínicamente sospechoso de CI. La mortalidad promedio en infantes con CI fue de 19% en 730 infantes enrolados (Shane y Stoll, 2014).

El diagnóstico temprano de candidemia está asociado con una reducción en la mortalidad y morbilidad, y disminución en los costos y estadía hospitalaria, y la

toxicidad de las drogas antifúngicas. El diagnóstico inicia con la sospecha de la infección, pero la presentación clínica de la candidemia es difícil de distinguir de la bacteriemia. Múltiples técnicas avanzadas han sido usadas para el diagnóstico de candidemia. El cultivo de sangre automatizado permanece como la prueba más común y ampliamente usada para el diagnóstico de candidemia. Un gran volumen de sangre es necesario para una mejor recuperación de *Cándida* spp (Kaur *et al*, 2017). A pesar de estas limitaciones el hemocultivo permanece como el estándar de oro para el diagnóstico de candidiasis neonatal. Sin embargo, los estudios de autopsias sugieren que la sensibilidad del hemocultivo para detectar CI es menos del 50% aun cuando el volumen óptimo de sangre es recolectado. El rendimiento del hemocultivo varia con el número de órganos envueltos, con un rango de 28% cuando un órgano vital está envuelto a 78% cuando al menos 4 órganos vitales están envueltos (Kelly *et al*, 2015). Se debe tomar dos hemocultivos para obtener un mayor rendimiento de la prueba. La sensibilidad diagnóstica es baja por lo que un resultado negativo no descarta la presencia de *Cándida* spp. Se diagnostica una candidemia con el aislamiento de *Cándida* spp en al menos un hemocultivo (Izquierdo *et al*, 2014).

Una vez la *Candida* spp crece en el hemocultivo, inicia un largo proceso para la identificación de la especie y la realización de la prueba de susceptibilidad antifúngica. Las técnicas de identificación de *Cándida* spp es crucial para una óptima terapia antifúngica, debido a que la susceptibilidad varia en medio de las especies de *Cándida*. El procedimiento de identificación podría ser realizado por métodos bioquímicos convencionales manuales o automatizados, detección de antígenos, y métodos genotípicos o proteómicos (Kaur *et al*, 2017).

Se ha realizado comparaciones de los métodos de identificación de especies de *Cándida*, utilizando el método de secuenciación de ADN como estándar de oro. En un trabajo realizado en China se analizó la exactitud del Vitek MS y el Biotyper como métodos proteómicos y el sistema Vitek2 Compact como método fenotípico para identificar 164 aislados de *C. guilliermondii*. El resultado

de cada método comparado con la secuenciación de ADN fue de 92.7%, 97.0% y 15.2% de exactitud para cada método respectivamente (Cheng *et al*, 2016).

Los Métodos fenotípicos empleados para la identificación de microorganismos dependen de procesos metabólicos que requieren de tiempos de incubación mínimos para alcanzar resultados confiables. Uno de los métodos comerciales utilizados es el Vitek2. El sistema Vitek2 y la tarjeta IDYST que consiste en 64 pocillos con 47 pruebas bioquímicas fluorescentes. Las pruebas que comprenden esta tarjeta son 20 pruebas de asimilación de carbohidratos, seis pruebas de asimilación de ácidos orgánicos, 8 sustratos para la detección de oxidasas y 9 sustratos para la detección de arylamidasa y 4 pruebas misceláneas que incluyen: detección de fosfatos, urea, nitratos y actidiona. En caso de identificación con baja discriminación se pueden requerir pruebas adicionales como: demostración de blastosporas, artrosporas, células apiculadas, cápsula de polisacáridos, pigmentos carotenoides, hifas o pseudohifas, esporangios y crecimiento a 37°C y crecimiento sin aceite (Graf *et al*, 2000). El Vitek2 puede confrontar problemas de identificación tal como se encontró en este estudio donde 31 pacientes con 36 aislamientos de especies de *Candida* fueron erróneamente identificados como *C. auris*. De los 36 aislados sospechosos de *C. auris* 47% fueron identificados como *C. duobushaemulonii*, 22% como *C. haemulonii*, 14% como *C. auris* y 16% como otras especies de *Candida* (*C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. inconspicua*). Sólo 5 de las 36 cepas fueron identificadas como *C. auris* utilizando espectrofotometría de masa y secuenciación de la región D1/D2 del gen 28S (Ramos *et al*, 2018).

Cabe señalar, que ha habido identificaciones erróneas de *C. auris* anteriormente, pudiendo ser informadas como *C. haemulonii*, *C. sake*, *Sacharomyces cerevisiae* y *Rodothorula glutinis* por sistemas fenotípicos como Vitek2 y API20C-AUX. El diagnóstico de *C. auris* se realiza fundamentalmente mediante secuenciación (regiones ITS o LSU) o por “matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry” (MALDI-TOF) (Chowdhary *et al*, 2016). En muchos lugares *C. auris* permanece como una

patógeno poco conocido en la rutina de los laboratorios de microbiología, y más de los 90% de los aislados caracterizados por sistemas de identificación comercial han sido mal identificados como *C. haemulonii*. Los métodos proteómicos prueba ser una técnica más robusta para la identificación rápida de *C. auris* (Kathuria *et al*, 2015).

Las principales limitaciones de los métodos fenotípicos son el tiempo necesario para su realización y la dificultad para diferenciar microorganismos poco reactivos, muy parecidos entre ellos o de difícil crecimiento. Se utilizaban pruebas bioquímicas, colorimétricas o incluso de sensibilidad antibiótica para la identificación a niveles de género y especie. Desde la introducción en el laboratorio de la espectrometría de masas (EM) con el uso de MALDI-TOF, muchos de estos problemas se han solventado (Hernández *et al*, 2016).

Los métodos proteómicos como MALDI-TOF MS identifica las bacterias y hongos utilizando las proteínas ribosómicas. Una identificación correcta y rápida de las bacterias y hongos es esencial para un diagnóstico y un tratamiento adecuado de los pacientes con infecciones. Para poder sacar el máximo rendimiento a esta tecnología se han de conocer sus puntos fuertes y sus limitaciones. No todos los microorganismos se identifican con la misma facilidad o fiabilidad mediante MALDI-TOF y es obligación del microbiólogo saber cómo interpretar los resultados que se obtienen por esta tecnología y las alternativas disponibles para lograr identificar los microorganismos que generan más problemas. Las condiciones del cultivo, la preparación de la extensión con el método de extracción idóneo y, sobre todo, el uso de una correcta y actualizada base de datos son los principales factores que hay que tener en cuenta para la identificación fiable de cualquier bacteria u hongo (Hernández *et al*, 2016).

La EM es una técnica de análisis que permite caracterizar muestras midiendo las masas (estrictamente las razones masa-carga) de las moléculas. Cuenta con más de un siglo de historia y evolución tecnológica y a lo largo de los años ha ampliado su alcance desde los isótopos a moléculas pequeñas, moléculas

orgánicas más complejas y, en las últimas décadas, macromoléculas (ácidos nucleicos y proteínas). La EM MALDI-TOF es una variante que permite el análisis de mezclas complejas de proteínas y que se ha aplicado recientemente a la identificación de microorganismos en cultivo, convirtiéndose en una herramienta rápida y eficaz para el diagnóstico microbiológico que ha conseguido entrar en poco tiempo en la rutina de muchos servicios de microbiología clínica. El gran impacto que ha tenido está impulsando el desarrollo de nuevas aplicaciones en el campo de la microbiología clínica (Mingorance *et al*, 2016).

La introducción de la EM mediante la aplicación MALDI-TOF en el diagnóstico de bacteriemias y fungemias supone una revolución por la rapidez y fiabilidad de los resultados que pueden ofrecer los servicios y laboratorios de microbiología mediante el análisis del espectro proteico bacteriano o fúngico directamente a partir del frasco de hemocultivo positivo. Estos datos son más útiles si se integran con otras técnicas capaces de ofrecer el patrón de resistencia antibiótica del microorganismo. La introducción de esta metodología proporciona una información precoz muy importante para el manejo clínico de las bacteriemias y fungemias (Rodríguez *et al*, 2016).

Un EM se compone de tres unidades funcionales, una fuente de ionizante para transferir iones a las moléculas de la muestra en una fase gaseosa, un analizador de masas que separa los iones de acuerdo con su relación masa/carga y un dispositivo de detección para monitorizar los iones separados. Como se ilustra en la figura 1, una pequeña porción de una colonia de bacterias del medio de cultivo sólido se deposita directamente sobre una placa metálica conductora; un pequeño número de células entre, 10^4 a 10^5 unidades formadoras de colonias son necesarias para el análisis. Posteriormente, a la placa con el microorganismo se adiciona una solución saturada de un compuesto orgánico de baja masa, denominada matriz. Tras el secado, la muestra del microorganismo y la matriz se cristalizan y forman un depósito sólido de muestra incrustado en la matriz, la cual es esencial para la ionización exitosa de la muestra pues actúa como un “andamio” en el cual puede ocurrir

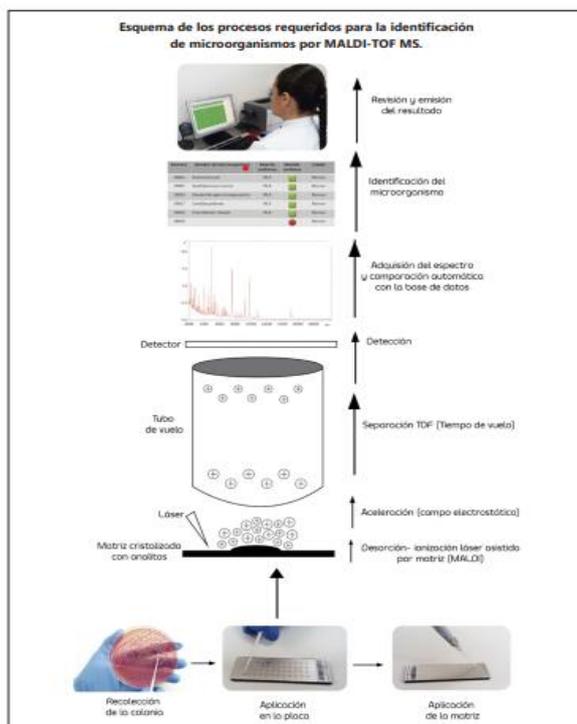
la ionización y como un proveedor de protones para la ionización. Después de la cristalización de la matriz y del compuesto, la placa metálica se introduce en el EM, en donde la mezcla es irradiada con pulsos cortos de un rayo láser UV (por lo general, un haz de láser con longitud de onda de 337 nm). La interacción entre los fotones de las moléculas de láser y de la matriz, causados por la absorción de la energía del haz, desencadena una sublimación de la matriz en una fase gaseosa, seguida por la ionización de la muestra del microorganismo con mínima fragmentación (por ello se denomina “ionización suave”). Al ionizarse, las proteínas son aceleradas a través de un campo electrostático y luego son expulsadas en un tubo de vuelo al vacío donde se separan en función de su velocidad o tiempo de vuelo, llegando finalmente al detector de masas que genera información característica de la composición del microorganismo mediante un espectro de picos, frente a su relación masa/carga (m/z), llamada también huella digital de la masa de los péptidos (peptide mass fingerprinting). Una vez generado, el perfil espectral del microorganismo de prueba es comparado automáticamente mediante un programa informático con una base de datos de espectros que es construida a partir de cepas de referencia, permitiendo la identificación del microorganismo. La identificación de los microorganismos por EM MALDI-TOF se basa en que las huellas digitales espectrales varían entre los microorganismos, algunos picos son específicos del género, otros de la especie y otros, a veces, de las subespecies. Aunque la reproducibilidad de los espectros depende de las condiciones de cultivo de los microorganismos; la mayoría de los espectros de masas del MALDI-TOF se componen de proteínas muy conservadas que son afectadas en un grado mínimo por las condiciones ambientales (Maldonado *et al*,2018).

La identificación de levaduras por EM MALDI-TOF también ha demostrado ser precisa, y permitir la diferenciación de especies estrechamente relacionadas y fenotípicamente indistinguibles, como las pertenecientes al complejo *C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis*. En un estudio se evaluaron 193 aislamientos de levaduras provenientes de muestras clínicas identificados por métodos convencionales (morfología, cultivo en agar cromogénico, sistema

API ID 32C y Vitek 2) y con un EM MALDI-TOF MS. Se encontró una concordancia entre ambos métodos a nivel de especie de 95,38%. Dos aislamientos clínicos previamente identificados como *C. parapsilosis* por métodos convencionales fueron identificados como *C. metapsilosis* y *C. orthopsilosis* por EM MALDI-TOF, resultados que fueron confirmados por secuenciación. En otro estudio realizado con 600 aislamientos de levaduras, de acuerdo con la identificación genotípica, 580 (96,7%) fueron identificadas correctamente a nivel de especie por EM, la técnica fue capaz de discriminar aislamientos pertenecientes a especies que han precisado métodos moleculares para su identificación, como son *C. dubliniensis*, *C. nivariensis*, *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis*, por lo que los autores concluyen que EM MALDI-TOF es un método rápido que permite la identificación rutinaria de la mayoría de las levaduras de importancia clínica, incluidas especies poco frecuentes, así como la diferenciación de especies estrechamente relacionadas y solamente diferenciables por métodos genómicos (Maldonado *et al*,2018).

El método de hibridación in situ de péptidos ácido-nucleicos fluorescentes (PNA-FISH). Este método permite la detección rápida de *Cándida* spp directamente de la botella de hemocultivo. Se utiliza sondas fluorescentes especie específicas y es capaz de identificar las 5 especies de *Candida* dentro de 90 minutos. Cuando se observa bajo el microscopio de fluorescencia, la fluorescencia verde corresponde a *C. albicans* o *C. parapsilosis*, la amarilla a *C. tropicalis*, y fluorescencia roja corresponde a *C. glabrata* o *C. krusei* (Kaur *et al*, 2017).

Figura 1: Esquema de los procesos requeridos para la identificación de microorganismos por MALDI-TOF-MS



Fuente: Maldonado *et al.* (2018).

Una pequeña porción de una colonia bacteriana se deposita directamente sobre una placa metálica conductora. Después de la cristalización de la matriz y el material microbiano, la placa de metal se introduce en el espectrómetro de masas y se bombardea con pulsos de láser breves. Las moléculas ionizadas se aceleran a través de un campo electrostático y son expulsadas a través de un tubo de vuelo de metal sometido a vacío hasta que alcanzan un detector, los iones más pequeños viajan más rápido que los iones más grandes, por lo tanto, los analitos son separados para crear un espectro de masas que está compuesto por picos masa a carga (m/z) con intensidades variables. Un espectro es una firma del microorganismo que se compara automáticamente con una base de datos para la identificación a nivel de género y especie. Los resultados son revisados con base en el valor de puntuación (Bruker) o nivel de confianza (Biomérieux) y, de ser aceptables, son posteriormente exportados o consignados en el sistema de información propio del laboratorio (Maldonado *et al.*, 2018).

Los métodos moleculares son ensayos basados en PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) son comercialmente viables y pueden identificar las especies de levaduras de cultivos positivos con una sensibilidad y especificidad mayor del 98%. Muchos métodos de PCR han sido evaluados para la detección de candidemia. La detección de ADN de *Candida* spp tiene una alta sensibilidad (95-100%) y especificidad (>90%). La PCR tiene ventajas sobre los métodos de detección de antígenos y anticuerpos, debido a que puede identificar las especies de *Cándida* y detectar genes marcadores de resistencia simultáneamente. Entre los métodos moleculares utilizados para realizar la identificación genotípica de las especies de *Cándida* podemos mencionar la secuenciación de las regiones D1/D2 del gen 28S de ARN ribosómico (Ruben *et al*, 2018).

La detección de antígenos fúngicos es detectable en la sangre de pacientes con CI. Estos antígenos fúngicos incluyen el manano, un componente de la pared celular externa de *Cándida* spp, y 1-3- β -D-glucano, encontrado en las láminas medias e la pared celular. La detección de antígeno de manano de *Cándida* spp y anticuerpos antimanano han ganado mayor aceptación. Los datos viables indican que la especificidad de este ensayo para la detección de manano para CI en adultos es excelente (>90%), pero la sensibilidad es pobre (30% a 60%). Pocos estudios han sido conducidos en infantes, aunque el antígeno de manano fue positivo en 11 de 12 infantes con probada CI. La sensibilidad de las pruebas es buena cuando *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. tropicalis* son los agentes etiológicos de la infección invasiva. El manano es pobremente expresado por *C. parapsilosis*, y la sensibilidad del antígeno de manano para esta especie es baja (40%). Las pruebas tienen un valor predictivo negativo alto de 95% y puede ser utilizado para excluir la infección.

La detección de 1-3- β -D-glucano es un marcador para diagnóstico temprano de infección invasiva e iniciación de terapia antifúngica empírica. Como herramienta diagnóstica muestra una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativos promedio de 47-93.3%, 81.3-100%, 9-89% y 73-

100%, respectivamente. Esta prueba no puede distinguir la infección por *Cándida* spp de otras infecciones fúngicas. El valor de 1-3-β-D-glucano tiene un valor pronóstico si las concentraciones disminuyen después de una terapia antifúngica satisfactoria (Kaur *et al*, 2017). Un reciente metaanálisis incluyendo 18 estudios concluye que el ensayo de 1-3-β-D-glucano tiene una sensibilidad de 81% y una especificidad de 81% para el diagnóstico de CI, aunque la mayoría de los datos que fueron incluidos se dieron en adultos. Los niños sanos e infantes tienen concentraciones de 1-3-β-D-glucano mayores que los adultos, lo que sugiere que los cutoffs específico de edad pueden ser necesarios.

Durante las recientes décadas, las pruebas susceptibilidad antifúngica han sido estandarizadas. Estándares americanos y europeos ha sido desarrollados, así como también los sistemas comerciales equivalentes los cuales son más apropiados para los laboratorios clínicos. La detección de cepas resistentes por medio de estos sistemas ha permitido el estudio y conocimiento de las bases moleculares de los mecanismos de resistencia de las especies de hongos a los agentes antifúngicos. Las pruebas de susceptibilidad antifúngica han comenzado a ser herramientas esenciales para guiar el tratamiento de enfermedades fúngicas, conocer la epidemiología local y global de las enfermedades, y para identificar la resistencia antifúngica (Alastruey *et al*, 2015).

Se han desarrollado métodos de pruebas de susceptibilidad antifúngica para levaduras y hongos filamentosos, por medio de los cual la concentración inhibitoria mínima (CIM) para cada agente antifúngico, y es medida y referenciada con puntos de corte clínico. Existen puntos de corte droga y especie específicos para la mayoría de los patógenos, más no existen para microorganismos raros. En ausencia de puntos de corte para hongos raros, los puntos de corte epidemiológicos ayudan definir el límite superior de la población tipo salvaje. Aunque el método de micro dilución en caldo de la Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) es considerado como el estándar de oro fenotípico, este método no siempre es usado como la prueba

de susceptibilidad en los laboratorios clínicos. En general, los puntos de cortes de CIM introducidos por la CLSI para diferentes especies de levaduras contra diferentes antifúngicos son basados en datos de farmacocinética y farmacodinamia, datos de resultados clínicos, distribución de CIM y la presencia o ausencia de mutaciones en los aislados. Otros métodos que son frecuentemente usados incluyen las pruebas de Epsilometría que no presentan un buen rendimiento para probar resistencia de todas las especies de *Cándida* debido al crecimiento de arrastre en algunas especies en la zona de inhibición (Vatanshenassan *et al*, 2019).

Existen diferencias entre los métodos de la CLSI y European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) para determinar las CIM, dando como resultado diferentes puntos de corte. Ambos responden a la respuesta farmacocinética en los modelos animales y pacientes. No siempre existe una absoluta asociación entre la CIM in vitro y la respuesta clínica. Esto se debe a la variabilidad de la respuesta, resistencia a la droga, tratamiento con resultados inciertos, o alta probabilidad de falla del tratamiento. Las pruebas de susceptibilidad antifúngica identifican cepas de hongos que pudieran probablemente causar falla de tratamiento, y proveer información sobre la tendencia en el cambio de susceptibilidad o detectar mecanismos de resistencia a nuevas drogas (Alastruey *et al*, 2015).

2.3 Prevención y Tratamiento: aspectos relevantes del manejo y terapias indicadas

La prevalencia de las infecciones en neonatos e infantes es elevada en los países en vías de desarrollo si la comparamos con la de los países desarrollados. Los principales factores asociados al incremento en esta frecuencia incluyen el personal de salud poco entrenado, hacinamiento en la UCIN, retraso en la alimentación, uso de fórmula en vez de lactancia materna, lavado de manos deficiente, y excesivo uso de antibióticos. Muchas estrategias han sido descritas que podrían disminuir estos serios problemas que impactan

significativamente la tasa de mortalidad neonatal e infantil en países en vías de desarrollo (Vain *et al*, 2012).

Tomando en cuenta todas las IFI, la verdadera incidencia se encuentra alrededor del 10% en infantes con bajo peso al nacer. Los grupos de alto riesgo (RNMBPN) están asociados con una mortalidad atribuible del 20%, daño neurológico de 57%, incremento en el tiempo y costo de hospitalización. La mayor incidencia de CI ocurre en los infantes pretérmino, con un incremento de 20% en infantes con menos de 25 semanas de gestación. La tasa de mortalidad total de candida fue de 28% para infecciones del torrente sanguíneo, 26% para infecciones de tracto urinario, 50% para otros sitios estériles (meningitis y peritonitis). No obstante, si dos o más sitios de cultivos están envueltos (candidemia+infección urinaria o infección urinaria+meningitis) la mortalidad puede alcanzar hasta un 57%. La prevención de la IFI es tan crítica como los factores de riesgo que afectan la mayoría de los infantes pretérmino en la UCIN y la incidencia es inversamente proporcional a la edad gestacional. En pacientes con menos de 1000 g con candidiasis invasiva se encontró una mortalidad de 34% comparado con 14% en pacientes sin candidiasis (Kaufman, 2012).

La prevención de la infección invasiva por *Cándida* es una meta propuesta para cada UCIN. La incidencia de IFI está asociada a una alta mortalidad y daño del neurodesarrollo, de manera que la profilaxis debe ser una estrategia útil en infantes con menos de 1000 g o menos de 27 semanas de gestación. La profilaxis antifúngica es crucial para mejorar la sobrevivencia y el neurodesarrollo de esta población vulnerable. Dos estudios recientes han reportado que de 2 a 4% de las infecciones de vías urinarias (ITU) por *Candida* spp., tienen la misma mortalidad asociada que las infecciones por *cándida* en el torrente sanguíneo de infantes con muy bajo peso al nacer. La meningitis y peritonitis complicada con una perforación focal del intestino y un estadio III de una EN contribuye adicionalmente con 1 a 2% de las IFI en RNMBPN (Kaufman, 2012).

Las IAAS son multifactoriales y las estrategias de prevención implica múltiples intervenciones (Kaur *et al*, 2017; Ramasethu, 2017). Algunas de las estrategias

para prevenir la aparición de sepsis tardía incluyen: mejorar el lavado e higiene de manos, alimentación temprana con leche humana, cuidado meticuloso de la piel, la medicación, limitar el uso y manipulación de dispositivos invasivos, practicas estandarizadas relacionadas a la inserción y cuidado de catéter, profilaxis antifúngica, detección prenatal y erradicación de infección vaginal de la madre (Kaufman, 2010).

- **Lavados de manos:** la higiene de manos es la más importante intervención para interrumpir la transmisión de microorganismos y la prevención de IAAS. La cuenta bacteriana sobre las manos de los trabajadores de la salud puede estar en un rango de 3.9×10^4 a 4.6×10^6 UFC/cm². Esta concentración de microorganismos pudiera incluir patógenos como *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter* spp., *Acinetobacter* spp., y *Candida* spp. Microorganismos viables están presentes sobre las escamas de piel que los humanos liberan diariamente y esta contamina las sábanas, la cama y muebles del paciente por medio de las manos de los trabajadores de la salud si ellos no se lavan las manos antes y después del contacto del paciente. Se ha reportado que la implementación de una agresiva práctica de la higiene de manos en adición a la profilaxis con fluconazol son las medidas más útiles para prevenir la candidemia en infantes pretérmino de menos de 33 semanas en la UCIN que usando solo la profilaxis (Kaufman, 2010).
- **La leche humana y la alimentación enteral temprana:** La enterocolitis necrotizante está asociada con tasas elevadas de infección fúngica (16.5%). El establecimiento de lactancia temprana dentro de los 3 días de vida demuestra una disminución en la tasa de infección fúngica en infantes con menos de 1000 g debido al desarrollo de una microflora favorable en el neonato. La alimentación enteral también promueve el desarrollo de una microflora intestinal saludable. Múltiples estudios han demostrado que la nutrición enteral temprana (dentro de 2 a 3 días del nacimiento) con leche materna cruda no pasteurizada está asociada con una baja tasa de sepsis y de enterocolitis en neonatos pretérmino o con bajo peso al nacer. Es conocido que la lactancia materna disminuye la infección en infantes. Este

efecto está relacionado a la introducción de componentes inmunológicos protectores en la leche materna. La leche humana contiene anticuerpos secretados, fagocitos, lactoferrina y probióticos los cuales mejoran las defensas del huésped y la función gastrointestinal. En los últimos años muchas ciudades han desarrollado programas de bancos de leche (Kaufman, 2010).

- **Cuidado de la línea central (CVC):** El CVC provee un acceso intravascular estable a infantes con bajo peso al nacer quienes necesitan una nutrición o medicación intravenosa. La línea arterial umbilical se utiliza para obtener muestras de sangre y monitorear la presión sanguínea continuamente. Estos dispositivos médicos son esenciales, y su uso incrementa el riesgo de que los pacientes desarrollen una IAAS. La evidencia basada en el cuidado de la línea central ha resultado en una disminución de las infecciones del torrente sanguíneo asociada a catéter. Se ha demostrado una significativa reducción (75%) en el promedio de candidemia en la UCIN debido a la mejora en las prácticas de inserción y mantenimiento de las líneas centrales (Kaufman, 2010).
- **Profilaxis con fluconazol:** La incidencia de la IFI varía significativamente por centro. La variación en la incidencia de IFI y su asociación con pobres resultados puede ser el resultado de como las diferencias en las prácticas clínicas pudieran influenciar los riesgos de adquirir esta enfermedad. Debido a la carga y severidad de la enfermedad asociada con candidiasis neonatal, la prevención de la colonización y de la infección invasiva puede ser beneficiosa. Las especies de *Cándida* colonizan la piel y membranas mucosas del 60% de los neonatos críticamente enfermos y pueden rápidamente progresar a infección invasiva. Siendo las infecciones fúngicas la tercera causa más común de IAAS en neonatos. La terapia antifúngica profiláctica reduce la colonización de la piel, tracto respiratorio y gastrointestinal, y previene la infección invasiva por *candida* en infantes pretérmino con alto riesgo. La profilaxis con fluconazol intravenoso a 3mg/Kg dos veces por semana, ha sido recomendada para infantes

pretérmino con peso al nacer de <1000 gramos o con edad gestacional ≤ 27 semanas, iniciando dentro de los dos primeros días después del nacimiento, y continua hasta que no sea necesario el acceso intravenoso central o periférico. El uso de rutina de fluconazol profiláctico en infantes con peso al nacer <750 g mostro una reducción en la frecuencia de CI comparado con el grupo que no recibió terapia profiláctica, sin ninguna diferencia en la tasa de mortalidad y daño neurológico. El uso de fluconazol profiláctico se ha incrementado en los últimos años en EEUU de 3.8/1000 infantes en 1997 a 110.6/1000 infantes en el 2010. No existe evidencia de desarrollo de resistencia a fluconazol en neonatos, aunque un incremento en la resistencia a fluconazol ha sido documentado en UCI de adultos. Muchos estudios han sido publicados con referencia a la utilidad o no del uso de fluconazol como profiláctico con resultados controversiales. En un estudio conducido en EEUU encontró que la profilaxis con fluconazol es segura y efectiva en reducir la CI y la colonización por *Candida* spp en infantes prematuros, sin impacto en la resistencia (Ericson *et al*, 2016; Ferreira *et al*, 2017; Kaufman *et al*, 2014). No obstante, otro estudio encontró que la profilaxis con fluconazol disminuyo la tasa de colonización fúngica significativamente, pero no fue efectiva en disminuir la IFI en infantes con MBPN. En este estudio se encontró que la profilaxis con fluconazol tiende a incrementar la incidencia de infecciones invasivas por cepas de *C. parapsilosis* resistentes a fluconazol. Esto plantea la necesidad de realizar estudios para medir el efecto a largo término de la profilaxis de fluconazol en la emergencia de microorganismos con resistencia a los antifúngicos (Lee *et al*, 2011).

La nistatina oral y el uso de fluconazol oral e intravenoso ha sido evaluado en muchos estudios como agentes profilácticos. Múltiples evaluaciones internacionales han demostrado reducir la rata de colonización, y cese de los brotes y una reducción de la incidencia. Resultados de más de 14 ensayos clínicos en más de 3,100 neonatos en varias instituciones sugieren que la profilaxis con fluconazol disminuye la colonización de *Cándida* spp en tracto urinario, TGI e integumento, sin promover el desarrollo de

resistencia y eventos adversos. La administración enteral de fluconazol no parece proveer protección contra candidiasis invasiva asociada a catéter venoso central (Shane y Stoll, 2014).

Existe evidencia A-1 que soporta que el uso de profilaxis antifúngica con fluconazol y nistatina para la prevención de CI hace posible prevenir estas infecciones y eliminar la mortalidad y daño neurológico asociado a *Candida*. La profilaxis con fluconazol ha demostrado eficacia sin efectos adversos o el desarrollo de significativa resistencia antifúngica. Este resultado es el que ocurre cuando se inicia la profilaxis en pacientes con < de 1000 g y se inicia dentro de los dos primeros días de vida. La dosis es de 3 mg/Kg/día vía intravenosa iniciado antes de los primeros 5 días de vida, dos veces por semana, hasta las 6 semanas de vida. La profilaxis con fluconazol ha demostrado consistentemente eficacia y seguridad, con una reducción promedio en las IFI de más de 80% y reducción de la mortalidad por *Cándida*. En ausencia de profilaxis más del 60% de los infantes con bajo peso al nacer resultan colonizados entre las primeras 2 o 3 semanas después de nacer. La profilaxis previene la infección invasiva por *Cándida* por decrecimiento de la colonización de la piel, tracto respiratorio y gastrointestinal, de CVC (Kaufman, 2012). El principal punto de conflicto de la profilaxis con fluconazol en neonatos de riesgo es si esta medida podría producir cambios epidemiológicos aumentando el porcentaje de aislados de CNA, lo que podría estar relacionado con un aumento de resistencia a fluconazol (Izquierdo *et al*, 2014).

- **Uso de emolientes tópicos:** El uso de emolientes con aceites vegetales ha sido postulado que mejora la integridad de la piel y su función de barrera previniendo la infección invasiva. Aunque algunos estudios recientes indican que el uso de emolientes no previene la infección invasiva y la muerte en infantes pretérmino (Kaufman, 2010).
- **Neumonía asociada a ventilador (NAV):** La NAV se define usando criterios clínicos, radiológicos y microbiológicos en pacientes que han recibido asistencia con ventilación mecánica a través de un tubo

endotraqueal o traqueotomía por lo menos 48 antes de la aparición de una enfermedad. Mientras que la definición de NAV podría ser insuficiente, es bien conocido que la entubación endotraqueal provoca un daño de la función de aclaramiento mucociliar y la potencial colonización de la tráquea y el tubo endotraqueal de microorganismos de la flora endógena y posiblemente de la flora exógena. En el diagnóstico del paciente neonatal con NAV, los organismos Gram negativos o infección polimicrobiana puede ser predominante, aunque *S. aureus* y *Candida* spp también han sido detectados. La prevención de NAV ha sido aplicado en adultos, pero muchas medidas no pueden ser aplicables a neonatos. Entre las medidas de prevención utilizadas para evitar el desarrollo de NAV: educación del personal, lavado de manos, uso de guantes, minimizar los días de ventilación, prevenir la extubación no planeada y evitar la reentubación, succión de orofaringe, prevenir la distensión gástrica, evitar cambiar el circuito de ventilación a menos que sea necesario, remover las condensaciones del circuito ventilador (Kaufman, 2010).

- **Terapia adyuvante:** los infantes pretérminos son deficientes de inmunoglobulina G, debido a que el transporte de anticuerpos desde madre es troncado por el nacimiento prematuro. Además, la producción endógena de anticuerpos en neonatos inicia alrededor del tercer mes de vida. La inmunoterapia con anticuerpos IgG ha sido evaluada para determinar su eficacia en prevenir la IAAS en infantes pretérmino o con bajo peso al nacer. Los recién nacidos a término por vía vaginal, su intestino es colonizado con bacterias probióticas de la madre como *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, las cuales son cruciales para el desarrollo del sistema inmune de la mucosa intestinal. Los neonatos pretérmino tienen una colonización intestinal anormal, a menudo con bacterias patogénicas y un bajo número de bacterias probióticas. El esfuerzo de repoblar el TGI con suplementos probióticos obedece a un esfuerzo para disminuir la aparición de sepsis tardía, pero los resultados han sido inconsistentes. Los prebióticos u oligosacáridos de leche humana son complejos de carbohidratos que promueven el crecimiento de bacterias beneficiosas (*Bifidobacterium* y

Bacteroides) en intestino de infantes que se alimentan por medio de lactancia materna. La mayoría de las enterobacterias patógenas no pueden utilizar estos oligosacáridos como fuente de energía. Los prebióticos sintéticos como los oligosacáridos de cadena corta y de cadena larga han sido utilizados en combinación para mimetizar los oligosacáridos de la leche humana. La Lactoferrina es una proteína unida a hierro presente en la leche materna a una concentración de 1-3 g/L. Esta proteína limita la cantidad de hierro viable para las bacterias patógenas, promueve el crecimiento de bacterias beneficiosas, y con la lisozima está envuelta en la destrucción de bacterias Gram negativas. El retraso en establecer la nutrición enteral exacerba la concentración de lactoferrina en infantes pretérmino. Se promueve el uso de lactoferrina de origen bovino porque tiene actividad antimicrobiana. La administración de lactoferrina sola o en combinación con probióticos a neonatos con menos de 1500 gramos produjo un descenso en la incidencia de sepsis de aparición tardía. Ensayos clínicos conducidos en neonatos pretérmino demostró un favorable efecto de probióticos conteniendo *Saccharomyces boulardii* sin ninguna evidencia de fungemia o sepsis. Sin embargo, se ha reportado casos ocasionales de fungemia subsecuente al uso de probióticos, cuestionando la seguridad de estos productos. De ahí que, el uso de probióticos con precaución es recomendado en neonatos pretérmino y pacientes inmunocomprometidos (Kaufman, 2010).

- Tamizaje de la candidiasis maternal vaginal y la decolonización: Los neonatos pretérmino son colonizados por *Cándida* spp de la flora maternal. Se ha reportado en países desarrollados una prevalencia de candidiasis vaginal de 14.6% a 42.9% en mujeres embarazadas. El tamizaje y manejo de la colonización vaginal maternal y candidiasis puede ayudar a prevenir la colonización en etapas tempranas (Kaufman, 2010).
- **Restricción de medicación neonatal:** El uso de antibióticos de amplio espectro, especialmente, el uso de cefalosporinas de tercera generación y carbapenemes, inhibidores de ácidos y esteroides en neonatos pretérmino

está relacionado a un incremento del riesgo de infección por *Cándida*. El uso de un aminoglucósido en lugar de las cefalosporinas y carbapenémicos como terapia empírica puede reducir el riesgo de infección por *Cándida*. Existe moderada evidencia que al restringir el uso de bloqueadores H2 para la gastritis y el uso de dexametasona en infantes entubados debido a que está asociada con un incremento del riesgo de infección por *Cándida* y candidemia de hasta un 10% (Kaufman, 2010).

- **Educación y mejoramiento del control de infecciones:** Los trabajadores de la salud son una frecuente fuente transmisión de *Cándida* spp al paciente y del medio ambiente al paciente. Un adecuado lavado de manos reduce la tasa de IAAS y transmisión cruzada. Mejorar el lavado de manos y optimizar el mantenimiento del catéter ayuda a reducir los episodios de sepsis. Una significativa reducción (16.9% a 9.9%) en las IAAS fue registrado después de un programa de promoción de la higiene de manos en un periodo de 4 años llevado a cabo en países desarrollados. El establecer programas de educación que permita periódicamente reentrenar a los trabajadores de la salud respecto al conocimiento de prácticas de prevención y control de infecciones tienen un gran impacto para reducir los episodios de sepsis (Kaufman, 2010).
- **Control de fuentes:** el control de fuentes es implementado para controlar el foco de infección y reducir las condiciones favorables que promueven el crecimiento de microorganismos o que mantienen debilitadas las defensas del huésped. Remover un catéter venoso central o absceso u otra recolección de fluido ayudará a reducir la mortalidad por candidemia. Es recomendado remover el catéter venoso central lo más pronto posible en candidemia en un paciente no neutropénico cuando la presunta fuente puede ser el CVC. En pacientes neutropénicos la decisión de remover el CVC debe ser individualizada, debido a que la fuente de *Cándida* en el este grupo es otra diferente al CVC (Tracto gastrointestinal). El temprano inicio de una apropiada terapia antifúngica y remoción del CVC o drenaje del material infectado está asociada con mejores resultados. No obstante, la

mortalidad en pacientes con candidemia con shock séptico alcanza hasta un 100% si un antifúngico no es administrado dentro de las 24 horas y la fuente no es controlada (Kaufman, 2010).

- **Epidemiología local:** Un amplio rango de variación es observado en la distribución de especies de *Candida* en los países en vías de desarrollo, aun dentro de los países. La información generada por los laboratorios de microbiología debe circular regularmente entre los clínicos y el comité de uso racional de antimicrobianos para la toma de decisiones terapéuticas. Esto ayudará a planificar las estrategias para el manejo local de las candidemias (Kaufman, 2010).
- **Otras estrategias que influyen en la reducción de la mortalidad y morbilidad debido a la candidemia incluyen:** desarrollo y mejoramiento de los métodos diagnósticos micológicos, el uso apropiado de antimicrobianos en la sala de UCIN. Otras estrategias que han sido propuestas para reducir el riesgo de candidiasis invasiva incluyen la descolonización maternal, o terapia empírica para todas las mujeres antes del parto. Limitar el uso de antibióticos de amplio espectro, el uso de un aminoglucósido en lugar de una cefalosporina para la terapia empírica cuando la meningitis o resistencia antimicrobiana es sospechada. Limitar el uso postnatal de esteroides en infantes con MBPN, alimentación enteral temprana, y establecer un microbioma intestinal en el neonato usando leche materna durante la alimentación (Kaufman, 2010).

Las IAAS principales en la UCIN se producen por transmisión cruzada de microorganismos de la mano de profesionales de la salud, de las superficies ambientales, equipos y elementos no críticos contaminados. Para la prevención y control de infecciones hospitalarias en la UCIN es necesario formación de los profesionales para adecuada higiene de manos y la limpieza y desinfección de superficies ambientales, equipos y artículos no críticos. Para garantizar la seguridad de estos RN ingresados en UCIN, es necesario capacitar a los trabajadores en el intento de alcanzarse la concienciación y

cambio de actitud para garantizar prácticas seguras en este ambiente, tanto para el paciente como para el trabajador de la salud (Oliveira *et al*, 2017).

Hoy día, tres principales familias de antifúngicos son usadas en las instalaciones hospitalarias para el tratamiento de infecciones fúngicas: los polienos representados por la anfotericina B, los azoles con muchos derivados como el itraconazol, fluconazol, voriconazol, posaconazol, isavuconazol, y las equinocandinas caspofungina, micafungina y anidulafungina. El incremento en el uso de los antifúngicos ha inducido una alta presión selectiva sobre las cepas de hongos y la resistencia ha emergido en dos vías: algunas especies han desarrollado resistencia secundaria y especies susceptibles han sido reemplazadas por cepas resistentes, cambiando de esta forma la epidemiología de las infecciones fúngicas. Los métodos de susceptibilidad antifúngica están viables para detectar la resistencia antifúngica, para determinar el mejor tratamiento para un hongo específico y conocer la epidemiología de la resistencia antifúngica local y global (Alastruey *et al*, 2015).

La selección de un agente para el tratamiento de una candidemia debería tomarse dentro del siguiente contexto: historia de reciente exposición a drogas antifúngicas o de intolerancia a los antifúngicos, las especies de *Cándida* aisladas y los datos de susceptibilidad antifúngica local, severidad de la enfermedad, comorbilidades relevantes, y evidencia de compromiso del sistema nervioso central, válvulas cardíacas y otros órganos viscerales (Kaur *et al*, 2017). Por ejemplo, en un estudio realizado en China el 2.6% de todos los casos de candidemia fueron producidos por el Complejo *C. guilliermondii*. Los aislados del complejo *C. guilliermondii* es un grupo heterogéneo de especies de levaduras fenotípicamente indistinguibles que incluye: *C. guilliermondii*, *C. fermentati*, *C. carpophila* y *C. xestobii*. La exacta y rápida identificación de los aislados del complejo *C. guilliermondii* a nivel de especie, incluyendo el perfil de susceptibilidad asociado es esencial para guiar la decisión clínica. Los aislados de *C. guilliermondii* demuestran una alta sensibilidad a las equinocandinas, pero algunas cepas podrían demostrar una baja sensibilidad a los azoles y 9.7% de aislados con resistencia cruzada a los azoles. El 100%

de los aislados son sensibles a anfotericina B. La mala identificación de *C. guilliermondii* puede resultar en inapropiado tratamiento, especialmente debido a la alta resistencia asociada con estas especies (Cheng *et al*, 2016).

En neonatos, la anfotericina B deoxicolato es recomendada como la primera elección para candidemia mientras que el fluconazol puede ser una droga alternativa en pacientes sin previa profilaxis con fluconazol. El mayor desafío de la terapia antifúngica en los países en vías de desarrollo incluye el retraso en iniciar la terapia debido al retraso en el diagnóstico, el uso inapropiado de drogas, incorrecta dosis y duración de la terapia antifúngica. La debilidad de un diagnóstico adecuado resulta en una sobreutilización o subutilización de los agentes antifúngicos. El uso de guías de tratamiento procedentes de otros países podría no ser aplicables en nuestros hospitales, debido a que los datos de la epidemiología local son diferentes. La mortalidad en pacientes con candidemia con shock séptico puede alcanzar el 100% si una terapia antifúngica adecuada no se comienza dentro de las 24 horas y si la fuente de infección no es controlada (catéter venoso central) (Kaur *et al*, 2017).

A la hora de elegir el tratamiento de una CI se debe valorar la localización y extensión de la infección, la susceptibilidad *in vitro* del aislado, el mecanismo de acción y la toxicidad relacionada con el fármaco, así como también se debe considerar el uso previo de profilaxis. El tratamiento de una CI en recién nacidos debe iniciarse con un antifúngico con actividad fungicida, siendo indicaciones aprobadas anfotericina B deoxicolato o formulación lipídica y/o equinocandinas como caspofungina o micafungina. Frente a un hemocultivo positivo se recomienda iniciar tratamiento antifúngico con un medicamento fungicida en forma inmediata (anfotericina B o equinocandinas). Se recomienda también además retirar el CVC lo más pronto posible. A las 72 h de haber iniciado el tratamiento se debe controlar el hemocultivo y repetir cada 48 h, hasta tener dos hemocultivos consecutivos negativos (Izquierdo *et al*, 2014).

La candidemia y la CI constituyen infecciones graves, que por supuesto deben tratarse siempre. Los clínicos deben tener en mente dos aspectos de la CI con especial consideración: (1) cuando los riñones están comprometidos esto debería guiar la selección de la terapia antifúngica y (2) el compromiso del sistema nervioso central se debe presumir en infantes con CI (la incidencia de meningoencefalitis excede el 15% en neonatos). Más específicamente, las formulaciones liposomales de anfotericina B no debieran ser usadas para infantes con candidiasis renal, dado que la penetración de este agente dentro del parénquima renal es subóptima. Según la sociedad americana de enfermedades infecciosas, la candidemia sin evidencia de diseminación a órganos debe ser tratada con 3 semanas de terapia antifúngica. Los infantes con meningoencefalitis por *Cándida* spp deben recibir terapia antifúngica hasta que las anomalías del fluido cerebro espinal este resuelta. La endocarditis de válvulas nativas debe ser tratada por 6 semanas o más y pudiera requerir reemplazo de válvulas. El CVC debe ser removido, esto reduce la duración de la candidemia, la tasa de diseminación a órganos y la mortalidad (Kaufman, 2010).

En los estudios de tratamiento no han definido una exacta dosis uniforme combinada con la rápida remoción del CVC para infecciones del torrente sanguíneo. La dosis de deoxycolato de anfotericina B (1mg/kg) y las preparaciones líposomales (5mg/kg) proveen una cobertura para la mayoría de las especies de *Cándida* neonatales. Son la mejor elección terapéutica mientras está pendiente la identificación de la especie. La mayoría de las especies son susceptibles a anfotericina B, y de 95 a 97% de los aislados neonatales son susceptibles a fluconazol (6 mg/kg). Sin embargo, si el fluconazol ha sido usado como profiláctico, un antifúngico diferente debería ser utilizado en el tratamiento (Kaufman, 2010).

El tratamiento con equinocandinas es recomendado como terapia primaria para pacientes con candidemia. Las ratas de resistencia son bajas, pero presentan una atenuación de su actividad a altas concentraciones. Este efecto es conocido como efecto paradójico o águila. El efecto paradójico se define

como un incremento en la densidad óptica de 0.02 comparado con el control de crecimiento en los pocillos conteniendo una concentración de candidinas con al menos dos diluciones de la droga por encima de la CIM. La Micafungina es la droga en el cual el efecto paradójico fue menos frecuencia (Marcos-Zambrano *et al*, 2017).

Se puede utilizar la anidulafungina como marcador sustituto para predecir la susceptibilidad de *Cándida* spp a caspofungina debido a la baja variación interlaboratorio de las CIM. En un estudio donde se utilizó el método de microdilución en caldo y criterios de interpretación especie específico para evaluar 4,290 cepas de *Cándida* spp, incluyendo 71 cepas con mutaciones en las regiones hot spot de los genes *FKS* (genes codificando la enzima glucano sintetasa). Para todas las cepas el grado de acuerdo fue de 97.1% usando anidulafungina como sustituto (Pfaller *et al*, 2014).

En los estudios clínicos neonatales se ha usado 1 a 2 mg/kg (caspofungina), pero datos farmacocinéticos indican que la dosis de 2.5 mg/kg debería ser usada. Para micafungina, datos farmacocinéticos sugieren una dosis de 10 mg/kg. Las equinocandinas pudieran tener una CIM elevada con aislamientos de *C. parapsilosis*; la identificación y la prueba de susceptibilidad debería ser ejecutada con su uso en neonatos. Existe datos limitados para las dosis correctas de anidulafungina. Se requiere datos en neonatos sobre la dosis óptima, patrones de resistencia con respecto a *C. parapsilosis*, seguridad y penetración al sistema nervioso central. La micafungina es la única equinocandina recomendada para utilizar en infecciones del sistema nervioso central, elevando la dosis hasta 15 mg/kg con lo que se logran concentraciones fungicidas en el fluido cerebro espinal y un adecuado perfil de seguridad. La micafungina puede ser utilizado con eficacia y seguridad en neonatos prematuros y no prematuros con infección invasiva por hongos (Manzoni *et al*, 2014). No se recomienda el uso de equinocandinas en las CI con localización encefálica, excepto micafungina.

La anidulafungina, caspofungina, y micafungina tienen actividad fungicida contra *C. glabrata*, *C. braccarensis*, y *C. nivariensis*. La anidulafungina y micafungina requieren entre 13 y 26 h para alcanzar el punto final fungicida (99.9%) contra *C. glabrata* y *C. braccarensis*. Todas las equinocandinas son menos activa contra *C. nivariensis* (Gil-Alonso *et al*, 2015).

Se recomienda el uso de terapia combinada si alguna de las siguientes situaciones está presente: sepsis fúngica con cualquier absceso, cultivo de orina positivo, 10 días continuos con cultivos positivos. El aclaramiento del hongo ocurre en 67% de los casos con monoterapia y 96% de los casos con terapia combinada. La terapia combinada más usada es anfotericina B como agente primario de tratamiento, y fluconazol como segundo agente (Gil-Alonso *et al*, 2015).

La exposición a la droga en forma de profiláctico o terapia por largo tiempo está asociada con emergencia de resistencia. Por ejemplo, *C. auris* ha emergido como agente de IAAS, causando falla terapéutica y diseminación en el ambiente hospitalario. Esta especie es resistente a la primera línea de antifúngicos como fluconazol, exhibiendo susceptibilidad variable al resto de los azoles, anfotericina B y equinocandinas (Chowdhary *et al*, 2016). La resistencia a drogas antifúngicas puede ser primaria (intrínseca) o secundaria (adquirida). La resistencia primaria es encontrada naturalmente en algunos hongos sin previa exposición. Mientras que la resistencia adquirida se produce por exposición a la droga (Perlin *et al*, 2017).

Aún no existen puntos de corte para la susceptibilidad de *C. auris* a los antifúngicos. Esta especie es altamente resistente a fluconazol (CIM90 > 64 mg/L) y un tercio de los aislados presenta una CIM elevada a voriconazol (≥ 2 mg/L) y a anfotericina B. Pocas cepas tienen CIMs elevadas a equinocandinas. Su perfil de resistencia a las tres grandes familias de antifúngicos limita las alternativas terapéuticas. Esta especie se encuentra relacionada genéticamente con *C. haemulonii*, que tiene resistencia intrínseca a anfotericina B y fluconazol. Hasta el momento no se conocen claramente los

mecanismos de resistencia. Al parecer sería inducible por la presión de selección produciendo cambios mutacionales rápidos (Chowdhary *et al*, 2016).

Un estudio genético reciente demostró que esta especie tendría copias únicas de varios genes relacionados con resistencia a los antifúngicos como el gen esterol Δ 5,6-desaturasa (ERG3), lanosterol- α -demetilasa citocromo P450 (ERG11), FKS1, FKS2 y FKS3 además de una mayor proporción de genes de bombas de eflujo de las familias de transportadores de membrana dependientes de ATP (transportadores ABC) y transportadores Major Super Family (facilitadores MSF), que podrían explicar la multiresistencia. Es probable que el uso indiscriminado de antifúngicos se haya traducido en la emergencia de *C. auris* como un patógeno multi-resistente exitoso. Dada las elevadas CIMs a anfotericina B, como terapia de primera línea debieran usarse equinocandinas, con prueba de susceptibilidad antifúngica (Chowdhary *et al*, 2016).

- **Resistencia a los triazoles:** comprende los antifúngicos (Fluconazol, Voriconazol, posaconazol) cuyo blanco es la enzima esterol 14 α -demetilasa citocromo P450, la cual convierte el lanosterol a ergosterol y es codificada por el gen ERG11 en levaduras y Cyp51 en hongos filamentosos. La inhibición de esta enzima en levaduras tiene un efecto fungistático, mientras que hongos filamentosos el efecto es fungicida (Perlin *et al*, 2017).

Los triazoles son recomendados para el tratamiento de aspergilosis, son ampliamente utilizados para el tratamiento de CI y localizada. Los estudios epidemiológicos reportan resistencia a los azoles en medio de las especies de *Candida* spp., y *Aspergillus* spp., mientras que la resistencia a los azoles en medio de *Cryptococcus* spp., permanece rara. Se encontrado altas tasa de resistencia a los azoles en *C. glabrata* y resistencia intrínseca en *C. krusei*. En un programa de vigilancia antifúngica se reporto un incremento en *C. glabrata* como causa de CI, desde 18% entre 1992-2001 a 25% en 2001 a 2007, y un incremento en la resistencia a fluconazol de 9% a 14% sobre el mismo periodo (Perlin *et al*, 2017).

Los mecanismos de resistencia en especies de *Cándida* a este grupo de antifúngicos incluyen sobreexpresión de transportadores de droga, sobre producción o alteración del sitio blanco de la droga, y cambio celular. La inducción de bombas de eflujo ABC y el facilitador MFS, disminuyen la concentración de droga dentro de la célula. Igualmente, la resistencia a azoles puede ser debido a pérdida de la función del gen esterol ERG3 (Alastruey *et al*, 2015; Perlin *et al*, 2017).

Se ha descrito cambios en la expresión del perfil de genes de *C. parapsilosis* asociado con la adquisición de resistencia inducida experimentalmente a los azoles. Tres cepas resistentes de *C. parapsilosis* fueron obtenidas después de una prolongada exposición *in vitro* de los aislados clínicos susceptibles a constantes concentraciones de fluconazol, voriconazol o posaconazol. Se encontró que después de la incubación con fluconazol o voriconazol, las cepas empezaron a mostrar resistencia a ambos azoles, pero no a posaconazol, aunque la susceptibilidad a este disminuyó (Silva *et al*, 2009).

La formación de biopelículas sobre la superficie de dispositivos artificiales como válvulas cardíacas y catéter intravenosos, es otro importante mecanismo que permite la inducción de resistencia de los microorganismos a la droga o evita la acción de la droga. Las biopelículas efectivamente reducen la concentración de la droga por su captura en la matriz polimérica rica en glucano (Perlin *et al*, 2017).

- **Resistencia a equinocandinas:** las equinocandinas son recomendadas como antifúngicos de primera línea para el tratamiento de CI. Existe un incremento en el número de cepas de *C. glabrata* con resistencia a las equinocandinas en los hospitales (Vatanshenassan *et al*, 2019). Drogas como anidulafungina, caspofungina y micafungina son lipopéptidos cuyo blanco es la enzima glucano sintetasa, la cual es clave para biosíntesis de

la pared celular del hongo. Un estimado de 60% de los pacientes con candidemia reciben equinocandinas como tratamiento (Alastruey *et al*, 2015).

El uso de equinocandinas se ha expandido en las últimas décadas, lo cual ha incrementado el potencial para la emergencia de resistencia. Las equinocandinas son altamente activas contra las especies de *Cándida*, pero menos activa contra *C. parapsilosis* y *C. guilliermondii*, no son activas contra *Cryptococcus* spp., *Trichosporon* spp., y *Rhodotorula* spp. La resistencia intrínseca a las equinocandinas ha sido descrita para cepas *C. parapsilosis* y *Cryptococcus neoformans*. Mientras que la mayoría de los casos *C. glabrata* con resistencia a equinocandinas, así como otras especies *C. tropicalis*, *C. albicans* y *C. krusei* han desarrollado resistencia secundaria (Alastruey *et al*, 2015).

Estudios de vigilancia a gran escala en general ha determinado una prevalencia de resistencia de *C. albicans* de menos de 1% y la resistencia en medio de otras especies de *Cándida* es muy baja. La excepción es *C. glabrata* donde reporta resistencia entre 2-4%. La resistencia a equinocandinas en *Cándida* spp., susceptibles puede aparecer después de repetidos o exposiciones a largo termino (Perlin *et al*, 2017).

El mecanismo de resistencia a equinocandinas en *Cándida* spp., incluye adquisición genética de mutaciones en los genes FKS, los cuales codifican para subunidad catalítica del glucano sintetasa. La resistencia a equinocandinas está asociada a sustituciones de aminoácidos en la región hot spot del gen fks1 para todas las *Cándida* spp., y el gen fks2 en *C. glabrata*. Las equinocandinas no son sustratos para transportadores multidrogas, y otros mecanismos, por lo cual no existe resistencia cruzada entre los azoles y equinocandinas. La principal sustitución de aminoácidos en Fks1 ocurre de Ser-641 a Ser-645, y aporta más del 90% de la resistencia a *C. albicans* a las equinocandinas. En *C. glabrata* las sustituciones de aminoácidos en ambos genes Fks1 y Fks2 ocurren, pero es más frecuente en el gen Fks2. La resistencia mediada por el Fks está

asociada con resultados clínicos pobre, y la presencia de una mutación en FKS es mejor que la CIM sola en la predicción de la respuesta clínica (Alastruey *et al*, 2015; Perlin *et al*, 2017).

El análisis de secuenciación ha sido realizado para evaluar la presencia de las mutaciones FKS, las cuales confieren resistencia a las equinocandinas en especies de *Cándida*. Y se ha encontrado que 3.9% de los aislados de *C. albicans* y *C. orthopsilosis* contienen mutaciones en la región hot spot FKS, incluyendo mutaciones heterocigotas en el gen FKS1 (Taj-Aldeen *et al*, 2018). La secuenciación de las regiones Hot Spot 1 y Hot Spot 2 de los genes FKS1 y FKS2 detecto 14% de cepas de *C. glabrata* con resistencia a las equinocandinas (Vatanshenassan *et al*, 2019).

En otro estudio se reporto que 62 aislados de *C. albicans* (4 aislados), *C. tropicalis* (5 aislados), *C. krusei* (4 aislados), *C. kefyr* (2 aislados) y *C. glabrata* (47 aislados) no fueron detectados no susceptible, intermedios o resistentes a caspofungina y anidulafungina. El 83.8% de las cepas contenían mutación de los genes FKS1 o FKS2. Aunque 12 de los mutantes (*C. glabrata*, *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei*) fueron clasificados como susceptible para ambos antifúngicos (Pfaller *et al*, 2014).

- **Resistencia a los polienos:** Los polienos son los antifúngicos más antiguos, e incluye la anfotericina B y la nistatina. La anfotericina B fue aprobada en 1957 para el tratamiento de IFI. Los polienos se unen al ergosterol, un esteroles específico de los hongos, en la membrana citoplasmática. Esta unión causa la formación de un canal dependiente de la concentración que mata a la célula por medio de la pérdida de iones y otros componentes celulares. La anfotericina B es usualmente fungicida, y la resistencia típicamente envuelve la selección de las cepas menos susceptibles durante la terapia. El mecanismo de resistencia a anfotericina B ha sido asociado con la disminución del contenido ergosterol en la membrana fúngica, principalmente debido a alteraciones en la biosíntesis de ergosterol. También, ha sido sugerido que la resistencia a anfotericina

B pudiera estar relacionado por la disrupción de la mitocondria. La resistencia adquirida durante la terapia es rara. Las mutaciones en los genes ERG1, ERG2, ERG3, ERG4, ERG6 y ERG11 demostró conferir un rango de resistencia a los polienos (Perlin *et al*, 2017).

Entre los organismos con resistencia intrínseca a anfotericina B se encuentra *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. haemulonii*, *C. lusitaniae*, *Trichosporon spp.*, *Sporothrix schenckii*, *Scedosporium spp.*, *Fusarium spp.*, *A. nidulans*, *A. terreus*, *A. flavus* y *A. lentulus*. La resistencia adquirida a los polienos se ha desarrollado en algunas cepas *Cryptococcus spp.*, y *Cándida spp.* La resistencia a anfotericina B es rara, sin embargo, reportes de CIM elevados, o pobre resultados terapéuticos o ambos han sido reportados para *C. albicans*, *C. krusei*, *C. rugosa*, *C. lusitaniae*, *C. glabrata* y *C. auris* mutlidrogo resistente (Alastruey *et al*, 2015; Perlin *et al*, 2017).

El impacto potencialmente devastador de las infecciones invasoras por especies de *Cándida* multi-resistentes en pacientes hospitalizados en los servicios clínicos no debe ser desestimado. Se requiere continuar aportando información al conocimiento de la epidemiología global de esta infección emergente y de cómo prevenirla.

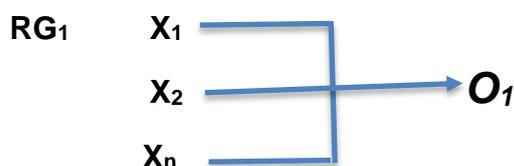
CAPÍTULO III

CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO

3.1 Diseño de investigación y tipo de estudio

El diseño de investigación propuesto en este trabajo es no experimental de una sola medición. El cual incluyó pacientes con fungemia hospitalizados en la sala de UCIN del HDNDr.JRE. Se evaluó la relación que existe entre el desarrollo de fungemia en neonatos con los diferentes factores de riesgo clínicos y microbiológicos asociados tales como: Vía de nacimiento, peso al nacer, edad gestacional, tiempo de estadía en la UCIN, ventilación mecánica, presencia de catéter venoso central, administración de nutrición parenteral, terapia antifúngica, tipo de antifúngico, cirugía abdominal y terapia con antibióticos de amplio espectro, género y especie de *Cándida* y patrones de resistencia a los antifúngicos (Hernández *et al*, 2014).

Diseño de Investigación



RG₁: Grupo único de pacientes seleccionados a juicio que desarrollaron fungemia durante el periodo de la investigación.

X: Representa un grupo de variables dependientes a los que son expuestos los pacientes neonatos y que predisponen el desarrollo de fungemia. Estas variables se conocen como factores de riesgo clínicos y microbiológicos. Un factor de riesgo es cualquier rasgo, característica o exposición de un individuo que aumente su probabilidad de sufrir una enfermedad o lesión (Echemendía, 2011).

O₁: Representa el fenómeno de investigación que es el desarrollo de fungemia en neonatos. Para medir la fungemia se utilizará el cultivo

de sangre de neonatos con sospecha clínica sepsis temprana o tardía.

El tipo de estudio es transversal descriptivo porque se va a analizar la relación que existe entre los factores de riesgo y la fungemia durante un periodo de tiempo; descriptivo porque detalló todos los factores de riesgo asociados a fungemia neonatal, y correlacional porque se midió la relación entre factores de riesgo y la fungemia.

3.2 Población o Universo

Población: incluyo un total de 7,056 neonatos que fueron admitidos en la sala de neonatología del HDNDr.JRE entre enero de 2014 y diciembre de 2016. El número de neonatos admitidos en la UCIN en los años 2014, 2015 y 2016 fue de 2,766; 2,110 y 2,180 respectivamente para cada año.

Sujeto: en el 2014 se presentaron 72 episodios de fungemia con evidencia de hemocultivo positivo, de los cuales se incluyó en el estudio 39 pacientes. En el 2015 se observó 127 episodios de fungemia con evidencia de hemocultivo positivo, y se incluyó en el estudio 65 pacientes. En año 2016 hubo en la UCIN 69 episodios de fungemia con evidencia de hemocultivo positivo, incluyendo en el estudio 38 pacientes. El total de pacientes ingresados en el estudio fue de 142.

Tipo de muestreo estadístico: no probabilístico por conveniencia, fueron elegidos los pacientes con fungemia entre enero de 2014 a diciembre de 2016 ingresados en la UCIN del HDNDr.JRE. Para la selección de los pacientes se utilizó los siguientes criterios de inclusión y exclusión

- **Criterio de inclusión:** los pacientes con fungemia por *Cándida* spp., u otro organismo levaduriforme, sólo un episodio de la misma especie de *Candida* por paciente fue ingresado. Para los pacientes con fungemia con sucesivos episodios de infecciones fúngicas del torrente sanguíneo

en el tiempo, subsecuentes episodios fueron incluidos si ellos ocurrieron al menos 30 días después o fueron causados por especies diferentes a las previamente reportadas (Astvad *et al*, 2018).

- **Criterio de exclusión:** cultivos que fueron considerados contaminados o pacientes con un segundo aislamiento de la misma especie de *Cándida* dentro de un periodo de 30 días. Aislamientos de *Cándida* spp., procedentes de otros sitios anatómicos.

3.3 Variables

Variable 1: Fungemia

Definición Conceptual: presencia de hongos en el torrente sanguíneo (Murray *et al*, 2008).

Definición Operacional: presencia de un cultivo positivo por levaduras en sangre (Aliaga *et al*, 2018). Prueba de hemocultivo positivo y cuyo agente infeccioso aislado es una especie de *Cándida* u otro organismo levaduriforme identificado a nivel de género y especie con su respectivo perfil de susceptibilidad antifúngico.

Variable 2: Tiempo de estancia hospitalaria

Definición conceptual: número de días de estancia hospitalaria.

Definición operacional: días de hospitalización consignados en el expediente clínico.

Variable 3: Estancia en cuidados intensivos

Definición conceptual: número de días de estancia en la UCIN.

Definición operacional: días de hospitalización en la UCIN consignados en el expediente clínico.

Variable 4: Uso de ventilación mecánica

Definición conceptual: estrategia terapéutica en la que se apoya o se reemplaza mecánicamente la ventilación pulmonar espontánea. La ventilación mecánica puede ser no invasiva en la que se usan máscaras como el uso de presión positiva continua de la vía aérea (CPAP por sus siglas en inglés), o invasiva que requiere intubación endotraqueal.

Definición operativa: días totales de ventilación mecánica invasiva o no invasiva (CPAP) durante la estancia intrahospitalaria consignados en el expediente clínico.

Variable 5: Uso de antibióticos de amplio espectro

Definición conceptual: los antibióticos pueden ser categorizados por la actividad de su espectro, siendo de espectro estrecho, amplio y extendido. Los de amplio espectro son efectivos contra bacterias Gram positivas y Gram negativas.

Definición Operativa: paciente que tenga consignado en expediente clínico uso de meropenem, vancomicina, piperacilina tazobactam y ciprofloxacina.

Variable 6: Uso de aminoglucósidos

Definición conceptual: antibióticos que inhiben la síntesis proteica de los microorganismos, son relativamente tóxicos en comparación con otras clases de antibióticos, pero siguen siendo útiles para tratar infecciones causadas por bacterias Gram negativas aerobias.

Definición operacional: uso de gentamicina en los pacientes que cumplieran con los criterios de inclusión establecidos.

Variable 7: Uso de profilaxis con fluconazol

Definición conceptual: uso profiláctico del fluconazol en neonatos menores de 1500 g a dosis de 3 mg/kg a partir del tercer día de vida cada 48 h hasta completar 20 dosis.

Definición operacional: Uso de fluconazol profiláctico consignado en el expediente clínico.

Variable 8: Uso de nutrición parenteral

Definición conceptual: la nutrición parenteral total consiste en la administración de calorías, aminoácidos, electrolitos, minerales, vitaminas, oligoelementos y fluidos vía parenteral en pacientes con compromiso gastrointestinal que hace imposible o peligroso el uso de la nutrición enteral. Debido a la alta carga osmótica de las soluciones parenterales se requiere un acceso venoso central para iniciar la administración.

Definición operacional: uso y días de nutrición parenteral consignados en el expediente clínico.

Variable 9: Uso drogas inhibidores de H2

Definición conceptual: drogas que inhiben la secreción de ácido gástrico, reduciendo el volumen y el contenido de ácido y pepsina de la secreción. Con dosis de carga de 1.5mg/kg dosis y luego 1.5 a 2 mg/kg/días divididos cada 12 h.

Definición operacional: uso consignado de inhibidores de H2 en los pacientes que cumplieran con los criterios de inclusión previamente establecidos.

Variable 10: Uso esteroides

Definición conceptual: corticoides postnatal en recién nacidos en riesgo o con displasia broncopulmonar, mejoría de la función pulmonar, disminución de la duración de ventilación mecánica y de la oxigenoterapia, disminución del riesgo de desarrollar una displasia broncopulmonar tanto a los 28 días como las 36 semanas de edad postconcepcional.

Definición operacional: manejo con corticoides en los pacientes que cumplieran con los criterios de inclusión previamente establecidos.

Variable 11: Uso de cateterización vascular

Definición conceptual: la obtención de un acceso vascular en el recién nacido es imprescindible en las unidades de cuidados intensivos neonatales, tanto para la infusión de fármacos, fluidos o nutrición parenteral, como para la monitorización hemodinámica del niño. La canalización venosa central se puede realizar vía umbilical los primeros días de vida y de forma percutánea, ya sea directamente (técnica de Seldinger) o por vía periférica (técnica de Jonathan Shaw).

Definición operacional: utilización de líneas umbilicales, catéter venoso central o catéter percutáneo en neonatos.

Variable 12: Presencia de candidemia persistente

Definición conceptual: persistencia de hemocultivos positivos a las 72 h del inicio de un tratamiento antifúngico efectivo.

Definición operacional: paciente con hemocultivos positivos por *Cándida* spp., 72 h luego de haber iniciado tratamiento.

Variable 13: Presencia de patología gastrointestinal

Definición conceptual: anormalidades congénitas o adquiridas del tracto gastrointestinal y de los órganos accesorios de la digestión, hígado, vesícula biliar y páncreas.

Definición operacional: una o más de las siguientes patologías: Atresia intestinal, gastrosquisis, onfalocele, malformación anorrectal, fístula traqueoesofágica, enfermedad de Hirschprung y enterocolitis necrotizante.

Variable 13: Cirugía

Definición conceptual: técnica terapéutica que consiste en la intervención física de los tejidos del paciente a través de una incisión realizada por el personal certificado o a través de un defecto o herida previa en el paciente.

Definición operacional: corrección de defectos de pared abdominal, anomalías gastrointestinales, defectos cardiovasculares, patologías intraabdominales, oftalmológicas y del sistema nervioso central.

Variable 14: Enterocolitis necrotizante

Definición conceptual: es una enfermedad grave que afecta a recién nacidos, en especial prematuros, con una incidencia y morbimortalidad elevados. Constituye la urgencia gastrointestinal más frecuente en la sala de UCIN. Se presenta como un síndrome gastrointestinal y sistémico que comprende síntomas variados y variables, como distensión e hipersensibilidad abdominal, sangre en heces, intolerancia a la alimentación, apnea, letargia, y en casos avanzados acidosis, sepsis, coagulación intravascular diseminada y shock.

Definición operacional: paciente con diagnóstico consignado en el expediente de enterocolitis necrotizante que además cumplen los criterios de inclusión.

Variable 15: Prematuridad

Definición conceptual: se considera nacimiento prematuro o pretérmino todo parto que se produce antes de completarse la semana 37 de gestación, independientemente del peso al nacer (OMS).

Definición operacional: todo paciente ingresado a la sala de neonatología del HDNDr.JRE con diagnóstico de prematuridad consignado en el expediente.

Variable 16: Bajo peso al nacer

Definición conceptual: pacientes neonatos con peso al nacer menor de 1000 g.

Definición operativa: pacientes neonatos que al momento del ingresar a la sala de UCIN se consignó en el expediente un peso menor de 1000 g.

3.4 Instrumentos y técnicas de recolección de datos y/o materiales

- **Registros médicos:** se utilizó para obtener los datos demográficos, datos clínicos de los pacientes con fungemias y factores de riesgos asociados.
- **Registros de laboratorio:** se utilizó para obtener los datos microbiológicos de los aislados de Cándida (número de cultivos, género y especie de Cándida, perfil de susceptibilidad).
- **Formulario No.1 (ver anexo):** formulario de recolección de datos clínicos y epidemiológicos.
- **Base de datos de Excel-2010:** se preparó una base de datos que, incluyendo el nombre del paciente, registro médico o cédula de identidad personal, procedencia, edad, sexo, tipo de infección,

organismo, número de examen, fecha de admisión, sitio de aislamiento, lugar anatómico, puntos de corte para prueba de susceptibilidad y criterios de interpretación. Además, se utilizó para almacenar datos como vía de nacimiento, peso al nacer, edad gestacional, tiempo de estadía en la UCIN, ventilación mecánica, presencia de catéter venoso central, administración de nutrición parenteral, terapia antifúngica, cirugía abdominal y terapia con antibióticos de amplio espectro.

3.5 Procedimientos

Fase 1. El protocolo de investigación fue presentado al comité de bioética del HDNDr.JRE para su aprobación y ejecución. Además, fue necesario obtener una certificación de buenas prácticas hospitalarias. La investigación no requirió obtener un consentimiento informado debido a los pacientes se les ordeno su cultivo de sangre como parte del tratamiento aplicado durante su estancia hospitalaria.

Fase 2. Los hemocultivos positivos de todos pacientes y episodios con frotis de Gram compatibles con estructuras fúngicas como blastoconidias, hifas y pseudohifas fueron inoculados en medios de agar sangre, agar Mc Conkey, agar Sabouraud y agar mycosel. Los platos fueron incubados a 35°C, entre 24 a 48 h en condiciones aerobias. Se realizó una identificación y pruebas de susceptibilidad de todos los aislados levaduriformes usando el Vitek2 compact siguiendo el procedimiento declarado por el fabricante.

Fase 3. Recolección y almacenamiento de cepa: las cepas seleccionadas para el estudio fueron inoculadas en un criovial con leche baja en colesterol. Desde un subcultivo de agar Sabouraud se hizo un inóculo masivo del aislado de *Cándida* al criovial con leche baja en colesterol. Cada criovial fue identificado con su respectivo número de cultivo y almacenado en una caja a una temperatura de menos 80°C.

Fase 4. Preparación de las cepas para los análisis del estudio: las cepas almacenadas fueron pasadas desde el criovial de almacenamiento a un agar Sabouraud, y luego fueron incubadas a 37°C por 24-48 h. Luego del periodo de incubación se realizó una inspección de cada placa de agar para verificar si hubo o no crecimiento de microorganismos. En caso de crecimiento se procedió a realizar otro subcultivo en agar Sabouraud.

Fase 5. Identificación de los aislados de *Cándida spp.*, usando el método de espectrofotometría de masa MALDI-TOFF: se tomo una colonia del agar Sabouraud y se inoculó el pocillo de una placa de reacción para preparar un extendido circular de la cepa. Luego se agregó 0.5 µl de ácido fórmico sobre el extendido de la cepa y se dejó secar a temperatura ambiente. Se agregó 1 µl de CHCA sobre el extendido y se dejó secar a temperatura ambiente. Se programo todas las cepas preparadas usando módulo VITEK-MS de preparación y se envió la placa programada al módulo adquisición. Se programo la placa en el módulo adquisición del VITEK-MS y se introdujo la placa en la rejilla de placas del espectrofotómetro de masa. Se acciono la tecla de empezar y el equipo inició en análisis de las cepas programadas. Se validó y se aprobó sólo las identificaciones con más de 85% de identidad para cada cepa.

Fase 6. Ejecución de pruebas de susceptibilidad usando tiras en un gradiente de concentración de antifúngicos por el método de difusión en placas de agar Muller Hinton suplementado con 2% de dextrosa y 0.5 µg/mL de azul de metileno: se preparó suspensión de levaduras con una concentración 0.5 McFarland usando un 1 mL de solución salina fisiológica 0.85% con una cepa de *Cándida* cultivada en agar Sabouraud. Se inoculó con un hisopo estéril la suspensión sobre la superficie de un plato de agar Muller Hinton suplementado con dextrosa y azul de metileno. La inoculación fue realizada en tres direcciones para asegurar que toda la superficie del agar fuera cubierta. Se colocó la tira de MIC Test Strip (Liofilchem, Italia) sobre la superficie del agar para los siguientes antifúngicos: Caspofungina, anidulafungina, micafungina, fluconazol, posaconazol, voriconazol,

anfotericina B. Los platos se incubaron a 35°C por 24-48 h. Se realizó la lectura de los platos de agar a las 24 horas, excepto para *C. galabrata* y *C. tropicalis* que se confirmaron a las 48 h. La interpretación de los resultados se realizó usando los criterios de CLSI y EUCAST que se detallan en la tabla No. 3 (Ver anexo).

Fase 7. Análisis datos y estadísticos: se cálculo los indicadores epidemiológicos como tasa de incidencia de fungemia, tasa de mortalidad, tasa de letalidad, proporción para cada factor de riesgo, proporción de hallazgos clínicos, proporción de secuelas y eventos adversos, elaboración de gráficos de frecuencia de especies de Cándida, elaboración de perfiles de resistencia, y elaboración de un antifunjoograma para cada especie de Candida. Para las comparaciones de las tasas de incidencia, tasas de mortalidad general, tasas de letalidad por fungemia se propuso un análisis inferencial de las proporciones independientes. Se uso el error estándar de la diferencia calculada con un a valor p mezclado. Se utilizó la prueba Z para el contraste de las proporciones mediante la aproximación a la distribución normal. El valor Z mayor de 2.0 o menor de -2.0 fue considerado estadísticamente significativo. Para realizar las comparaciones se utilizó el programa estadístico EPIDATA versión 4.6. Para este análisis y asegurar la independencia de las observaciones, solamente un caso por paciente fue incluido.

CAPÍTULO IV

CAPÍTULO IV: ANÁLISIS Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Un total de 138 aislados de 268 episodios y 142 pacientes con fungemia fueron incluidos en el periodo de enero de 2014 a diciembre de 2016. En el año 2014 se presentó 72 episodios de fungemia en 39 pacientes. En el año 2015 se observó 127 episodios de fungemia en 65 pacientes, y 69 episodios en 38 pacientes en 2016. Los datos se organizaron para dar respuesta a las Hipótesis, objetivos específicos, objetivo general y problema de investigación.

Hipótesis de Investigación.

Hipótesis de nula: No existe incremento en la tasa de incidencia de fungemia entre el año 2014, 2015 y 2016 con un nivel de significancia estadística del 5%.

Hipótesis alterna: Existe incremento en la tasa de incidencia de fungemia entre el año 2014, 2015 y 2016 con un nivel de significancia estadística del 5%.

Se plantea la hipótesis nula donde no existía un incremento en la tasa de incidencia de fungemia entre el año 2014, 2015 y 2016 con un nivel de significancia estadística del 5%. Se calculó las tasas de incidencias por cada año de estudio, y se encontró que la tasa de incidencia de fungemia fue de 1.3 casos/1000 admisiones (39/2,937) en el año 2014, de 3.0 casos/1000 admisiones (65/2,110) en el 2015 y de 1.7 casos/1000 admisiones (38/2,180) en el año 2016. Estos datos demuestran un incremento en las tasas de incidencias de 2015 y 2016 con respecto al año 2014. Sin embargo, fue necesario realizar comparaciones para determinar si las diferencias encontradas en las tasas de incidencias eran significativas estadísticamente.

Objetivos Específicos

En cuanto a los objetivos de esta investigación, el primero fue: Estimar y comparar la tasa anual de incidencias de fungemia.

Con el propósito de cumplir el primer objetivo, se realizó una comparación de las tasas de incidencia por medio de un análisis inferencial de las proporciones independientes obtenidas en los tres años de estudio. Para evaluar la diferencia entre dos proporciones independientes (tasa de incidencia), se usó el error estándar de la diferencia calculada con un valor de p mezclado. Para el contraste de las dos proporciones se empleó la prueba Z, que, mediante la aproximación a la distribución normal, calculó el estadístico de contraste para la diferencia de proporciones. Con base a este análisis se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre tasa de incidencia de fungemia registrada en el 2014 comparada con la del año 2015 (Valor estadístico Z de -4.00, valor p 0.00; límite inferior -0.025 y límite superior -0.008, con un nivel de confianza de 95%). De igual forma, la tasa de incidencia de fungemia registrada en el 2015 vs el año 2016 presentó una diferencia estadísticamente significativa (Valor estadístico Z de 2.861, valor p 0.004; límite inferior 0.004 y límite superior 0.023, con un nivel de confianza de 95%). No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre la tasa de incidencia de fungemia registrada en el 2014 vs la observada en el 2016 (Valor estadístico Z de -1.383, valor p 0.167; límite inferior -0.012 y límite superior 0.002, con un nivel de confianza de 95%). Además, la tasa de incidencia acumulada en los 3 años de estudio fue de 1.9 casos/1000 admisiones (142/7,227). El análisis comparativo de las tasas de incidencia demuestra que en el hospital ha ocurrido un incremento estadísticamente significativo de los casos de fungemia durante los tres años de estudio donde se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna que señala que existe un incremento en la tasa de incidencia de fungemia entre el año 2014, 2015 y 2016 con un nivel de significancia estadística del 5%.

En resumen, las tasas de incidencia obtenidas en nuestro estudio fueron de 1.3, 3.0 y 1.7/1000 admisiones en los años 2014, 2015 y 2016, respectivamente. Estos datos no solo describen un incremento estadísticamente significativo en la tasa de incidencia de fungemia, sino que también nos permite comparar los datos con otras regiones geográficas. Donde se reportó que la incidencia de candidemia pediátrica en las UCIN de países

en vías de desarrollo estaba en el rango de 0.026 a 4.2 casos/1000 admisiones (Kaur *et al*, 2017). Si se compara este dato con tasa de incidencia promedio de 1.9 casos/1000 admisiones, nos ubica en el rango esperado para países en vías de desarrollo. No obstante, si se compara con el rango de 0.043 a 0.47 casos/1000 admisiones reportada en países desarrollados, se observa un incremento significativo en la tasa de fungemia promedio e individual durante los tres años de estudio.

El rango de incidencia de fungemia reportado en América Latina fue de 1.01-2.63 (Kaur *et al*, 2017), y el promedio en este trabajo fue de 1.9 casos, manteniéndose dentro del rango reportado. Sin embargo, en el 2015 la incidencia alcanzo una cifra de 3.0 casos/1000 admisiones, un valor por encima del rango esperado para toda la región. Estos investigadores reportaron un aumento considerable en las últimas décadas en la incidencia de candidemia, de igual manera se ha obtenido un aumento significativo en los 3 años consecutivos de estudio.

Por el contrario, lo que ocurrió en el HDNDr.JRE, difiere de lo observado en un hospital de México que reportó en un periodo de 4 años de estudio, una disminución de la incidencia anual de fungemia de 3.6 casos/1000 admisiones a 1.4 casos (Aliaga *et al*, 2018). Estos investigadores reportaron un aumento en el uso de fluconazol profiláctico y una disminución en el uso de antibióticos de amplio espectro. En el presente estudio se observo un aumento de casos en un periodo de 3 años con más del 90% de los pacientes utilizando al menos un antibiótico de amplio espectro. Dentro de la red Latinoamericana de infecciones fúngicas invasoras se reporto una incidencia de candidemia de 0.81/1000 admisiones (Izquierdo y Santoloya, 2014), la cual es significativamente más baja que la reportada en este estudio. Por otro lado, en un hospital de Costa Rica se reportó una incidencia acumulada de 1.47 casos/1000 pacientes egresados (Villalobos *et al*, 2015), ligeramente por debajo de lo reportada en este trabajo. Al comparar la tasa de incidencia de fungemia del HDNDr.JRE con la de los países desarrollados y con la de nuestra región, se observa que la tasa promedio reportada en este trabajo está por

encima de las reportadas en otros países. Esto permite concluir, que no solo se ha encontrado un incremento en la tasa de fungemia neonatal en la UCIN durante periodo 2014, 2015 y 2016 en el HDNDr.JRE, sino que también existe un incremento con respecto a otras instalaciones de salud de la región. Estos resultados demuestran un incremento en la tasa de incidencia de fungemia si se compara con las tasas reportadas por otros países de la región.

Entre otros datos durante el periodo de estudio, se encontró que la tasa de mortalidad general fue de 10.22% (300/2,937) en año 2014, de 11.04% (233/2,110) en el 2015 y de 12.0% (262/2,180) en el año 2016. No se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre tasa de mortalidad general registrada en el 2014 comparada con la del año 2015 (Valor estadístico Z de -0.944, valor p 0.345; límite inferior -0.026 y límite superior 0.009, con un nivel de confianza de 95%). Además, no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre la tasa de mortalidad general registrada en el 2015 vs la observada en el año 2016 (Valor estadístico Z de -1.000, valor p 0.317; límite inferior -0.029 y límite superior 0.009, con un nivel de confianza de 95%). Sin embargo, si se observó una diferencia estadísticamente significativa entre la tasa de mortalidad general del año 2014 vs la del 2016 (Valor estadístico Z de -2.041, valor p 0.041; límite inferior -0.036 y límite superior -0.001, con un nivel de confianza de 95%). La tasa de mortalidad general corresponde a todos los neonatos que fallecieron en la UCIN, indistintamente de la causa de muerte. La tasa de mortalidad incremento durante los tres años del estudio. Sin embargo, el incremento encontrado no fue estadísticamente significativo entre los años consecutivos, pero al comparar la tasa de mortalidad del año 2014 vs el año 2016, si se observa un incremento estadísticamente significativo. Entre el 2006 y 2009 se reportó una tasa promedio de sepsis temprana de 0.98/1000 nacidos vivos, con una tasa de casos fatales de 16% (Shane y Stoll, 2014). Es importante señalar que la tasa de infecciones y de caso fatales incrementó con el decrecimiento de la edad gestacional y del peso al nacer.

Por tal razón, se calculó la tasa de letalidad por fungemia, la cual fue de 47.37 (18/38), 68.25 (43/63), y 64.71(22/34) /100 casos, en los años 2014, 2015 y

2016, respectivamente. Se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre la tasa de letalidad por fungemia registrada en el 2014 comparada con la del año 2015 (Valor estadístico Z de -2.079, valor p 0.038; límite inferior -0.405 y límite superior -0.013, con un nivel de confianza de 95%). No hubo diferencia estadísticamente significativa entre tasa de letalidad por fungemia registrada en el 2015 vs la observada en el 2016 (Valor estadístico Z de 0.355, valor p 0.723; límite inferior -0.162 y límite superior 0.233, con un nivel de confianza de 95%). No se observó diferencia estadísticamente significativa entre la tasa de letalidad por fungemia entre el año 2014 vs 2016 (Valor estadístico Z de -1.478, valor p 0.139; límite inferior -0.399 y límite superior 0.052, con un nivel de confianza de 95%). La tasa de letalidad de fungemia acumulada en los tres años fue de 61.5/100 casos (83/135). Hammoud y col. (2013), reportaron una tasa de letalidad por candidiasis neonatal entre 15 y 60%; y Solís y Ayala (2014), registraron una tasa de letalidad entre 25 y 50%. Rueda y col. (2010), realizaron un estudio para medir el impacto de la profilaxis a fluconazol en reducir la candidiasis neonatal reportando una tasa de letalidad de 67%. Si bien, es cierto la tasa de letalidad reportada en diferentes estudios oscila entre un rango de 15 y 60%, la tasa registrada en este estudio excede el rango máximo reportado por otros investigadores. La tasa de letalidad de 68.25% reportada en el 2015, ha sido la más alta registrada en el HDNDr.JRE, por encima de la reportada por Rueda y col. (2010), y también la más alta en este periodo de estudio.

La tasa de mortalidad por fungemia en neonatos según la edad gestacional fue de 93.02% (40/43) en neonatos con menos de 26 semanas de gestación, de 57.90% (22/38) en neonatos con edad gestacional entre 28 y menos de 32 semanas, de 31.03% (9/29) en neonatos con 32 o más semanas de gestación, y de 46.43% (13/28) en neonatos que tenían más 36 semanas de edad gestacional. Se encontró una diferencia estadísticamente significativa al comparar la tasa de mortalidad por fungemia entre neonatos con menos de 26 semanas de gestación y neonatos con 28 a 32 semanas de gestación (Valor estadístico Z de 3.724, valor p 0.000; límite inferior 0.177 y límite superior 0.526, con un nivel de confianza de 95%). La diferencia, también, fue

estadísticamente significativa cuando se comparó la mortalidad en neonatos con menos de 26 semanas de gestación con el grupo de neonatos con más de 32 (Valor estadístico Z de 5.533, valor p 0.000; límite inferior 0.435 y límite superior 0.805, con un nivel de confianza de 95%), y 36 semanas de gestación (Valor estadístico Z de 4.411, valor p 0.000; límite inferior 0.266 y límite superior 0.666, con un nivel de confianza de 95%), respectivamente. Estos resultados indican que entre menor es la edad gestacional aumenta el riesgo de mortalidad por fungemia. Claramente, se establece que existe una relación inversa entre la edad gestacional y la mortalidad por fungemia. Según estos resultados, la prematuridad es un factor de riesgo que impacta de forma importante la mortalidad por fungemia muy por encima de lo reportado por otros investigadores. En otro estudio se reportó que el 50% de las infecciones ocurrieron en neonatos con menos de 25 semanas de gestación o peso al nacer menor de 750 gramos (Ramasethu et al, 2017). En este estudio el 93.0% de los neonatos con fungemia tenía menos de 26 semanas de gestación.

La tasa de mortalidad por fungemia en recién nacidos con bajo peso al nacer fue de 1.63 casos/1000 nacidos vivos (118/7,227). La tasa de mortalidad por fungemia en neonatos según su peso al momento de nacer fue de 86.9% (53/61) en neonatos con menos de 1000 g, de 40.6% (13/32) en neonatos con peso menor de 1500 g, de 40.0% (10/25) en neonatos con menos de 2500 g, y de 40.0% (8/20) en neonatos con peso al nacer mayor de 2500 g. Se encontró una diferencia estadísticamente significativa cuando se comparó la tasa de mortalidad por fungemia en neonatos con menos de 1000 g al nacer y los neonatos con peso de 1000 a 1500 g (Valor estadístico Z de 4.699, valor p 0.000; límite inferior 0.273 y límite superior 0.653, con un nivel de confianza de 95%). También, fue observada una diferencia estadísticamente significativa en los neonatos nacidos con menos 2500 g (Valor estadístico Z de 4.461, valor p 0.000; límite inferior 0.259 y límite superior 0.679, con un nivel de confianza de 95%) o más de 2500 g (Valor estadístico Z de 4.220, valor p 0.000; límite inferior 0.238 y límite superior 0.700, con un nivel de confianza de 95%), respectivamente, cuando se comparó con la tasa de los neonatos con menos de 1000 g. La diferencia en la tasa de mortalidad por fungemia no fue

estadísticamente significativa entre los grupos de menos de 1500, menos de 2500 y más de 2500 g. La tasa de mortalidad en neonatos con menos de 1000 g de peso al nacer y menos de 28 semanas de gestación fue de 94.9% (37/39), Tabla 3. Esto indica que cuando un neonato con menos de 1000 g de peso al nacer y menos de 28 semanas de gestación es admitido en la sala de UCIN su probabilidad de sobrevivir es de aproximadamente 5%. Dicho en otras palabras, 9 de cada 10 pacientes que presente ambos factores de riesgo, bajo peso al nacer y prematuridad, tiene una tasa de mortalidad de 95%. Otros investigadores señalan que los neonatos pretérmino en extremo (<28 semanas) y con MBPN tienen múltiples comorbilidades y enfrentan desafíos como la prematuridad, infecciones, hemorragias, enterocolitis necrotizante, síndrome de distrés respiratorio y anomalías de los ductos arteriosos que aumentan el riesgo de mortalidad (Ramasethu *et al*, 2017). En un estudio realizado por Chang y col. (2013), se reportó que la incidencia de fue de 1.6-3.0% en neonatos con MBPN, pero de 15-20% en neonatos con un extremo muy bajo peso al nacer (EMBPN). Según estos autores, los neonatos pretérmino y con bajo peso al nacer presentan diferentes comorbilidades que condicionan el desarrollo de la fungemia. En caso de neonatos con peso extremadamente bajos, la mortalidad es más alta, y los datos presentados en este estudio indican que la mayor mortalidad se observó en neonatos con menos de 1000 g de peso al nacer. La mortalidad por CI en infantes con menos de 750 g de peso al nacer reportada por otro investigador alcanzo hasta un 50% (Kelly *et al*, 2015), la mortalidad alcanzada en este estudio fue de 86.9%, muy por encima de lo reportado por otros autores.

Tabla 2: Indicadores Epidemiológicos Relacionados a Fungemia por año

INDICADORES EPIDEMIOLOGICOS	AÑO		
	2014	2015	2016
Tasa de incidencia de fungemia	1.3	3.0	1.7
Tasa de letalidad de fungemia	47.37	68.25	64.71
Tasa de mortalidad general	10.22	11.04	12.00

Fuente: Características Clínicas, Microbiológicas e Epidemiológicas de especies de *Cándida* asociadas a fungemia en la sala de Neonatología, Hospital de Niño Dr. José Renán Esquivel, periodo 2014-16.

La tasa de letalidad por especie fue de 53.19% (25/47) para *C. albicans* vs 64.87% (24/37) para miembros del complejo *C. parapsilosis*. Se encontró que la diferencia entre la tasa de mortalidad producida por *C. albicans* no fue estadísticamente significativa a la tasa de mortalidad producida por los aislados de *C. parapsilosis* (Valor estadístico Z de -1.077, valor p 0.281; límite inferior - 0.327 y límite superior 0.093, con un nivel de confianza de 95%). En algunos estudios la mortalidad asociada con CI causada por *C. albicans* fue más alta que la causada por *C. parapsilosis* (Kelly *et al*, 2015), indicando que *C. albicans* fue más patógena que otras especies de *Cándida*. Pero a pesar de que *C. albicans* parece tener más factores de virulencia que otras especies de *Candida*, en el HDNDr.JRE *C. parapsilosis* resultó producir mayor mortalidad que *C. albicans*, aunque la diferencia en la mortalidad no fue significativa.

El **segundo objetivo** fue: Describir las especies de *Cándida* más frecuentes aisladas en pacientes con fungemia.

En el segundo objetivo se busco determinar la frecuencia correcta de distribución de especies de *Candida* asociadas a fungemia neonatal del HDNDr.JRE debido a las limitaciones que presentan los métodos fenotípicos de identificación. Por tal motivo, se hizo una identificación proteómica de los 138 aislados incluidos en el estudio y se determinó que *C. parapsilopsis* sensu stricto fue la especie más aislada con 59.4% de todos los aislados en el año 2014, seguido de *C. albicans* con 34.4%, *Kadomea ohmeri* y *C. orthopsilosis*

con 3.1% cada una. En el año 2015 *C. parapsilosis* sensu stricto permaneció como la especie más frecuente con un 71.2%, seguido de *C. albicans* (15.4%), *C. glabrata* (5.8%), *C. tropicalis* (3.8%), *C. orthopsilosis* (1.9%), *Trichosporum asahii* (1.9%). Finalmente, en año 2016 se encontró que *C. albicans* (48.4%) fue la especie más frecuente de todos los aislados seguido de *C. parapsilosis* sensu stricto con 37.9%. Otras especies aisladas en el año 2016 fueron *Trichosporum asahii* (6.9%), *C. tropicalis* (3.4%) y *C. orthopsilosis* (3.4%).

En contraste a la frecuencia de aislamiento obtenida en este estudio en el 2014 y 2016, un análisis actualizado de 896 aislados de levaduras asociados con 872 episodios de fungemia en pacientes hospitalizados encontró que *C. albicans* (45.8%) fue la principal especie identificada, seguido de especies del complejo *C. parapsilosis* (26.4%), *C. glabrata* (12.3%), *C. tropicalis* (7.3%), *C. krusei* (2.3%), otras especies de *Candida* (3.1%) y especies de levaduras no *Cándida* (2.8%) (Diaz *et al*, 2021). Estos resultados son comparables con la frecuencia obtenida en el año 2016.

Un número importante de estudios han reportado que *C. albicans* es la principal especie aislada en pacientes con candidemia, seguido de *C. parapsilosis* (Guzzetti *et al*, 2017; Kelly *et al*, 2015; Swanson *et al*, 2014). La mayoría de los estudios coinciden que las levaduras más comunes son *C. albicans* y *C. parapsilosis* (Arias *et al*, 2015; Shane y Stoll, 2014). En contraste con lo reportado en este estudio, donde se encontró que *C. parapsilosis* aún permanece como la especie más aislada en el HDNDr.JRE (Nieto *et al*, 2014), excepto en el año 2016 donde *C. albicans* fue la especie de mayor frecuencia de aislamiento. Este cambio de la distribución de especies de *C. parapsilosis* por *C. albicans* podría ser el resultado del incremento en uso de equinocandinas en el tratamiento de pacientes con fungemia.

Una correlación negativa fue encontrada entre el uso de equinocandinas y voriconazol y la incidencia de candidemia por *C. parapsilosis*, y entre el uso de caspofungina y la incidencia de candidemia por *C. guilliermondii*. En contraste,

una correlación positiva fue observada entre el uso de equinocandinas y la incidencia de candidemia de *C. tropicalis*. En otro contexto, una correlación positiva fue observada entre el uso de azoles y la incidencia de candidemia por *C. glabrata* y por especies de CNA, y el uso de itraconazol y la incidencia de *C. parapsilosis* y *C. guilliermondii*. El incremento del uso de fluconazol esta asociada con el incremento de candidemia debido a especies de CNA. En conclusion, el impacto del consumo de agentes antifungicos sobre la incidencia de candidemia causada por diferentes especies de Cándida, varia conforme al agente antifúngico utilizado. El aumento o disminución en el uso de un determinado agente antifúngico podría cambiar la frecuencia de aislamiento de especies de candida asociadas a fungemia neonatal (Lai *et al*, 2012).

Otros autores concuerdan que, en medio de las especies de CNA, *C. parapsilosis* es reconocida como una importante causa de CI en pacientes neonatos (Chow *et al*, 2013). En este estudio, se logró identificar dos de tres especies que conforman el complejo *C. parapsilosis* que incluye: *C. orthopsilosis*, *C. metapsilosis*, y *C. parapsilosis* sensu stricto la cual resulto ser la especie más frecuente de las tres. Los miembros del complejo *C. parapsilosis* en particular, colonizan a los neonatos en semanas después que *C. albicans*, lo cual es consistente con lo observado, que los miembros de este complejo en rara ocasiones son responsables de la sepsis de aparición temprana.

Existe evidencia que señala una variación geográfica en la infección por miembros del complejo *C. parapsilosis* que incluye una baja incidencia en Europa y una alta incidencia en Norte América y Australia, sin ningún dato de América Latina (Pammi *et al*, 2013). Los resultados presentados aquí podrían indicar que al igual que en Norte América y Australia, en América Latina se presenta una alta incidencia de candidemia por *C. parapsilosis* sobre todo en hospitales pediátricos. Este aumento en la incidencia podría estar relacionado a la formación de biopelículas el cual es un factor de virulencia significativo para los miembros del complejo *C. parapsilosis*. Que, en sinergia con la prematuridad, la colonización previa y cateterización son factores de riesgo

importantes que podrían explicar su incremento en este hospital. Finalmente, se pudo señalar que las especies de *Cándida* aisladas con mayor frecuencia en pacientes con fungemia hospitalizados en el HDNDr.JRE son *C. parapsilosis* sensu stricto y *C. albicans*.

También, se comparó los resultados de la identificación fenotípica realizada previamente con el sistema Vitek2, con los resultados de la identificación proteómica usando el sistema Vitek MS y se encontró un porcentaje de concordancia entre ambos métodos de 85.7%, 73.1% y 96.6%, para el año 2014, 2015, y 2016 respectivamente (Tabla 4 y Gráfico 1). En el año 2014, hubo 7 aislados que fueron mal identificadas como *C. tropicalis* (4) *C. guilliermondii* (2), y *C. dubliniensis* (1) usando el analizador Vitek2. La mayoría fue identificada correctamente usando el analizador Vitek MS como miembros de complejo *C. parapsilosis*. En el año 2015, se identificó de forma incorrecta 6 cepas como *C. albicans*, 1 cepa como *C. lusitaniae*, 1 cepa como *Stephanoascus ciferrii*, 1 cepa como *Cryptococcus laurenti* y 1 cepa no fue identificada a nivel de especie. En su lugar, fueron identificadas de forma correcta 6 cepas del complejo *C. parapsilosis*, 3 cepas de *C. glabrata* y 1 cepa de *Trichosporum asahii*. En el año 2016, solo 1 cepa fue identificada de forma incorrecta como *C. tropicalis* y reclasificada como *C. albicans*. Como se pudo observar, la mayoría de los errores de identificación utilizando métodos fenotípicos ocurren cuando se aíslan cepas inusuales o de baja de frecuencia de aislamiento. Es importante destacar, que los porcentajes de acuerdo entre ambos métodos variaron durante el periodo de estudio. Esto pudo haber ocurrido por limitaciones en el analizador fenotípico Vitek2 para identificar especies de *candida* inusuales y pudo haber mejorado sobre los años, producto de las actualizaciones anuales que se realiza en la base de datos de microorganismos que se utiliza para realizar las identificaciones fenotípicas.

La importancia de la identificación exacta de levaduras a nivel de especie se debe a que generalmente las especies fúngicas que producen infecciones en humanos presentan perfiles conocidos de susceptibilidad a los antifúngicos. Estos perfiles de susceptibilidad orientan al clínico al momento de iniciar una

terapia fúngica cuando no es posible contar con las CIMs. Errores de identificación son extremadamente peligrosos porque podrían inducir al clínico a utilizar una terapia antifúngica inadecuada. Por ejemplo, la identificación incorrecta de *C. lusitaniae* por el analizador fenotípico Vitek2 puede inducir no utilizar la anfotericina B como tratamiento al saber que esta especie presenta resistencia natural a este antifúngico. Otro ejemplo sería no identificar correctamente aislados clínicos de *C. glabrata*, esto podría inducir al clínico a utilizar fluconazol como tratamiento a pesar de que esta especie tiene resistencia elevada a los azoles y su uso no está indicado como agente de primera línea.

Otras publicaciones han demostrado que el analizador Vitek2 puede confrontar problemas de identificación de los aislamientos clínicos de especies de *Candida*. Un trabajo realizado con 36 cepas que fueron identificadas como *C. auris* con el analizador Vitek2, 31 de ellas fueron identificadas de forma definitiva como *C. auris* utilizando el método de espectrofotometría de masa Vitek MS y el método de secuenciación (Ramos *et al*, 2018). Cabe señalar que diversos estudios han reportado identificaciones erróneas usando sistemas fenotípicos como el Vitek2 u otros. Las principales limitaciones de los métodos fenotípicos son el tiempo necesario para realizar una identificación y la dificultad que enfrentan para diferenciar microorganismos poco reactivos, muy parecidos entre ellos o de difícil crecimiento (Hernández *et al*, 2016). Como por ejemplo los miembros del complejo *C. parapsilosis*, los cuales representan la principal causa de fungemia en este hospital.

Muchos de estos problemas se han resuelto con el advenimiento de la espectrofotometría de masa. Los métodos proteómicos demuestran ser una técnica más robusta por la rápida y exacta identificación de las especies de *Candida* (Kathuria *et al*, 2015). Otros opinan que la espectrofotometría de masa proporciona una información precoz, muy importante para el manejo clínico de las bacteriemias y fungemias (Rodríguez *et al*, 2016).

Con la implementación de la espectrofotometría de masa para la identificación de microorganismos en este hospital, se ha logrado reducir los errores de

identificación y realizar una identificación más rápida. Esto permitió optimizar las pruebas de susceptibilidad al poder seleccionar de forma rápida los antibióticos y antifúngicos correctos para el microorganismo identificado. Además, se logró identificar y separar los miembros del complejo *C. parapsilosis*, que por métodos fenotípicos es imposible. Se pudo identificar especies *C. parapsilosis* sensu stricto, *C. orthopsilosis* sin ningún aislamiento de *C. metapsilosis*. También, se logró identificar correctamente un aislamiento de *Trichosporum asahii* que generalmente en nuestro nosocomio se presenta con resistencia a todas las equinocandinas. Así como también, aislados de *C. glabrata* que presentan porcentajes de resistencia a fluconazol elevados.

Algunos autores señalan que el uso de fluconazol como profiláctico en neonatos podría generar un punto de conflicto, sobre todo por el riesgo de cambios epidemiológicos como el aumento de aislamientos de CNA y la aparición de cepas con resistencia a fluconazol. Finalmente, estos cambios podrían afectar la identificación correcta de especies de candida debido al aumento de cepas inusuales cuando se usan métodos fenotípicos para la identificación de microorganismos.

El **tercer objetivo** fue: Describir los principales factores de riesgo asociados al desarrollo de fungemia.

Como tercer objetivo se describió los factores de riesgo más frecuentes reportados en la literatura. En cuanto las características demográficas de los sujetos de estudio, se encontró que el 60.1% de los pacientes fueron del sexo masculino. El 61.6% de los nacimientos fueron por vía vaginal y el 38.4% por cesárea. En este contexto, Sawnsen y col. (2014), encontraron que los neonatos de sexo masculino son más propensos a tener CI que los del sexo femenino, y que el nacimiento vaginal fue un factor de riesgo significativo para el desarrollo de infección. En nuestro grupo de estudio más del 60% de los neonatos eran del sexo masculino y nacieron por vía vaginal. Los neonatos del sexo masculino y nacimiento vaginal junto con la edad gestacional y el peso al nacer han sido descritos como factores de riesgo predictores de infección

fúngica. No se conoce porque razón los neonatos del sexo masculino son más propensos a desarrollar fungemia que los neonatos del sexo femenino. En otro aspecto, el nacimiento vaginal y recibir antibióticos durante la primera semana de vida incrementa el riesgo de CI en los subgrupos de menos de 28 semanas de gestación. Es claro que el nacimiento vaginal promueve la colonización temprana del neonato con la flora polimicrobiana residente en la vagina de la madre.

La colonización por *Cándida* se considera un factor de riesgo de progresión a CI. El porcentaje de neonatos pretérmino colonizados que desarrollaron una CI varía entre 7 y 28% (Kaur *et al*, 2017). Sin embargo, aunque la colonización por especies de *Cándida* por sí sola no es suficiente para el desarrollo de infección fúngica, su coexistencia con otros factores de riesgo incrementa el riesgo de CI. El tamizaje y manejo de la colonización vaginal maternal y candidiasis vaginal puede ayudar a prevenir la colonización en etapas tempranas (Kaufman, 2010).

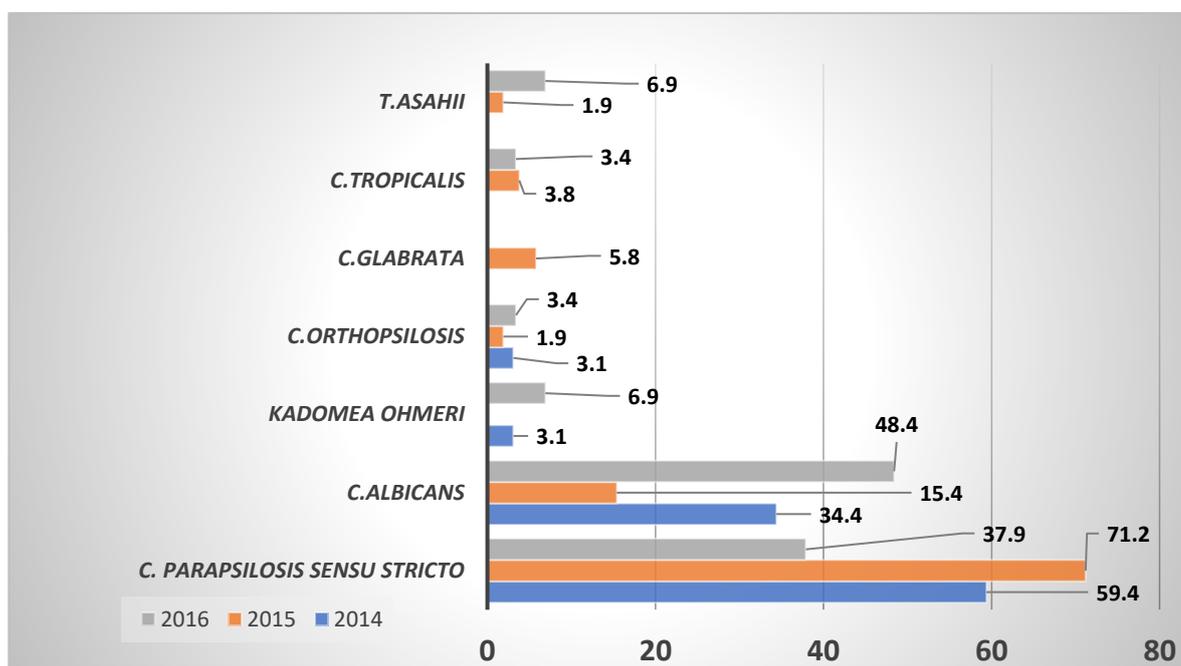
Otro factor de riesgo que se evaluó fue la edad gestacional y el peso del neonato al nacer. Se encontró que el 79.7% (110/138) de los pacientes fueron prematuros. La distribución de los neonatos según la edad de gestación fue de 31.2% (43/138) en neonatos con menos de 28 semanas de gestación, neonatos entre 28 y menos de 32 semanas de gestación 27.5% (38/138), y 21.0% (29/138) en neonatos con 32 a 36 semanas de gestación. Solo el 20.3% (28/138) de los sujetos de estudio tenían más de 36 semanas de gestación al momento de nacer. La prematuridad es uno de los más relevantes problemas en la perinatología moderna, contabilizando altas tasas de mortalidad y morbilidad en medio de infantes sin anormalidades congénitas. El nacimiento pretermino ocurre en aproximadamente 11% de los embarazos, y contabiliza el 70% de la muerte neonatal y 50% de las secuelas neurológicas, incluyendo la parálisis flácida (Pereira *et al*, 2009).

Tabla 3: Frecuencia de aislados de especies de candida asociados a fungemia entre el periodo 2014 al 2016 identificados por VITEK2 versus VITEK-MS.

AÑO 2014			
Microorganismos	Vitek2	Microorganismos	Vitek MS
<i>C. parapsilosis complex</i>	42.9(15/35)	<i>C. parapsilosis sensu stricto</i>	59.4 (19/32)
<i>C. albicans</i>	34.2 (12/35)	<i>C. albicans</i>	34.4 (11/32)
<i>C. tropicalis</i>	11.4 (4/35)	<i>Kadomea ohmeri</i>	3.1 (1/32)
<i>C. guilliermondii</i>	5.7 (2/35)	<i>C. orthopsilosis</i>	3.1 (1/32)
<i>Kadomea ohmeri</i>	2.9 (1/35)		
<i>C. dubliniensis</i>	2.9 (1/35)		
Porcentaje de concordancia		85.7% (30/35)	
AÑO 2015.			
Microorganismos	Vitek2	Microorganismos	Vitek MS
<i>C. parapsilosis complex</i>	61.6 (32/52)	<i>C. parapsilosis sensu stricto</i>	71.2 (37/52)
<i>C. albicans</i>	26.9 (14/52)	<i>C. albicans</i>	15.4 (8/52)
<i>C. tropicalis</i>	3.9 (2/52)	<i>C. glabrata</i>	5.8 (3/52)
<i>C. lusitaniae</i>	1.9 (1/52)	<i>C. tropicalis</i>	3.8 (2/52)
<i>Stephanoascus ciferrii</i>	1.9 (1/52)	<i>C. orthopsilosis</i>	1.9 (1/52)
<i>Cryptococcus laurenti</i>	1.9 (1/52)	<i>Trichosporum asahii</i>	1.9 (1/52)
<i>Candida spp.</i>	1.9 (1/52)		
Porcentaje de concordancia		73.1% (38/52)	
AÑO 2016.			
Microorganismos	Vitek2	Microorganismos	Vitek MS
<i>C. parapsilosis complex</i>	41.4(12/29)	<i>C. parapsilosis sensu stricto</i>	37.9 (11/29)
<i>C. albicans</i>	44.8 (13/29)	<i>C. albicans</i>	48.4 (14/29)
<i>C. tropicalis</i>	6.9 (2/29)	<i>Trichosporum asahii</i>	6.9 (2/29)
<i>Trichosporum asahii</i>	6.9 (2/29)	<i>C. tropicalis</i>	3.4 (1/29)
		<i>C. orthopsilosis</i>	3.4 (1/29)
Porcentaje de concordancia		96.6% (28/29)	

Fuente: Características Clínicas, Microbiológicas e Epidemiológicas de especies de *Candida* asociadas a fungemia en la sala de Neonatología, Hospital de Niño Dr. José Renán Esquivel, periodo 2014-16.

Gráfico 1: Frecuencia de distribución de aislados de especies de *Cándida* en la UCIN desde el 2014 al 2016, HDNDrJRE



Fuente: Características Clínicas, Microbiológicas e Epidemiológicas de especies de *Candida* asociadas a fungemia en la sala de Neonatología, Hospital de Niño Dr. José Renán Esquivel, periodo 2014-16.

La distribución de acuerdo con el peso al nacer fue de 44.2% (61/138) en neonatos con menos de 1000 g, 61.2% (93/138) con menos de 1500 g, 85.5% (118/138) con menos de 2500 g, y con más de 2501 g de peso al nacer el 14.5% (20/138) de los neonatos (Tabla 5).

En un estudio conducido por Shane y col. (2014), se describe una tasa de sepsis tardía de 24% en infantes de 400 a 1500 g de peso al nacer y de 36% en infantes con 22 a 28 semanas de gestación. En contraste, la tasa encontrada en este estudio fue de 61.2% para neonatos con un peso al nacer menor de 1500 g y una tasa de 31.2% de neonatos con menos de 28 semanas de gestación. Para ambos factores de riesgo las tasas encontradas fueron más elevadas que las reportadas por otros autores.

Tabla 4: Porcentaje de distribución de pacientes según la semana de gestación y peso al nacer

N=138	Semanas de gestación			
	<28	28-31.9	32-36	>36.1
% de pacientes	31.2	27.5	21.0	20.3
N=138	Peso al nacer (g)			
	<1,000	<1,500	<2,500	>2,501
% de pacientes	44.2	61.2	85.5	14.5

Fuente: Características Clínicas, Microbiológicas e Epidemiológicas de especies de *Cándida* asociadas a fungemia en la sala de Neonatología, Hospital de Niño Dr. José Renán Esquivel, periodo 2014-16.

Los neonatos pretérmino y con bajo peso al nacer presentan múltiples comorbilidades y enfrentan desafíos que los condiciona a la aparición de infecciones como la fungemia (Kaur *et al*, 2017). En el grupo de estudio cerca del 80% de los pacientes fueron considerados pretérmino, y el 31.2% del total de neonatos pretérmino fueron considerados neonatos pretérmino extremo al nacer con menos de 28 semanas de gestación lo cual los hace más propensos a desarrollar fungemia. La CI causa una importante morbilidad y mortalidad en infantes con prematuridad (Swanson *et al*, 2014). De manera que en los pacientes con bajo peso al nacer y menos de 28 semanas de gestación las infecciones fúngicas debe ser un evento esperado al igual que infecciones por otros microorganismos (Kaufman, 2012). La tasa de infección esta inversamente relacionada al peso al nacer y la edad gestacional. Una tasa de 50% de candidemia en neonatos con menos de 25 semanas de gestación y menos de 750 g de peso al nacer fue reportada por Ramasethu y col. (2017). En este estudio se encontró una tasa más elevada que las encontradas por estos investigadores.

El 100% de los pacientes con fungemia tenían más de 7 días de estancia hospitalaria. El tiempo de estadía en la UCIN está fuertemente relacionada al riesgo de desarrollar CI, con una incidencia que puede variar entre 2.4 a 20.4% (Kelly *et al*, 2015). Calving y col. (2011), reportaron como factor de riesgo para el desarrollo de fungemia la estadía prolongada en la UCI. El 100% de los pacientes de este estudio estuvieron más de 7 días de estancia hospitalaria.

La mayoría de los neonatos prematuros tendrán largas estancias hospitalarias, de manera que lo esperado es que múltiples infecciones ocurran durante su hospitalización.

El 94.9% (131/138) de los pacientes utilizaron ventilación mecánica, este es un procedimiento que promueve la colonización de microorganismos desde la mucosa oral al tracto respiratorio bajo. Kelly y col. (2015), reportaron que la presencia del tubo endotraqueal incrementa el riesgo de CI por más del 50%.

En cuanto a la administración de antibióticos de amplio espectro para el tratamiento profiláctico y terapéutico de los sujetos de estudio. El porcentaje de pacientes que recibieron aminoglucósidos fue de 99.3% (137/138), meropenem 80.0% (109/138), piperacilina tazobactam 87.7% (121/138), vancomicina 28.3% (39/138), ciprofloxacina 15.2% (21/138). El 79.3% (102/138) de los pacientes recibieron durante su estancia hospitalaria al menos tres antibióticos de amplio espectro (aminoglucósidos, meropenem y piperacilina tazobactam) y 13.8% recibieron 4 antibióticos de amplio espectro incluyendo la ciprofloxacina (Tabla 6).

Es importante señalar que la terapia antimicrobiana incrementa la densidad de colonización de *Cándida* spp. por reducción de la presión competitiva de bacterias comensales. Sobre todo, por el uso de antibióticos de amplio espectro como cefalosporinas de tercera generación (Hsieh *et al*, 2012). A pesar de que en la UCIN del HDNDr.JRE no se utiliza cefalosporinas de tercera generación, el uso de otros antibióticos de amplio espectro podría estar causando un efecto similar afectando la microbiota neonatal. Se encontró que el 99% de los pacientes incluidos en el estudio usaron al menos un antibiótico de amplio espectro como es el caso de la gentamicina. Lausch y col. (2018), encontraron que el 90.5% de los pacientes de su estudio recibieron antibióticos, lo cual es un porcentaje menor que el encontrado en este estudio. La exposición de neonatos con bajo peso al nacer a antibióticos de amplio espectro y el retraso en la alimentación enteral, son factores que incrementan la susceptibilidad a la candidiasis. También, el número de antibióticos

administrados y días de administración han sido asociados con un incremento del riesgo de candidemia. El registro de datos del presente estudio indica que el 79.3% de los pacientes recibieron durante su estancia hospitalaria al menos tres antibióticos de amplio espectro (aminoglucósidos, meropenem y piperacilina tazobactam) y 13.8% recibieron 4 antibióticos incluyendo la ciprofloxacina. El uso excesivo de antibióticos podría ser más perjudicial que beneficioso para el paciente. La alteración del microbiota neonatal por exposición antibióticos ha sido sugerida como un mecanismo que favorece el desarrollo de CI. La alteración de la microbiota nativa puede permitir pobres resultados no sólo para los pacientes con fungemia, sino también para otros neonatos en la UCIN a través de transmisión horizontal de patógenos multidrogo resistentes (Chang *et al*, 2013; Hsieh *et al*, 2012).

El 59.4% (82/138) de los pacientes ingresados en el estudio recibieron fluconazol como profiláctico. El 31.2% (43/138) recibieron fluconazol con tratamiento y el 90.0% (120/138) de los pacientes recibieron anfotericina B como tratamiento para la fungemia (Tabla 6). Como se mencionó anteriormente la profilaxis con fluconazol ha sido recomendada en neonatos pretérmino con peso al nacer de menos de 1000 g o con una edad gestacional menor de 27 semanas, iniciando dentro de los dos primeros días después del nacimiento. El uso de rutina de fluconazol profiláctico ha mostrado en otros estudios una reducción en la frecuencia de CI, sin ninguna diferencia en la tasa de mortalidad y daño neurológico. Cerca del 60% de los sujetos de estudio desarrollan CI a pesar de haber recibido fluconazol como profiláctico. Los datos de las pruebas de susceptibilidad realizadas en el laboratorio usando el método Vitek2 no muestra evidencia de desarrollo de resistencia a fluconazol ($\leq 5\%$), en contraste los datos obtenidos en este estudio usando el método epsilometría revelan una susceptibilidad menor del 50%. El contraste entre ambos resultados genera dudas sobre la utilidad del uso de fluconazol como agente profiláctico para prevenir y tratar a pacientes con riesgo de desarrollar infecciones fúngicas.

Tabla 5: Porcentaje de antimicrobianos aplicados a neonatos durante la estancia hospitalaria en la UCIN

Antimicrobiano	% de Pacientes Tratados
Aminoglucósidos	99.3
Meropenem	80.0
Piperacilina Tazobactam	87.7
Vancomicina	28.3
Ciprofloxacina	15.2
Más 3 antimicrobianos	79.3
Más 4 antimicrobianos	13.8
Profilaxis con Fluconazol	59
Tratamiento con Fluconazol	31
Tratamiento Anfotericina B	90

Fuente: Características Clínicas, Microbiológicas e Epidemiológicas de especies de *Cándida* asociadas a fungemia en la sala de Neonatología, Hospital de Niño Dr. José Renán Esquivel, periodo 2014-16.

Muchos estudios han sido publicados con referencia a la utilidad o no del uso de fluconazol como profiláctico con datos muy controversiales. Rueda y col. (2010), reporto una reducción de la incidencia de fungemia neonatal de 7.0% a 1.2%. Los datos presentados en este trabajo indican que la estrategia pareciera no haber sido efectiva en disminuir la incidencia de fungemia neonatal en los últimos años. El uso de fluconazol como profiláctico se ha incrementado en los últimos años en los EEUU, y de igual forma ha pasado en el HDN Dr. JRE. Varios autores han propuesto que el uso de profilaxis con fluconazol es una estrategia segura y efectiva en reducir la CI y la colonización por especies de *Cándida* en neonatos prematuros, sin impacto en la resistencia (Ericson *et al*, 2016; Ferreira *et al*, 2017; Kaufman *et al*, 2014). No obstante, en otro estudio se encontró que la profilaxis con fluconazol disminuyo la tasa de colonización fúngica significativamente, pero no fue efectiva en disminuir la IFI en neonatos pretérmino. Por otro lado, se ha reportado que la profilaxis con fluconazol tiende a incrementar la incidencia de IFI por cepas miembro del complejo *C. parapsilosis* resistentes a fluconazol. Estos resultados demuestran que en los últimos años se ha experimentado un incremento en la incidencia de candidiasis, siendo *C. parapsilosis* sensu stricto la especie aislada con

mayor frecuencia. Luego de 10 años de la implementación de la profilaxis con fluconazol no se conoce claramente cuál ha sido los resultados a largo plazo de esta medida en neonatos con bajo peso al nacer. Desde el punto de vista de Lee y col. (2016), surge la necesidad de medir el efecto a largo plazo de la profilaxis con fluconazol en la emergencia de microorganismos resistentes. Estos resultados sugieren la aparición de cepas con resistencia a fluconazol y un incremento en la CIM a los diferentes triazoles.

Con referente a la nutrición parenteral. El 97.8% (135/138) de los pacientes recibieron nutrición parenteral (NPT) durante su hospitalización, donde el 97.1% (127/135) recibieron la NPT por más de 5 días. Otros autores han reportado que la diálisis y el uso de NPT también es un factor de riesgo para el desarrollo de fungemia (Calving *et al*, 2011), se encontró que el 98% de los pacientes recibieron NPT. Es importante mencionar que la lactancia temprana o la alimentación enteral dentro de los 3 días de vida disminuye la tasa de infección fúngica en neonatos con menos de 1000 g de peso al nacer. Esta práctica promueve el desarrollo de una microbiota saludable en el neonato. La leche humana contiene anticuerpos, fagocitos, lactoferrina y probióticos los cuales mejoran las defensas del huésped y la función gastrointestinal (Kaufman, 2010). El autor plantea que el uso de leche materna no pasteurizada está asociado con una baja tasa de sepsis y de enterocolitis en neonatos pretérmino o con bajo peso al nacer. Los resultados obtenidos indican que el 97% de los neonatos recibieron NPT por más de 5 días, lo que pudiera estar asociado a una disminución de una microflora intestinal saludable y el desarrollo de enterocolitis necrotizante y fungemia por translocación intestinal al torrente sanguíneo de especies de *Cándida*.

Tres prácticas médicas han sido asociadas a un riesgo de desarrollar IFI: el uso de antibióticos de amplio espectro, el uso de inhibidores H₂ y el uso de esteroides postnatal. Los resultados de este estudio señalan que el 30.4% de los pacientes utilizaron ranitidina, y sólo el 25.3% utilizó corticosteroides durante su estancia hospitalaria. A pesar de que ha sido reportado que el uso de antagonistas H₂ y corticosteroides son factores de riesgo para el desarrollo

de fungemia, solo se encontró que 30.4% y 25.3% de los pacientes con fungemia utilizaron ranitidina y corticosteroides, respectivamente. Cavling y col. (2011), reportaron que el 27% de los pacientes en su estudio recibieron terapia con corticosteroides dos semanas antes de la aparición de fungemia, un porcentaje similar a los datos obtenidos en este estudio. Sin embargo, es importante mencionar que en su estudio solo 1% de los pacientes eran prematuros. Kelly y col. (2015), reportaron que el uso de ranitidina promueve el sobrecrecimiento de especies de *Cándida* en el tracto gastrointestinal, mientras que el tratamiento con corticoides altera el número y función de los linfocitos T incrementando el riesgo de CI.

El 75.4% (104/138) de los pacientes requirió uso líneas centrales, 62.3% (86/138) catéteres percutáneos y 15.9% (22/138) CVC. A pesar, de que estos dispositivos médicos son esenciales para el cuidado del paciente crítico, su uso incrementa el desarrollo de IAAS. Por otro lado, se ha demostrado una significativa reducción en el promedio de candidemia en la UCIN cuando se mejora las prácticas de inserción y mantenimiento de las líneas centrales (Kaufman, 2010). Gran parte de los pacientes en este estudio utilizaron este tipo de dispositivos médicos, y su cuidado y mantenimiento determinará su rol en el desarrollo de la fungemia.

Sólo 45 de 138 pacientes fueron sometidos a cirugía para un 32.6% de todos los pacientes ingresados, y el 86.7% de las cirugías fueron de abdomen y 20.0% cirugía torácica. El 18.1% (25/138) de los pacientes presentó enterocolitis necrotizante. Se conoce que la translocación a través del tracto gastrointestinal es la principal fuente de CI. Esto quiere decir que toda alteración de la mucosa gastrointestinal que provoque enterocolitis necrotizante, perforación intestinal espontánea o cirugía abdominal previa son condiciones clínicas que están asociadas con un incremento del riesgo de CI.

El 49.3% (68/138) de los pacientes presentaron persistencia de cultivos positivos. Según Hammound y col. (2013), es incierto saber si la persistencia de la candidemia representa falla del tratamiento con un pobre resultado

clínico, o es parte de la historia natural de la candidemia en un paciente respondiendo al tratamiento. La incidencia de candidemia persistente reportada en algunos países es de 52%, mientras que en EEUU sólo el 24%. Los resultados del presente estudio indican que cerca del 50% de los pacientes con fungemia neonatal presentaron candidemia persistente, el doble de lo reportado en EEUU. Aunque la candidemia persistente pudiera indicar tratamiento fallido, es conocido que el aclaramiento de las especies de *Cándida* del torrente sanguíneo toma algún tiempo a pesar de que el tratamiento sea efectivo.

Si realizamos una evaluación de todos los factores de riesgo descritos y el hecho que todos los neonatos permanecen por más de 7 días en la UCIN. Durante este periodo de tiempo los neonatos están sujetos a múltiples procedimientos y estrategias terapéuticas que buscan garantizar su bienestar. El uso de terapia antimicrobiana de amplio espectro, la nutrición parenteral y la ventilación mecánica se utiliza en casi el 100% de los pacientes.

Como política del HDNDr.JRE un neonato con sospecha de sepsis temprana admitido en la sala de UCIN debe recibir un tratamiento de antibiótico profiláctico, si a las 48 horas los hemocultivos son negativos los antibióticos deben ser suspendidos. Sin embargo, más del 80% de los hemocultivos obtenidos en la UCIN tienen volumen inadecuado o resultan contaminados. Frente a esta situación más del 85% de los pacientes terminan su régimen terapéutico, porque es difícil para el clínico bajo estas condiciones determinar si es seguro retirar o no los antibióticos. Como se discutió previamente el uso innecesario de antibióticos produce una presión selectiva sobre la microbiota neonatal promoviendo la supresión de bacterias Gram positivas y el desarrollo de bacterias Gram negativas y de especies de *Cándida*. En el HDNDr.JRE se ha reportado en la sala de neonatología un 75% de prevalencia *Klebsiella pneumoniae* con beta lactamasas de espectro extendido, aunque su prevalencia ha disminuido en los últimos años significativamente. Este es un mecanismo de resistencia de origen plasmídico y evidencia de laboratorio basada en datos de las pruebas de susceptibilidad indican que este

mecanismo de resistencia está acompañado de otros mecanismos de resistencia como las enzimas modulantes de los aminoglucósidos. Suponiendo que el uso de gentamicina podría haber provocado la selección de las cepas que transportan este plásmido de resistencia ejerciendo una presión selectiva que suprime la flora nativa beneficiosa, seleccionado mutantes resistentes que son perjudiciales para el neonato.

A nuestro juicio, el uso de nutrición parenteral y ventilación mecánica son procedimientos que promueven la colonización de microorganismos al vulnerar las barreras naturales. El bajo peso al nacer y el nacimiento pretérmino son condiciones clínicas que promueven la necesidad de utilizar procedimientos invasivos en pacientes neonatos. Observe los factores de riesgo más frecuentes en pacientes con fungemia registrados en este estudio (Tabla 7). Finalmente, la estancia hospitalaria, la terapia con antibióticos de amplio espectro, la nutrición parenteral, la ventilación mecánica, la prematuridad, el uso de dispositivos médicos y el bajo peso al nacer son los principales factores de riesgo asociados a fungemia neonatal en nuestra institución.

Tabla 6: Frecuencia de los principales factores de riesgo asociados a fungemia

Factor de riesgo	Porcentaje (n)
Estancia hospitalaria >7 días	100 (138/138)
Terapia antimicrobiana de amplio espectro	99.3 (137/138)
Nutrición parenteral	97.8 (135/138)
Ventilación mecánica	94.9 (131/138)
Prematuridad	81.2 (112/138)
Uso de dispositivos médicos	75.4 (104/138)
Bajo peso al nacer (<1500)	67.4 (93/138)
Cirugía	32.6 (45/138)
Uso de Inhibidores de H₂	30.4 (42/138)
Uso de Corticoides	25.3 (35/138)

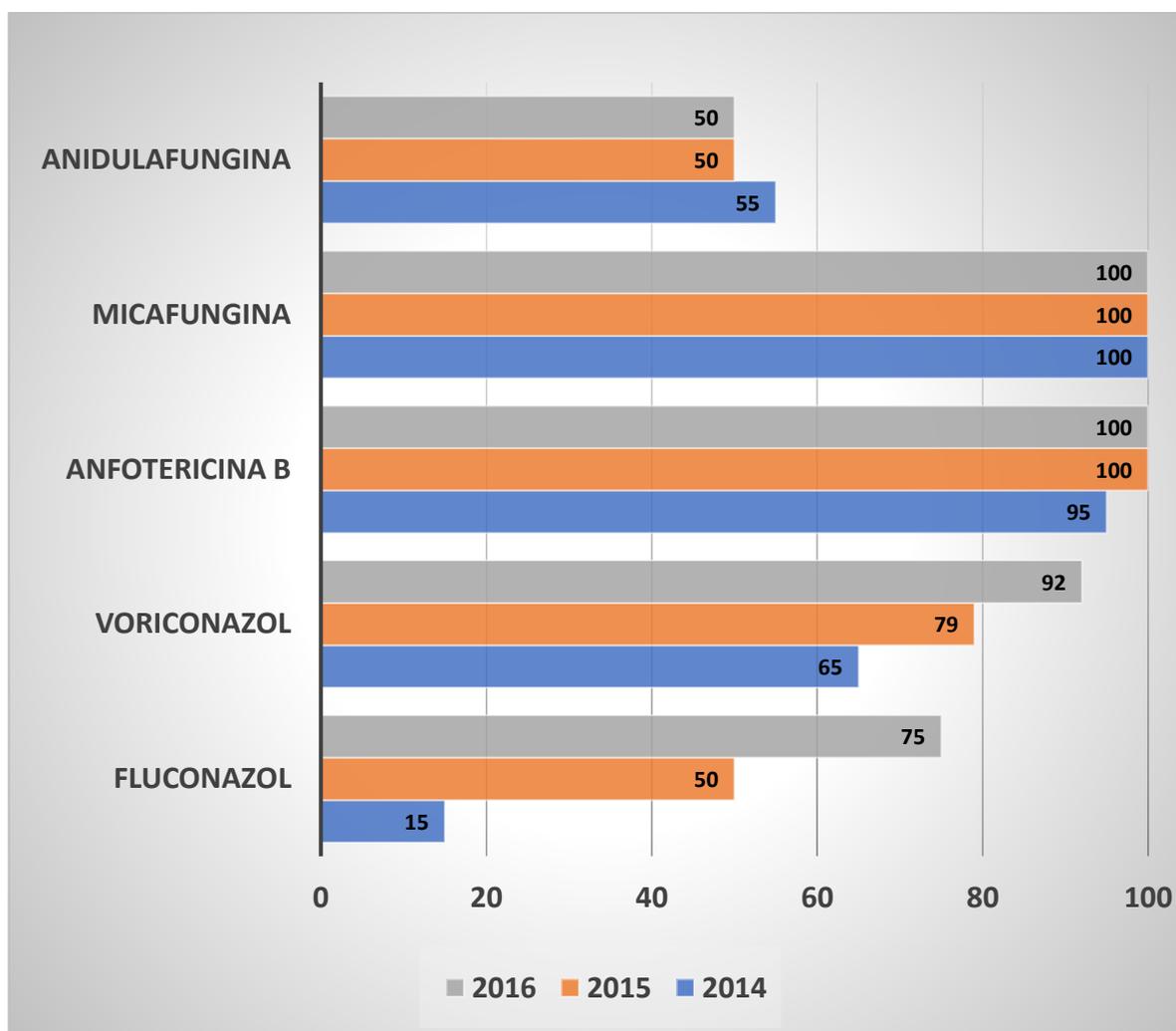
Fuente: Características Clínicas, Microbiológicas e Epidemiológicas de especies de *Cándida* asociadas a fungemia en la sala de Neonatología, Hospital de Niño Dr. José Renán Esquivel, periodo 2014-16.

El **cuarto objetivo** fue: Presentar un antifunjoograma hospitalario para distintos antifúngicos de uso sistémico, que permita formular nuevas estrategias terapéuticas empíricas.

Para cumplir con el objetivo 4, se realizaron pruebas de susceptibilidad por el método de epsilometría a los 138 aislados para diferentes antifúngicos. Se encontró un porcentaje de sensibilidad a fluconazol de 15, 50 y 75% para los miembros del complejo *C. parapsilosis* en los años 2014, 2015 y 2016, respectivamente. Para micafungina se encontró 100% de sensibilidad durante los tres años de estudio. La anfotericina B también fue 100% de sensible con excepción del año 2014 donde se encontró una cepa resistente para un 95% de sensibilidad (Figura 2 y 3). El porcentaje de sensibilidad a anidulafungina fue de aproximadamente 50% durante los tres años. Para voriconazol el porcentaje de sensibilidad incremento de 65% en el 2014 a 79 y 92% en el 2015 y 2016, respectivamente. Los resultados para caspofungina y posaconazol frente aislados del complejo *C. parapsilosis* fueron inconsistentes y de difícil interpretación razón por la cual estos resultados no pudieron ser utilizados para su análisis (Grafico 2)

Se han descrito cambios en la expresión de genes de los miembros del complejo *C. parapsilosis* asociado con la adquisición de resistencia inducida experimentalmente a los azoles (Silva *et al*, 2011). Resulta interesante el hecho que la susceptibilidad a fluconazol allá aumentado en el 2016 respecto a la obtenida en los años previos. En otro contexto, las equinocandinas son recomendadas como antifúngicos de primera línea para el tratamiento de CI. Su uso se ha incrementado en las últimas décadas aumentando el potencial para emergencia de resistencia. Las equinocandinas son altamente activas contra las especies de *Cándida*, pero menos activas contra miembros del complejo *C. parapsilosis*.

Gráfico 2: Porcentaje de susceptibilidad a los antifúngicos de cepas del Complejo *C. parapsilosis* aislados en la UCIN desde el 2014 al 2016, HDNDrJRE



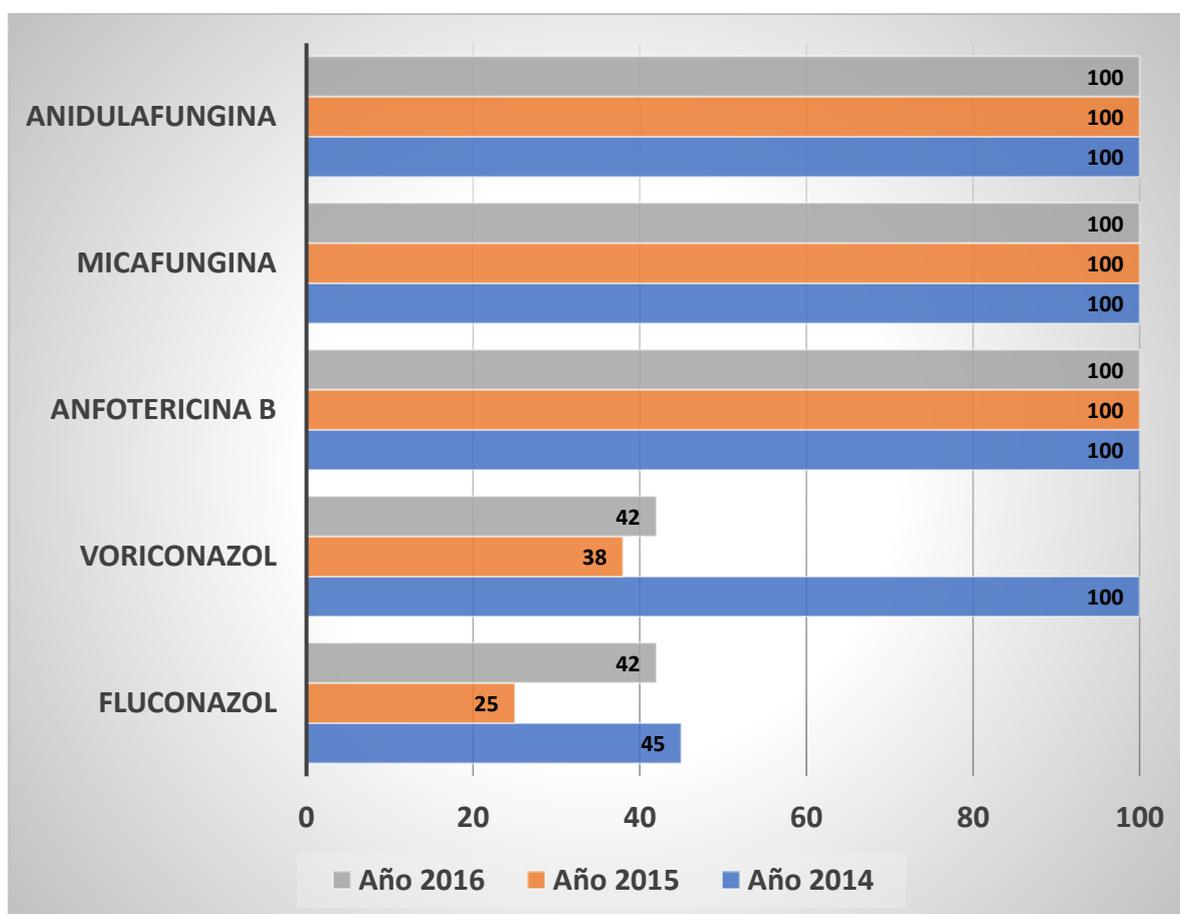
Fuente: Características Clínicas, Microbiológicas e Epidemiológicas de especies de *Cándida* asociadas a fungemia en la sala de Neonatología, Hospital de Niño Dr. José Renán Esquivel, periodo 2014-16

Se encontró resultados diferentes para caspofungina, micafungina y anidulafungina. Los resultados para caspofungina usando el método de epsilometría fueron de difícil interpretación. No fue posible realizar una lectura correcta por el fenómeno de arrastre que genera resultados inconsistentes y de difícil interpretación utilizando este método (Figura 1). El 100% de las cepas fueron sensibles a micafungina, y en el caso de anidulafungina se alcanzó un 50% de sensibilidad. Debido a la alta variación interlaboratorio en los CIMs frente a caspofungina, Pfaller y col. (2014), evaluaron el uso de micafungina como un marcador sustituto para predecir la susceptibilidad a *Cándida* spp.

Ellos concluyeron que la micafungina puede servir como un marcador sustituto aceptable para predecir la susceptibilidad y resistencia de *Cándida* spp., a caspofungina. Si utilizamos la micafungina como molécula substituta para predecir la susceptibilidad al resto de las equinocandinas, especialmente para caspofungina, podríamos predecir que la mayoría de los aislados miembros del complejo *C. parapsilosis* son susceptibles a todas las equinocandinas. Frente este argumento la susceptibilidad de 50% para anidulafungina es controversial. A pesar de que se ha reportado resistencia intrínseca a anfotericina B en aislados de *C. parapsilosis*, 100% de los aislados fueron sensibles a este agente.

Para *C. albicans* se encontró un porcentaje de sensibilidad a fluconazol que vario de 45, 25 y 42% en los años 2014, 2015 y 2016, respectivamente. En caso de micafungina, anidulafungina y anfotericina B se encontró 100% de sensibilidad durante los tres años de estudio. Para voriconazol el porcentaje de sensibilidad disminuyo de 100% en el 2014 a 38% y 42% en el 2015 y 2016, respectivamente. Los resultados para caspofungina y posaconazol frente aislados de *C. albicans* fueron de difícil interpretación y no concluyentes (Figura 1, 3 y 6) y (Gráfico 3). La susceptibilidad a los azoles durante los tres años de estudio fue menos del 50%. En el caso de las equinocandinas los estudios de vigilancia a gran escala han determinado una prevalencia de resistencia en aislados de *C. albicans* menor del 1% (Perlin *et al*, 2017). Los datos de presente estudio indican que 100% de los aislados son sensibles a equinocandinas.

Gráfico 3: Porcentaje de susceptibilidad a los antifúngicos de cepas de *C. albicans* aislados en la UCIN desde el 2014 al 2016, HDNDrJRE



Fuente: Características Clínicas, Microbiológicas e Epidemiológicas de especies de *Cándida* asociadas a fungemia en la sala de Neonatología, Hospital de Niño Dr. José Renán Esquivel, periodo 2014-16.

Los datos acumulados de las pruebas de susceptibilidad desde el año 2014 al 2016 fueron tabulados en un antifunograma para miembros del complejo *C. parapsilosis* y *C. albicans*. Se encontró que los aislados de *C. parapsilosis* son 99% sensibles a anfotericina B y 100% sensible a micafungina. La susceptibilidad acumulada de *C. parapsilosis* a fluconazol fue menos del 50%, mientras que voriconazol alcanzó un 78%. El resultado para anidulafungina fue de 51%. La susceptibilidad acumulada de *C. albicans* a fluconazol fue de 38%, mientras que para voriconazol fue de 63%. La susceptibilidad acumulada para anfotericina B y micafungina fue de 100% para ambos antifúngicos. La susceptibilidad para anidulafungina fue del 88% (Tabla 8, 9 y 10).

Tabla 7. Porcentaje de susceptibilidad antifúngica de aislados del Complejo *C. parapsilosis* en la UCIN de 2014 al 2016, HDNDRJRE

Antifúngico	Año 2014 (n=20)	Año 2015 (n=38)	Año 2016 (n=12)
Fluconazol	15	50	75
Voriconazol	65	79	92
Anfotericina B	95	100	100
Micafungina	100	100	100
Anidulafungina	55	50	50

Fuente: Características Clínicas, Microbiológicas e Epidemiológicas de especies de *Cándida* asociadas a fungemia en la sala de Neonatología, Hospital de Niño Dr. José Renán Esquivel, periodo 2014-16.

Tabla 8. Porcentaje de susceptibilidad antifúngica de aislados de *C. albicans* en la UCIN de 2014 al 2016, HDNDRJRE

Antifúngico	Año 2014 (n=11)	Año 2015 (n=8)	Año 2016 (n=12)
Fluconazol	45	25	42
Voriconazol	100	38	42
Anfotericina B	100	100	100
Micafungina	100	100	100
Anidulafungina	100	100	100

Fuente: Características Clínicas, Microbiológicas e Epidemiológicas de especies de *Cándida* asociadas a fungemia en la sala de Neonatología, Hospital de Niño Dr. José Renán Esquivel desde periodo 2014-16

Tabla 9: Antifunograma basado en los resultados de pruebas de susceptibilidad acumulada para aislados de *C. parapsilosis* y *C. albicans* en la UCIN de 2014 al 2016, HDNDRJRE

Microorganismo	N	FZC	VOR	AFB	MICA	ANI
<i>C.parapsilosis</i>	69	45	78	99	100	51
<i>C.albicans</i>	32	38	63	100	100	88

Fuente: Características Clínicas, Microbiológicas e Epidemiológicas de especies de *Cándida* asociadas a fungemia en la sala de Neonatología, Hospital de Niño Dr. José Renán Esquivel desde periodo 2014-16.

Los datos de susceptibilidad antifúngica forman parte de los estudios de vigilancia epidemiológica. Lo cual permite conocer los perfiles de

susceptibilidad y resistencia de cepas clínicas, aisladas de infecciones invasoras recuperadas en nuestro hospital. Hemos podido determinar que el porcentaje de susceptibilidad de *C. albicans* y *C. parapsilosis* a fluconazol es menos del 50%. Mientras que el porcentaje de susceptibilidad a equinocandinas y anfotericina B supera el 99%. Esta información nos permite predecir la respuesta clínica y optimizar la terapia de pacientes hospitalizados que no responden al tratamiento, que presentan IFI o en los que se aíslan cepas con alta tasa de resistencia a fármacos antifúngicos. Los datos del presente estudio sugieren el uso de anfotericina B y equinocandinas como agentes de primera línea, y que uso de fluconazol de forma empírica debería ser utilizado con precaución.

Un reciente estudio reportó una tasa de resistencia en *Candida* spp., de 4.7% en un rango de 0% (*C. parapsilosis*) a 9.1% (*C. glabrata*). La resistencia promedio para las equinocandinas fue de 3.1%. En este estudio el número de episodios de fungemia decreció en un periodo de 13 años, con un ligero incremento en la tasa de resistencia a fluconazol y una estable resistencia a las equinocandinas (Diaz *et al*, 2021). En contraste, se ha experimentado un aumento en la tasa de incidencia de fungemia durante los tres años de estudio. La tasa de resistencia a los azoles de 4.7% reportado en este estudio es compatible con los resultados históricamente obtenidos en el hospital, pero significativamente diferentes a los obtenidos utilizando el método de epsilometría.

También, se evaluó la susceptibilidad de los antifúngicos frente a las especies de *Cándida* de menos frecuencia. En el 2014 se aisló una cepa de *Kadomea ohmeri* la cual resultó sensible a la mayoría de los antifúngicos probados incluyendo: voriconazol, caspofungina, micafungina, anidulafungina y anfotericina B. *Kadomea ohmeri* es la forma teleomorfa de *C. guilliermondii*, los aislados clínicos demuestran una alta sensibilidad a las equinocandinas y anfotericina B, pero algunas cepas podrían presentar una baja sensibilidad a los azoles (Cheng *et al*, 2016). Esta cepa resultó resistente a fluconazol con un CIM 8.0 µg/mL.

En el 2015 se aisló 3 cepas de *C. glabrata*, una cepa resistente a fluconazol con un CIM ≥ 256 $\mu\text{g/mL}$ y dos cepas con susceptibilidad dosis dependiente (SDD) con CIM 32 $\mu\text{g/mL}$. En un programa de vigilancia se reportó un incremento en *C. glabrata* como causa de CI de 18 a 25% entre 1992 a 2007. Adicionalmente, encontró un incremento en la resistencia a fluconazol de 9 a 14% en el mismo periodo (Pfaller *et al*, 2017). Una de tres cepas de *C. glabrata* resultó resistente a micafungina (CIM 0.38 $\mu\text{g/mL}$), caspofungina (CIM 6.0 $\mu\text{g/mL}$) y anidulafungina (CIM 1.5 $\mu\text{g/mL}$). Ya se ha reportado un incremento en el número de cepas de *C. glabrata* con resistencia a las equinocandinas en los hospitales (Vatanshenassan *et al*, 2019). Ha diferencia de la resistencia intrínseca a las equinocandinas que ha sido descrita en *C. parapsilosis* y *Cryptococcus neoformans*, en el caso de *C. glabrata* y otras especies de *Cándida* desarrollan resistencia de forma secundaria (Alastruey *et al*, 2015). En *C. glabrata* la resistencia se debe a sustituciones de aminoácidos en los genes Fks1 y Fks2, pero es más frecuente en el gen Fks2. La resistencia mediada por el gen Fks está asociada con resultados clínicos pobres. Todas las cepas fueron sensibles a anfotericina B con CIMs que fueron de ≤ 0.19 $\mu\text{g/mL}$ a ≤ 0.38 $\mu\text{g/mL}$. No se realizó la interpretación para las CIMs obtenidas para voriconazol porque no existen puntos de corte para *C. glabrata* porque los datos son insuficientes.

En el 2015 se aisló dos cepas de *C. tropicalis* y una cepa en el 2016. Todas las cepas en el 2015 fueron resistente a fluconazol y voriconazol basados en los puntos de corte de CLSI, pero sensibles a micafungina (CIMs ≤ 0.008 y 0.023 $\mu\text{g/mL}$), anidulafungina (CIMs ≤ 0.016 y ≤ 0.047 $\mu\text{g/mL}$) y anfotericina B (CIM ≤ 0.032 y ≤ 0.19 $\mu\text{g/mL}$). La cepa aislada en el 2016 resultó sensible a fluconazol (≤ 1.0 $\mu\text{g/mL}$), voriconazol (CIM ≤ 0.047 $\mu\text{g/mL}$), micafungina (CIM 0.023 $\mu\text{g/mL}$), anidulafungina (CIM 0.094 $\mu\text{g/mL}$) y anfotericina B (CIM 0.094 $\mu\text{g/mL}$). Para todas las cepas los resultados obtenidos para caspofungina no fueron concluyentes.

Adicionalmente, en el 2015 se aisló una cepa de *Trichosporum asahii* y dos en el 2016. A pesar de no existir puntos de corte establecidos para este germen levaduriforme la prueba de susceptibilidad demostró un incremento en las CIMs para micafungina (CIM ≥ 32.0 $\mu\text{g/mL}$), anidulafungina (CIM ≥ 32.0 $\mu\text{g/mL}$) y caspofungina (≥ 32.0 $\mu\text{g/mL}$). Sólo uno de los tres aislados presentó aparente resistencia a anfotericina B (CIM 4.0 $\mu\text{g/mL}$) tomando como referencia el punto de corte de EUCAST de ≤ 1.0 $\mu\text{g/mL}$. Las CIMs frente a voriconazol para cada cepa fueron bajas (CIM ≤ 0.125 , ≤ 0.032 y ≤ 0.19 $\mu\text{g/mL}$), respectivamente. En el caso de fluconazol los resultados fueron variables. Wolf y col. (2017), señalaron que la infección por este agente es rara, pero han sido asociadas a pacientes inmunocomprometidos con enfermedad sistémica severa. Ellos reportaron un aislado de *T. asahii* con susceptibilidad reducida a anfotericina B y a los azoles. Chagas-Neto y col. (2009), encontraron que el 50% de sus aislamientos de *T. asahii* exhibieron un CIM a anfotericina B ≥ 2.0 $\mu\text{g/mL}$. Para caspofungina la CIM obtenida fue consistentemente alta (CIM = ≥ 2.0 $\mu\text{g/mL}$), pero todos ellos fueron sensibles a los triazoles, marcadamente a voriconazol (CIM ≤ 0.06 $\mu\text{g/mL}$). A pesar de no contar con puntos de corte para la correcta interpretación de pruebas de susceptibilidad para *T. asahii*, los resultados de las pruebas de susceptibilidad indican que los CIM a las equinocandinas son elevados. La susceptibilidad a anfotericina B y fluconazol fue variable como se describe en la literatura, siendo voriconazol la molécula más activa contra *T. asahii* (Figura 5).

Es reconocido que *T. asahii* coloniza tracto gastrointestinal, piel, superficie de mucosas, esputo, CVC, heces y cabello. Existen seis especies reconocidas de *Trichosporun* que producen enfermedad en humanos; *T. asahii* es la especie más frecuente envuelta en enfermedad diseminada. Un caso de fungemia reportado, la prematuridad y el bajo peso nacer fueron los factores predisponentes principales que facilitaron la colonización y subsecuente sepsis en un neonato pretermino debido a su deficiente flora nativa que compite con los patógenos oportunistas y por un sistema inmunológico inmaduro (Burkhari *et al*, 2017). *T. asahii* es una causa poco común de sepsis fúngica en neonatos, aunque se considera un patógeno emergente importante de

enfermedad sistémica oportunista. La trichosporonosis es una enfermedad insidiosa de difícil diagnóstico. Las manifestaciones clínicas de la infección con este microorganismo no son específicas, y a menudo los resultados favorables son de bajo pronóstico (Burkhari et al, 2017; Vashishtha et al, 2012). En la India se reportó un fatal brote de sepsis por *T. asahii* en ocho neonatos en una UCIN (Vashishtha et al, 2012). En otro estudio, se reportó un total de 7 casos de fungemia por *T. asahii* en neonatos que fueron principalmente pretermino y bajo peso al nacer. Todos ellos recibieron antibióticos de amplio espectro. En este estudio se recolectaron muestras ambientales positivas para este hongo en cánula intravenosa de 4 neonatos que desarrollaron infección. En este brote la estricta implementación de prácticas de control e infecciones resultaron en el cese del brote. No se pudo identificar la fuente exacta de infección. Sin embargo, la epidemiología de la enfermedad apuntaba hacia una fuente exógena que se propagaba a través de las manos de los trabajadores sanitarios. El uso de agentes antibacterianos de amplio espectro, el nacimiento pretérmino y con bajo peso son factores predisponentes (Bhagawati et al, 2019).

Los *Trichosporon* spp., son intrínsecamente resistentes a los agentes antifúngicos de primera línea, contando con numerosos reportes de falla terapéutica cuando las equinocandinas son usadas para el tratamiento. Sin embargo, estos hongos tienen una baja sensibilidad a los polienos y azoles de ahí su importancia como patógenos multidrogoresistentes (Arastehfar et al, 2021). Son patógenos importantes y no cuenta con una prueba de susceptibilidad antifúngica estandarizada, y de ahí que no existen valores de puntos de corte epidemiológicos para las CIMs que permitan interpretar y distinguir los aislados de *Trichosporon* no tipo salvaje. La ruta de infección permanece oscura y detalles de estudios clínicos y ambientales son requeridos para determinar si las infecciones son endógenas o exógenas en la naturaleza. A pesar de que el conocimiento de un tratamiento efectivo es limitado, difícil y controversial (Burkhari et al, 2017); futuros ensayos clínicos aleatorizados son requeridos para identificar el mejor agente antifúngico, aunque el reciente paradigma defiende el uso de voriconazol (Arastehfar et al,

2021). Ningún régimen de terapia óptima ha sido identificada para la trichosporonosis, anfotericina B tiene limitada actividad, las equinocandinas no son efectivas en monoterapia. Los triazololes son las drogas antifúngicas de elección, estudios han demostrado que voriconazol tiene alta actividad contra *Trichosporon spp.*, incluyendo aislados con reducida susceptibilidad a anfotericina B, itraconazol, y fluconazol (Burkhari *et al*, 2017). Con respecto a *T. asahii* los datos obtenidos en el presente estudio concuerda con los publicados en la literatura, sería prudente evaluar las estrategias terapéuticas utilizadas en el HDNDr.JRE y considerar el inicio de estudios ambientales.

En el caso de las infecciones fúngicas, los factores del hospedero juegan un papel importante en la respuesta al tratamiento. Por otra parte, la susceptibilidad *in vitro* no siempre predice el éxito del tratamiento y no siempre la resistencia *in vitro* se asocia a falla en el tratamiento. Esto ha dificultado el establecimiento de puntos de corte. La lectura de las CIMs usando el método de epsilometría depende mucho de la experiencia del operador. Hay cepas productoras del fenómeno de arrastre que dificulta la interpretación. En el presente estudio se encontró mucha dificultad para interpretar los resultados a caspofungina y posaconazol. La lectura de las CIM en el caso de fluconazol también fue un desafío. Nosotros utilizamos azul de metileno para facilitar la lectura de la elipse de inhibición, pero en el caso de caspofungina y posaconazol los resultados no fueron claros. Finalmente, podemos indicar que utilizando el método de epsilometría se encontró que más del 95% de los aislados de especies de *Cándida* son susceptibles a equinocandinas y anfotericina B. No obstante, la susceptibilidad a fluconazol a distintas especies de *Candida* es variable y en algunos casos no alcanza el 50% de susceptibilidad. Este último resultado no concuerda con los resultados obtenidos utilizando el sistema Vitek2 donde menos del 5% de las especies de *Cándida* presentan resistencia a fluconazol. Debido a lo controversial de estos datos recomendamos realizar pruebas de susceptibilidad utilizando el método de referencia de microdilución en caldo para determinar la validez de ambos métodos.

Problema de investigación ¿Cuáles son los cambios epidemiológicos y microbiológicos de las fungemias durante los últimos años en el HDNDr.JRE?

Los resultados han demostrado desde punto de vista epidemiológico un incremento significativo en tasa de incidencia de fungemia y un incremento no estadísticamente significativo en tasa mortalidad general. Hemos observado un incremento en la tasa de letalidad por *Cándida*. Además, los mismos factores de riesgo descritos en la literatura son los principales factores de riesgo observados en este estudio: la estancia hospitalaria, la terapia con antibióticos de amplio espectro, la nutrición parenteral, la ventilación mecánica, la prematuridad, el uso de dispositivos médicos y el bajo peso al nacer. Desde punto de vista microbiológico sea observado un aumento de las especies de CNA principalmente con miembros del complejo *C. parapsilosis*. La frecuencia de aislamientos permaneció estable durante en el 2014 y 2015, pero en el 2016 se de un cambio resultando *C. albicans* como la especie más aislada. A pesar de este cambio en conjunto las especies de CNA superan el 50% de los aislamientos. Los resultados indican un aumento de la resistencia a fluconazol durante los tres años de estudio, no obstante, la susceptibilidad a equinocandinas y anfotericina B permanece estable.

CONCLUSIONES

Las tasas de incidencias calculadas en este estudio permitieron concluir que hubo un incremento significativo en la tasa de fungemia neonatal en la UCIN durante periodo 2014, 2015 y 2016. Los datos muestran una tasa de incidencia de fungemia elevada si se compara con las tasas reportadas por otros países de la región.

El análisis por espectrometría de masa de los 138 aislados ingresados en el estudio nos permitió, con gran exactitud, determinar la correcta frecuencia de distribución de especies de candida asociados a fungemia en el hospital. En tres años de estudio *C. parapsilosis* sensu stricto y *C. albicans*, permanecieron como las especies con mayor frecuencia de aislamiento, excepto en el 2016 donde *C. albicans* fue la especie más aislada seguida de *C. parapsilosis* sensu stricto.

El uso de fluconazol como profiláctico en neonatos podría haber generado cambios epidemiológicos como el aumento de aislamientos de CNA y la aparición de cepas con resistencia a fluconazol. Estos cambios pueden afectar la identificación correcta de especies de *Cándida* cuando se usan métodos fenotípicos para la identificación de microorganismos, sobre todo cuando se presentan especies inusuales o de baja frecuencia de aislamiento.

En cuanto a los factores de riesgo, se pudo concluir, que la estancia hospitalaria, la terapia con antibióticos de amplio espectro, la nutrición parenteral, la ventilación mecánica, la prematuridad, el uso de dispositivos médicos y el bajo peso al nacer son los principales factores de riesgo asociados a fungemia neonatal en el HDNDr.JRE.

De acuerdo con los datos de las pruebas susceptibilidad acumulada para los miembros del complejo *C. parapsilosis* y *C. albicans*, ambas especies son

altamente sensibles a anfotericina B y a micafungina. Frente a fluconazol el porcentaje de susceptibilidad para ambas especies fue menos del 50%.

Finalmente, los resultados obtenidos en este estudio nos ofrecen una oportunidad de evaluar las estrategias que se utilizan hoy día para el manejo y tratamiento de pacientes con fungemia neonatal. Se requiere realizar cambios en el manejo de las fungemias basado en la evidencia a fin de que nuestros pacientes se beneficien de los resultados de este estudio.

LIMITACIONES Y RECOMENDACIONES DE LA INVESTIGACION

Limitaciones

Hubo dificultad para realizar una correcta interpretación de los resultados de las pruebas de susceptibilidad para caspofungina y posaconazol utilizando el método de epsilometría.

Los resultados obtenidos para fluconazol por el método epsilometría y los registrados en la base de datos del laboratorio son contradictorios. Esto genera confusión y no podemos estimar desde punto de vista microbiológico la utilidad de fluconazol para el tratamiento de la fungemia.

Fue difícil establecer puntos de cortes epidemiológicos para cada uno de los antifúngicos probados.

No se encontró puntos de corte para la correcta interpretación de los resultados de las pruebas susceptibilidad para aislados de *T. asahii*.

Recomendaciones

Formular recomendaciones de acuerdo con el comportamiento epidemiológico de la fungemia para fortalecer la vigilancia epidemiológica, prevención y control de este evento es un propósito de este trabajo.

Si utilizamos la tasa de incidencia de fungemia obtenida en el 2014 como base, se podrá señalar que hubo incremento porcentual en los años 2015 y 2016. Este incremento en la tasa de fungemia podría ser explicado por la relación de múltiples factores de riesgo asociados. La pregunta que surge es cuál de estos factores se pueden modificar implementando medidas de prevención.

En este contexto, el nacimiento prematuro y bajo peso al nacer son factores de riesgo importantes asociados al desarrollo de fungemia y una mortalidad elevada. Dado que la mayoría de los infantes que nacen en estas condiciones son el producto de un control prenatal del embarazo deficiente. Se recomienda fortalecer los programas de control de embarazos en la red primaria de atención con el propósito de disminuir los embarazos de alto riesgo y nacimientos pretérmino. Esto podría disminuir la necesidad de hospitalización en la UCIN y evitar los eventos adversos que se generan durante la estancia hospitalaria del neonato. Para este fin se requiere una promoción masiva en los medios de comunicación televisivos y virtuales notificando la importancia del control prenatal para evitar las complicaciones de una hospitalización en la UCIN.

Establecer medidas que disminuyan la estancia hospitalaria y evitar el uso de dispositivos médicos. Por ejemplo, a través del comité del Programa de Optimización de Antimicrobianos (PROA) un control en el uso de antimicrobianos en la sala de neonatología, con el propósito de permitir que los neonatos desarrollen una microbiota saludable. Esto se podría lograr estableciendo mayor restricción en el uso de antibióticos, así como también una mejor supervisión en la dosis utilizada y número de días en la aplicación de antibióticos.

Otra medida importante sería promover el uso de alimentación enteral usando leche materna y evitar el uso de nutrición parenteral en la medida de lo posible.

Dado que existe diferencias importantes entre los resultados de las pruebas de susceptibilidad a fluconazol usando el método automatizado Vitek2 vs el método de epsilometría. Se recomienda, realizar pruebas de susceptibilidad utilizando el método de referencia de microdilución el caldo para confirmar los resultados obtenidos por ambos métodos. Esto es importante para determinar la validez de las pruebas de susceptibilidad.

En consecuencia y basados en los datos de las pruebas de susceptibilidad obtenidos en ambos métodos. Se recomienda el uso de anfotericina B y caspofungina como antifúngico de primera línea para el tratamiento empírico de pacientes con sospecha de fungemia. El uso de fluconazol como agente de primera línea no se recomienda hasta que los datos de las pruebas de susceptibilidad sean validados usando un método de referencia. Voriconazol debe ser utilizado como agente de primera línea en el caso de infección diseminada por *T. asahii*, preferiblemente en terapia combinada.

El control microbiológico del ambiente en la UCIN es importante para el control de IAAS. Se recomienda realizar estudios microbiológicos del ambiente para la detección de microorganismos y la identificación de probables reservorios en la UCIN. Es importante implementar un programa para el control del proceso de desinfección realizado en la sala UCIN tanto para el ambiente como para los dispositivos y accesorios utilizados para el manejo y tratamiento de pacientes neonatos.

También, se recomienda fortalecer las medidas de higiene de manos y de las áreas de hospitalización para disminuir la densidad de microorganismos. Es importante el uso del equipo de protección personal estándar y que siempre esté disponible. Se debe implementar campañas de promoción de lavado e higiene de manos, a fin de concientizar a los profesionales de salud de la importancia de estas medidas para reducir la prevalencia de IAAS.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS E INFOGRAFIA

- Alastruey, A., Melhem, M., Bonfietti, L., Rodríguez, J. (2015). Susceptibility test for fungi: clinical and laboratorial correlations in medical mycology. *Rev Inst Med Trop*, 57-64.
- Al-Taiar, A; Hammoud, M; Cuiqing, L; Lee, J; Lui, K-M; Nakwan, N; Isaacs, D. (2013). Neonatal infections in China, Malaysia, Hong Kong and Thailand. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*, 249-255.
- Arastehfar, A., Almeida, J., Perlin, D., Ilkit, M., Boekhout, T., Lopes, A. (2021). Multidrug-resistant *Trichosporon* species: underestimated fungal pathogens posing imminent threats in clinical settings. *Crit Rev Microbiol*, 1-20
- Arias, P. & Giancarlo, A. (2015). Factores de riesgo de recién nacidos de bajo peso atendidos en el centro de salud materno infantil francisco Jácome, Guayaquil periodo 1 de enero al 30 diciembre 2011. Universidad de Guayaquil. Facultad Piloto de Odontología. Escuela de Postgrado "Dr. José Apolo Pineda", 1-87.
- Berberian, G. (2014). Sepsis Neonatal. *Medicina Infantil*. 170-176.
- Bhagawati, G., Gupta, S., Misra, S., Singhal, S. (2019). Fungemia by *Trichosporon asahii* in a Neonatal Intensive Care Unit in a Tertiary Care Hospital in Delhi- An Epidemiological Investigation. *Indian Journal of Hospital Infection*, 41-46.
- Burkhari, M., Sam, A., El-Shalakany, A., A, F. (2017). A *Trichosporon asahii* Bloodstream Infection in a Preterm Newborn with a Successful Outcome: A Case Report. *J Blood Lymph*, 1-3.
- Caparó, E., Vásquez, M., Norero, X., Sáez-Llorens, X., DeAntonio, R., Rodriguez, B. (2019). Factores de riesgo y letalidad asociados a candidemia neonatal en una unidad de neonatología. *Rev Chil Pediatr*: 90 (2): 186-193.
- Cavling, M., Sulim, S., Holm, A., Nielsen, L., Dam, S., Dahl, J. (2011). Diagnostic Issues, Clinical Characteristics, and Outcomes for Patients with Fungemia. *Journal of Clinical Microbiology*, 3300–3308.
- Chagas-Neto, T.C., Chaves, G., Melo, A., Colombo, A. (2009). Bloodstream infections due to *Trichosporon spp.*: species distribution, *Trichosporon asahii* genotypes determined on the basis of ribosomal DNA intergenic spacer 1 sequencing, and antifungal susceptibility testing. *J of Clini Microbiol*, 1074–1081.

- Chang, D., Torres, J., Arroyo, G., Cavenago, A., Cavenago, E., Málaga, G., et al. (2008). Perfil de resistencia de las bacterias aisladas de hemocultivos en un Hospital General. *Rev Soc Peru Med Interna*, 62-65.
- Chen, P.-Y., Chuang, Y.-C., Wang, J.-T., Sheng, W.-H., Yu, C.-J., Chu, C.-C., et al. (2014). Comparison of epidemiology and treatment outcome of patients with candidemia at a teaching hospital in Northern Taiwan, in 2002 and 2010. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 95-103.
- Cheng, J., Yu, M., Xiao, M., Wang, H., Kundinha, T., Kong, F., Xu, Y. (2016). Identification and Antifungal Susceptibility Profile of *Candida guilliermondii* and *Candida fermentati* from a Multicenter Study in China. *Journal of Clin Microbiol*, 2187-2189.
- Lai, C., Chu, C., Wang, C., Tsai, H., Cheng, A., Lee, Y., Huang, Y., Liao, C., Hsueh, P. (2012). Association between incidence of candidaemia and consumption of antifungal agents at a medical centre in Taiwan. *International Journal of Antimicrobial*, 349-53.
- Cheng-Chin, L., Gau, S., Hsueh, P.-R. (2012). Fungemia caused by non-*Candida* species. *Journal of Microbiology, Immunology, and Infection*, 262-3.
- Chowdhary, A., Voss, A. & Meis, J. (2016). Multidrug-resistant *Candida auris*: 'new kid on the block' in hospital-associated infections. *Journal of Hospital Infection*, 209-212.
- Cisternas, O. (2006). Patrones de resistencia de las levaduras y su importancia clínica. *Revist del Hospital del Niño*, 12-19.
- Diaz, J., Mesquida, A., Sanchez, C., Reigadas, E., Muñoz, P., Escribano, P., Guinea, J. (2021). Monitoring the Epidemiology and Antifungal Resistance of Yeasts Causing Fungemia in a Tertiary Care Hospital in Madrid, Spain: Any Relevant Changes in the Last 13 Years? *Journal of perinatology*, 405-411.
- Eddouzi, J., Hofstetter, V., Groenewald, M., Mana, M., & Sanglard, D. (2013). Characterization of a New Clinical Yeast Species, *Candida tunisiensis* sp. nov., Isolated from a Strain Collection from Tunisian Hospitals. *Journal of Clinical Microbiology*, 31-39.
- Ericson, J., Kaufman, D., Kicklighter, S., Bhatia, J., Testoni, D., Gao, J., Smith, B., Benjamin, D., MacGilvray, Kelly, S., Bidegain M. (2016). Fluconazole

- prophylaxis for the prevention of candidiasis in premature infants: A meta-analysis using patient level data. *Clinical Infectious Diseases*, 604-610.
- Fernández, M; Rodríguez, V; Chávez, M. (2016). Principales factores de riesgo asociados a sepsis neonatal, en recién nacidos, atendidos en el Hospital Luis Felipe Moncada en el período de enero a octubre 2015. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua Managua, Facultad de Ciencias Médicas, 1-56.
- Ferriera, J. (2017). Incidência de infecção primária da corrente sanguínea relacionada a cateter venoso central e os cuidados de enfermagem na unidade de terapia intensiva do hospital regional Dr. Homero de Miranda Gomes. *Repositório Universitário da Ânima*.
- Fortúm, J; Meije, Y; Fresco, G; Moreno, S. (2012). Aspergilosis, formas clínicas y tratamiento. *Enferm infec microbiol clin*, 201-208.
- Garcia-Effron , G., Katiyar, S., Park, S., Edlind, T., & Perlin, D. (2008). A naturally occurring proline-to-alanine amino acid change in Fks1p in *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* accounts for reduced echinocandin susceptibility. *Antimicrob Agents and Chemotherapy*, 2305-2312.
- Garcia-Effron, G., Canton, E., Pemán, J., Dilger, A., Romá, E., & Perlin, D. (2011). Assessment of Two New Molecular Methods for Identification of *Candida parapsilosis* Sensu Lato Species. *Journal of Clinical Microbiology*, 3257–3261.
- Garcia-Effron, G., Kontoyiannis, D., Lewis, R., & Perlin, D. (2008). Caspofungin-Resistant *Candida tropicalis* Strains Causing Breakthrough Fungemia in Patients at High Risk for Hematologic Malignancies. *Antimicrob Agents Chemotherapy*, 4181–4183.
- Gil-Alonso, S., Juaregizar, N., Cantón, E., Eraso, E., Quindós, G. (2015). In Vitro Fungicidal Activities of Anidulafungin, Caspofungin, and Micafungin against *Candida glabrata*, *Candida braccarensis*, and *Candida nivariensis* Evaluated by Time-Kill Studies. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 3615-3618.
- Graf, B., Adam, T., Zill, E., Göbél, U. (2000). Evaluation of the VITEK 2 system for rapid identification of yeasts and yeast-like organisms. *Journal of Clinical Microbiology*, 1782-1785.

- Guzzetti, L., Vescina, C., Gil, M., Gatti, B. (2017). Candidemias en pediatría: distribución de especies y sensibilidad a los antifúngicos Candidemia in Pediatrics: Species distribution and antifungal susceptibility. *Revista Argentina de Microbiología*, 320-322.
- Hammoud, M., Al-Taiar, A., Fouad., Raina, A., Khan, Z. (2013). Persistent candidemia in neonatal care units: risk factors and clinical significance. *Int J Infect Dis*, 624-628.
- Hata, J., Hal, L., Fothergil, A., Larone, D., Wengenack, N., (2007). Multicenter evaluation of the new VITEK 2 advanced colorimetric yeast identification card. *Journal of Clinical Microbiology*, 1087-92.
- Hernández, A., Ballesteros, M., Galán, F., Rodríguez, M. (2016). Aplicación de la espectrometría de masas en la identificación de bacterias. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 8-18.
- Hsieh, E., Smith, P., Jacqz-Aigrain, E., Kaguelidou, F., Cohen, M., Manzoni, P., Benjamin, D. (2012). Neonatal fungal infections: when to treat? *Early Human Development*, 6-10.
- Izquierdo, A., Santolaya, M. (2014). Candidiasis invasoras en recién nacidos: diagnóstico, tratamiento y prevención. *Infectología al día*, 73-83.
- Juyal, D., Adekhandi, S., Negi, V., Sharma, N. (2013). An Outbreak of Neonatal Candidemia Due to Non-albicans Candida Species in a Resource Constrained Setting of Uttarakhand State, India. *Journal of Clinical Neonatology*, 183-186.
- Kathuria, S., Singh, P., Sharma, C., Prakash, A., Masih, A., Kumar, A., Meis, J., Chowdhary, A. (2015). Multidrug-Resistant *Candida auris* Misidentified as *Candida haemulonii*: Characterization by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry and DNA Sequencing and Its Antifungal Susceptibility Profile Variability by Vitek 2, CLSI Broth Microdilution, and Etest Method. *Journal of Clin Microbiol*, 1823-1830.
- Kaufman, D. (2010). Challenging issues in neonatal candidiasis. *Current Medical Research and Opinion*, 1769-1778.
- Kaufman, D. (2012). Getting to Zero: preventing invasive *Candida* infections and eliminating infection-related mortality and morbidity in extremely preterm infants. *Early Human Development*, 45-49.

- Kaufman, D., Blackman, A., Conaway, M., Sinkin, R. (2014). Nonsterile Glove Use in Addition to Hand Hygiene to Prevent Late-Onset Infection in Preterm Infants Randomized Clinical Trial. *JAMA pediatrics*, 909-916.
- Kaufman, D., Fairchild, K. (2004). Clinical Microbiology of Bacterial and Fungal Sepsis in Very-Low-Birth-Weight Infants. *Clinical Microbiology Reviews*, 638-680.
- Kaufman, D; Manzoni, P. (2010). Strategies to Prevent Invasive Candidal Infection in Extremely Preterm Infants. *Clinics in Perinatology*, 611-628.
- Kaur, H; Chakrabarti, A. (2017). Strategies to Reduce Mortality in Adult and Neonatal Candidemia in Developing Countries. *Journal of fungi*, 1-20.
- Kelly, M., Benjamin, D., & Smith, B., (2015). The Epidemiology and Diagnosis of Invasive Candidiasis Among Premature Infants. *Clinics in Perinatology*, 105-117.
- Larone D. (2002). Medically Important Fungi: Yeast and Yeastlike Organisms. Detailed Descriptions: 113-33.
- Lau, A., Sorrell, T., Chen, S., Stanley, K., Iredell, J., & Halliday, C., (2008). Multiplex Tandem PCR: a Novel Platform for Rapid Detection and Identification of Fungal Pathogens from Blood Culture Specimens. *J of Clin Microbiol*, 3021-3027.
- Lausch, K., Sogaard, M., Rosenvinge, F., Johansen, H., Boysen, T., Mortensen, K., Nielsen, L., Lemming, L., Olesen, B., Lietz, C., Kristensen, L., Dzajic, E., Ostergaard, L., Schonheyder, H., Arendrup, M. (2018). High incidence of candidaemia in a nationwide cohort: Underlying diseases, risk factors and mortality. *International Journal Infectious Diseases*, 58-63.
- Lazo, V., Hernandez, G., Mendez., R. (2018). Candidiasis sistémica en pacientes críticos, factores predictores de riesgo. *Horiz Med* 2018; 18(1): 75-85.
- Lee, A., Mirrett, S., Reller, B., Weinstein, M., (2007). Detection of bloodstream infections in adults: how many blood cultures are needed? *J of Clin Microbiol*, 3546-3548.
- Lee, W., Shin, J., Uh, Y., Kang, M., Kim, S., Park, K., et al. (2011). First Three Reported Cases of Nosocomial Fungemia Caused by *Candida auris*. *J of Clin Microbiol*, 3139-3142.
- Lin, C.-Y., Chen, Y.-C., Lo, H.-J., Chen, K.-W., & Li, S.-Y. (2007). Assessment of *Candida glabrata* strain relatedness by pulsed-field gel electrophoresis and multilocus sequence typing. *J of Clin Microbiol*, 2452-2459.
- Mahon, C., Lehman, D., Manuselis, G. (2007). *Textbook of Diagnostic Microbiology*, 3th Edition. Chapter 27: Medically Significant Fungi, 744-745.

- Maldonado, N., Robledo, C., Robledo, J. (2018). La espectrometría de masas MALDI-TOF en el laboratorio de microbiología clínica. *Infectio*, 35-45.
- Manzoni, P., Wu, C., Tweddle, L., Roilides, E. (2014). Micafungin in Premature and Non-premature Infants A Systematic Review of 9 Clinical Trials. *Antimicrobial Reports*, 291-298.
- Marcos-Zambrano, L., Escribano, P., Sánchez, C., Bouza, E., Guinea, J. (2017). Frequency of the Paradoxical Effect Measured Using the EUCAST Procedure with Micafungin, Anidulafungin, and Caspofungin against Candida Species Isolates Causing Candidemia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1-4.
- Mingorance, J., Regueiro, B., Muñoz, J. (2016). Perspectiva histórica de la espectrometría de masas en microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 3-7.
- Moreno, M., Moreno, O. (2017). Características clínicas y epidemiológicas de la candidemia en pacientes de un hospital de tercer nivel del sur del Perú, 2011-2014. *Acta Médica Peruana*, 289-293.
- Nieto J., De Moreno, N., Quiroz, E., Espino, C. (2015). Comparación de métodos para la identificación de especies de Candida: Sistema Vitek2 versus el Método de PCR fingerprinter. *Revista panameña de Laboratorio Clínico e Investigación*, 11-17.
- Nieto J., Meléndez, R., Vaca, I., Cisternas, O., De León, D. (2012). Frecuencia de microorganismos aislados de muestras de hemocultivos en pacientes hospitalizados en el Hospital del Niño. *Revista panameña de Laboratorio Clínico e Investigación*, 3: 43-46.
- Nieto, J., De Moreno, N., Quiroz, E., & Espino, C., (2014). Distribución y susceptibilidad antifúngica de especies de Candida aisladas de Hemocultivos en el Hospital del Niño del 2009 al 2010. *Pediátrica de Panamá*, 8-17.
- Oliveira, P., Marques, S., Palos, M. (2017). Infecciones relacionadas con la asistencia a la salud en unidades de terapia intensiva neonatal: una revisión integradora. *Enfermería global*, 508-522.
- Pammi, M., Holland, L., Butler, G., Gacser, A., Bliss, J. (2013). Candida parapsilosis is a Significant Neonatal Pathogen: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Pediatr Infect Dis J*, 1-16.
- Paredes, K., Sutton, D., Cano, J., Fothergill, A., Lawhon, S., Zhang, S., et al. (2012). Molecular Identification and Antifungal Susceptibility Testing of Clinical Isolates

- of the *Candida rugosa* Species Complex and Proposal of the New Species *Candida neorugosa*. *J of Clin Microbiol*, 2397–2403.
- Pereira, D., Nader, S., Nader, P., Martins, P., Furlan, S., Hentges, C. (2009). Disseminated *Trichosporon* spp infection in preterm newborns: a case report. *Jornal de Pediatria*, 459-461.
- Pérez, P; Pino, J; Cleves, D; Torres, A; Rosso, F; Ballesteros, A. (2018). Características clínicas y paraclínicas de recién nacidos con sepsis en un hospital nivel IV en Cali, Colombia. *Infectio*, 141-146.
- Perlin, D., Rautemaa, R., Alastruey, A. (2017). The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management. *Fungal Infections* 5, 1-10.
- Pfaller, M., & Diekema, D., (2007). Epidemiology of Invasive Candidiasis: a Persistent Public Health Problem. *Clin Microbiol R*, 133-163.
- Pfaller, M., & Diekema, D., (2012). Progress in Antifungal Susceptibility Testing of *Candida* spp. by Use of Clinical and Laboratory Standards Institute Broth Microdilution Methods, 2010 to 2012. *J of Clin Microbiol*, 2846-2856.
- Pfaller, M., Boyken, L., Hollis, R., Kroeger, J., Messe, S., Tendolkar, S., et al. (2011). Use of Epidemiological Cutoff Values to Examine 9-Year Trends in Susceptibility of *Candida* Species to Anidulafungin, Caspofungin, and Micafungin. *J of Clin Microbiol*, 624-629.
- Pfaller, M., Boyken, L., Hollis, R., Kroeger, J., Messer, S., Tendolkar, S., et al. (2008). In Vitro Susceptibility of Invasive Isolates of *Candida* spp. to Anidulafungin, Caspofungin, and Micafungin: Six Years of Global Surveillance. *J of Clin Microbiol*, 150-156.
- Pfaller, M., Boyken, L., Hollis, R., Kroeger, J., Messer, S., Tendolkar, S., et al. (2009). Wild-Type MIC Distributions and Epidemiological Cutoff Values for the Echinocandins and *Candida* spp. *J of Clin Microbiol*, 52-56.
- Pfaller, M., Boyken, L., Hollis, R., Kroeger, J., Messer, S., Tendolkar, S., et al. (2011). Wild-Type MIC Distributions and Epidemiological Cutoff Values for Posaconazole and Voriconazole and *Candida* spp. as Determined by 24-Hour CLSI Broth Microdilution. *J of Clin Microbiol*, 630-637.

- Pfaller, M., Boyken, L., Hollis, R., Messer, S., Tendolkar, S., & Diekema, D. (2006). In vitro susceptibilities of *Candida* spp. to caspofungin: four years of global surveillance. *J of Clin Microbiol*, 760-763.
- Pfaller, M., Castanheira, M., Lockhart, S., Ahlquist, A., Messer, S., & Jones, R. (2012). Frequency of Decreased Susceptibility and Resistance to Echinocandins among Fluconazole-Resistant Bloodstream Isolates of *Candida glabrata*. *J of Clin Microbiol*, 1199-1203.
- Pfaller, M., Diekema, D., Colombo, A., Kibbler, C., Ng, K., Gibbs, D., et al. (2006). *Candida rugosa*, an emerging fungal pathogen with resistance to azoles: geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK antifungal surveillance program. *J of Clin Microbiol*, 3578-82.
- Pfaller, M., Diekema, D., Gibbs, D., Newell, V., Ellis, D., Tullio, V., et al. (2010). Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-Year Analysis of Susceptibilities of *Candida* Species to Fluconazole and Voriconazole as Determined by CLSI Standardized Disk Diffusion. *J of Clin Microbiol*, 1366-1377.
- Pfaller, M., Diekema, D., Gibbs, D., Newell, V., Nagy, E., Dobiasova, S., et al. (2008). *Candida krusei*, a multidrug-resistant opportunistic fungal pathogen: geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program, 2001 to 2005. *J of Clin Microbiol*, 515-521.
- Pfaller, M., Diekema, D., Mendez, M., Kibbler, C., Erzsebet, P., Chang, S.-C., et al. (2006). *Candida guilliermondii*, an Opportunistic Fungal Pathogen with Decreased Susceptibility to Fluconazole: Geographic and Temporal Trends from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program. *J of Clin Microbiol*, 3551-3556.
- Pfaller, M., Diekema, D., Ostrosky-Zeichner, L., Rex, J., Alexander, B., Andes, D., et al. (2008). Correlation of MIC with Outcome for *Candida* Species Tested against Caspofungin, Anidulafungin, and Micafungin: Analysis and Proposal for Interpretive MIC Breakpoints. *J of Clin Microbiol*, 2620-2629.
- Pfaller, M., Messer, S., Hollis, R., Boyken, L., Tendolkar, S., Kroeger, J., et al. (2009). Variation in Susceptibility of Bloodstream Isolates of *Candida glabrata* to Fluconazole According to Patient Age and Geographic Location in the United States in 2001 to 2007. *J of Clin Microbiol*, 3185-3190.

- Pouymiro Brooks, Y., Pouymiro Brooks, I., & Pouymiró Pubillones, P. (2011). Infección sistémica por *Candida* en unidades de cuidados intensivos neonatales. *MEDISAN*, 1141-1155.
- Ramasethu, J. (2017). Prevention and treatment of neonatal nosocomial infections. *Maternal Health, Neonatology and Perinatology*, 1-11.
- Riedel, S., Hobden, J., Miller, S., Morse, S., Mietzner, T., Detrick, B., Mitchell, T., Sakanari, J., Hotez, P., Mejia, R. (2019). *Medical Microbiology 28 th Edition*. Section V Micology, Opportunistic Mycoses, 700-704.
- Rodríguez, B., Alcalá, L., Marín, M., Ruíz, A., Alonso, E., Bouza, E. (2016). Evaluation of MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry) for routine identification of anaerobic bacteria. *Anaerobe*, 101-107.
- Ruben, R., Caceres, D., Perez, M., Garcia, N., Castillo, W., Santiago, E., Borace, B., Lockhart, S., Berkow, E., Hayer, L., Espinoza, A., Moreno, J., Jackson, B., Moran, J., Chiller, T., Villarreal, G., Sosa, N., Vallabhaneni, S. (2018). Emerging multidrug-resistant *Candida duobushaemulonii* infections in Panama Hospitals: importance of laboratory surveillance and accurate identification. *J Clin Microbiol*, 56 (07): 1-6.
- Rueda, K., Moreno, M., Espinosa, M., Sáez-Llorens, X. (2010). Impact of routine fluconazole prophylaxis for premature infants with birth weights of less than 1250 grams in a developing country. *Pediatr Infect Dis J*, 1050-52.
- Sáez-Llorens, X., Macias, M., Maiya, P., Pineros, J., Jafri, H., Chatterjee, A., et al. (2009). Pharmacokinetics and Safety of Caspofungin in Neonates and Infants Less than 3 Months of Age. *American Society for Microbiology*, 869-875.
- Shane, A; Stoll, B. (2014). Neonatal sepsis: Progress towards improved outcomes. *Journal of infection*, 24-32.
- Silva, A., Miranda, I., Lisboa, C., Pina-Vaz, C., Rodríguez, A. (2009). Prevalence, distribution, and antifungal susceptibility profiles of *Candida parapsilosis*, *C. orthopsilosis*, and *C. metapsilosis* in a tertiary care hospital. *J of Clin Microbiol*, 2392-2397.
- Simeoni, U. (2014). Prematuridad: del periodo perinatal a la edad adulta. *Pediatría*, 1-7.

- Solís-Ayala, E., García, A., Vicente, B., Rodríguez, F., Díaz, E. (2014). Tratamiento profiláctico. *Med Int Méx*, 425-434.
- Stockmann, C., Spigarelli, M., Campbell, S., Constance, J., Courter, J., Thorell, E., et al. (2014). Considerations in the pharmacologic treatment and prevention of neonatal sepsis. *Paediatr Drugs*, 67-81.
- Swanson, J., Gurka, M., Kaufman, D. (2014). Risk Factors for Invasive Fungal Infection in Premature Infants: Enhancing a Targeted Prevention Approach. *Journal of the Pediatrics Infection Diseases Society*, 49-56.
- Taj-Aldeen, S., Salah, H., Perez, W., Almaslamani, M., Motyl, M., AbdulWahab, A., Healy, K., Perlin, D. (2018). Molecular Analysis of Resistance and Detection of Non-Wild-Type Strains Using Etest Epidemiological Cutoff Values for Amphotericin B and Echinocandins for Bloodstream *Candida* Infections from a Tertiary Hospital in Qatar. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 214-218.
- Taverna, C., Córdoba, S., Isla, G., Fernández, N., García, S., Mazza, M., et al. (2012). First Case Report of Bloodstream Infection Due to a *Candida* Species Closely Related to the Novel Species *Candida pseudorugosa*. *J of Clin Microbiol*, 2165-2169.
- Tille, P. (2014). *Diagnostic Microbiology 14 th Edition*. Chapter 62: The Yeast, 825-828.
- Vain, N., Fariña, D., Vásquez, L. (2012). Neonatology in the emerging countries: the strategies and health-economics challenges related to prevention of neonatal and infant infections. *Early human development*, 53-59.
- Vallejo, J; Ruiz, I. (2012). Infección fúngica invasora en los pacientes hematológicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 572-579.
- Van-Asbeck, E., Huang, Y.-C., Markham, A., Clemons, K., & Stevens, D. (2007). *Candida parapsilosis* fungemia in neonates: genotyping results suggest healthcare workers hands as source, and review of published studies. *Mycopathologia*, 287-93.
- Vatanshenassan, M., Arastehfar, A., Boekhout, T., Berman, J., Lass-Flörl, C., Sparbier, K., Kostrzewa, M. (2019). Anidulafungin Susceptibility Testing of *Candida glabrata* Isolates from Blood Cultures by the MALDI Biotyper Antibiotic (Antifungal) Susceptibility Test Rapid Assay.

- Vashishtha, V., Mittal, A., Grag, A. (2012). A Fatal Outbreak of *Trichosporon asahii* Sepsis in a Neonatal Intensive Care Unit. *Indian Pediatrics*, 745-747.
- Villalobos, J., Castro, J., Avilés, A., Peláez, C., Somogyi, T., Sandoval, L. (2016). *Candida parapsilosis*: principal causa de candidemia en un hospital de referencia para adultos de Costa Rica. *Infecciones Asociadas a la Atención de Salud*, 159-165.
- Warren, T., Mc Taggart, L., Richardson, S., Zhang, S. (2010). *Candida bracarensis* Bloodstream Infection in an Immunocompromised Patient. *J of Clin Microbiol*, 4677–4679.
- Weitkamp, J., Ozdas, A., LaFleur, B., Potts, A. (2008). Fluconazole prophylaxis for prevention of invasive fungal infections in targeted highest risk preterm infants limits drug exposure. *Journal of perinatology*, 405-411.

ANEXOS

ANEXO N°1

Formulario No.1 de recolección de datos clínicos y epidemiológicos.

Anexo 1. Formulario No.1 de recolección de datos clínicos y epidemiológicos.

REPÚBLICA DE PANAMÁ
HOSPITAL DEL NIÑO DR. JOSÉ RENÁN ESQUIVEL
FORMULARIO DE NOTIFICACIÓN DE INFECCIONES ASOCIADAS A LA
ATENCIÓN DE SALUD (IAAS)
SALA DE NEONATOLOGÍA

DATOS PERSONALES:

Ubicación del paciente: UCI <input type="checkbox"/> Intermedio <input type="checkbox"/> Cuidados mínimos <input type="checkbox"/>		
Nombre:		
Sexo: masculino <input type="checkbox"/> femenino <input type="checkbox"/>	Reg. o cédula:	Cédula. madre:
Fecha nacimiento:	Lugar nacimiento:	
Días de vida:	Peso al nacer:	Edad gestacional:
Fecha de ingreso:	Días Intrahospitalarios:	Egreso:

Fecha de Notificación / /

Diagnóstico de Base:

a. _____ b. _____ c. _____

DATOS CLÍNICOS:

Fecha de inicio de los síntomas:	Fecha de toma de cultivo:	
	<input type="checkbox"/> Hemocultivo Fecha:	<input type="checkbox"/> Secreción de Herida Fecha:
<input type="checkbox"/> Vías respiratorias Fecha:	<input type="checkbox"/> Sistema nervioso central Fecha:	<input type="checkbox"/> Piel y tejidos blandos Fecha:
<input type="checkbox"/> Vías urinarias Fecha:	<input type="checkbox"/> Umbilical Fecha:	<input type="checkbox"/> Otro

Radiografía de Tórax: Infiltrado Neumónico Sí NO Fecha:

AISLAMIENTO

Bacteria Aislada:

<p>AISLAMIENTO (GRAM -) BLEE (+) Sí _____ NO _____</p> <p><input type="checkbox"/> <i>Acinetobacter</i> _____</p> <p><input type="checkbox"/> <i>E.coli</i> _____</p> <p><input type="checkbox"/> <i>Enterobacter</i> _____</p> <p><input type="checkbox"/> <i>Klebsiella</i> _____</p> <p><input type="checkbox"/> <i>Proteus</i> _____</p> <p><input type="checkbox"/> <i>Pseudomonas</i> _____</p> <p><input type="checkbox"/> Otros: _____</p>	<p>(GRAM +)</p> <p><input type="checkbox"/> <i>Staphylococcus coagulasa negativo</i></p> <p><input type="checkbox"/> <i>Staphylococcus aureus</i> _____</p> <p style="padding-left: 40px;"><input type="checkbox"/> <i>Meticilino Resistente</i> _____</p> <p style="padding-left: 40px;"><input type="checkbox"/> <i>Meticilino Sensible</i> _____</p> <p><input type="checkbox"/> <i>Enterococcus faecium</i> _____</p> <p><input type="checkbox"/> <i>Enterococcus faecalis</i> _____</p> <p><input type="checkbox"/> <i>Streptococcus agalactiae</i> _____</p> <p><input type="checkbox"/> <i>Streptococcus pneumoniae</i> _____</p> <p><input type="checkbox"/> Otros: _____</p>
--	--

ANTIBIOGRAMA

Susceptibilidad a los antibióticos		(S) SENSIBLE		(I) INTERMEDIO			
(R) RESISTENTE							
Ampicilina		Ceftazidima		Ertapenem		Piperacilina Tazobactam	
Ampicilina-sulbactam		Ceftriaxona		Gentamicina		Tigeciclina	
Amoxicilina		Cefuroxima		Imipenem		TMP/SMX	
Amikacina		Ciprofloxacina		Levofloxacina		Vancomicina	
Cefalotina		Clindamicina		Linezolid			
Cefepima		Colistin		Meropenem			
Cefotaxima		Eritromicina		Oxacilina			

Hongos

- Cándida sp.*
- Cándida albicans*
- Cándida parapsilosis*
- Cándida tropicalis*
- Otras: _____

Uso de antibióticos:

1. _____ 2. _____ 3. _____
4. _____ 5. _____ 6. _____

Uso de dispositivos invasivos:	Fecha de colocación:	Fecha de retiro:
<input type="checkbox"/> Catéter umbilical	/ /	/ /
<input type="checkbox"/> Catéter percutáneo	/ /	/ /
<input type="checkbox"/> Intubación endotraqueal / Ventilación	/ /	/ /
<input type="checkbox"/> CVC	/ /	/ /
<input type="checkbox"/> NPT	/ /	/ /
<input type="checkbox"/> DVP	/ /	/ /
<input type="checkbox"/> Cateterización vesical	/ /	/ /
<input type="checkbox"/> Tubo pleural	/ /	/ /
<input type="checkbox"/> Otro:	/ /	/ /

Cirugía: Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	Tipo de herida: Limpia <input type="checkbox"/> limpia contaminada <input type="checkbox"/> contaminada <input type="checkbox"/> sucia <input type="checkbox"/>
Fecha de cirugía: / /	Tipo de cirugía:
Cirujano:	

Condición de egreso: VIVO () DEFUNCIÓN ()
FECHA _____

Notificación: MÉDICO () ENFERMERÍA () EPIDEMIOLOGÍA ()

Firma de Notificación: _____

Instructivo para el Llenado y Listado de Variables:

1. **Ubicación del paciente:** Seleccionar área donde se identifica la IAAS al momento de la notificación.
2. **Nombre:** Debe registrarse 1 o 2 nombres y 2 apellidos si los tiene.
3. **Sexo: Masculino o Femenino**
4. **Registro o Cédula:** Debe registrarse cédula de identidad personal o en su defecto registro médico. Si existen ambos colocar ambos.
5. **Cédula de la madre:** Registrar la cédula de identidad personal de la madre.
6. **Fecha de nacimiento:** Día/Mes/Año.
7. **Lugar de nacimiento:** Hospital donde se dio el nacimiento, si fue extrahospitalario anotar dónde fue.
8. **Sexo: Masculino o Femenino**
9. **Días de vida:** Edad en días al momento de identificada la IAAS
10. **Peso al nacimiento:** Peso en kg al momento de nacer.
11. **Edad Gestacional:** Edad gestacional en semanas al momento de nacer. No aplica (N/A) si no es neonato
12. **Fecha de Ingreso:** Colocar la fecha de admisión al hospital.
13. **Días Intrahospitalarios:** Días transcurridos dentro del hospital desde el ingreso al momento del diagnóstico de IAAS
14. **Egreso:** Colocar la fecha de egreso del paciente del hospital.
15. **Fecha de notificación:** Día/Mes/Año de la notificación del caso de IAAS.
16. **Diagnóstico de Base:** Diagnóstico registrado al momento del ingreso al hospital.
17. **Diagnóstico de Egreso:** Diagnóstico de cierre del expediente clínico al momento del egreso.
18. **Movimiento del Paciente en el Hospital:** Corresponde al movimiento del caso con IAAS dentro del hospital desde su ingreso a su egreso. Ver ejemplo:

DATOS CLÍNICOS:

19. **Fecha de inicio de los síntomas de IAAS:** Día/mes/año del inicio de síntomas de la IAAS actual.
20. **Fecha de toma de cultivo:** Día/Mes/Año del cultivo asociado a IAAS. (ver ejemplo)
21. **Sitio de aislamiento:** Marcar el cultivo donde fue aislado el germen si lo hay. (ver ejemplo)

Fecha de inicio de los síntomas: 19/03/ 2017	Fecha de toma de cultivo:	
	<input type="checkbox"/> Hemocultivo Fecha: ___/___/___	<input type="checkbox"/> Secreción de Herida Fecha: ___/___/___
<input type="checkbox"/> Vías respiratorias Fecha: ___/___/___	<input type="checkbox"/> Sistema nervioso central Fecha: ___/___/___	<input type="checkbox"/> Piel y tejidos blandos Fecha: ___/___/___
<input type="checkbox"/> Vías urinarias Fecha: ___/___/___	<input type="checkbox"/> Umbilical Fecha: ___/___/___	<input type="checkbox"/> Otro

22. Radiografía de Tórax: Marcar si hay o no hay Infiltrado Neumónico asociado a IAAS actual y el Día/mes/Año de la radiografía.

23. Bacteria Aislada: Si se obtuvo un cultivo positivo por bacterias, que fue tomado por la sospecha de la IAAS reportada completar tabla según ejemplo.

AISLAMIENTO (GRAM -) BLEE (+ <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> NO X <input type="checkbox"/> <i>Acinetobacter</i> _____ <input type="checkbox"/> <i>E.coli</i> _____ <input type="checkbox"/> <i>Enterobacter</i> _____ <input type="checkbox"/> <i>Klebsiella</i> _____ <input type="checkbox"/> <i>Proteus</i> _____ <input type="checkbox"/> <i>Pseudomonas</i> <u>Pseudomonas putida</u> <input type="checkbox"/> Otros: _____	(GRAM +) <input type="checkbox"/> <i>Staphylococcus coagulasa negativo</i> <input type="checkbox"/> <i>Staphylococcus aureus</i> <input type="checkbox"/> <i>Meticilino Resistente</i> <input type="checkbox"/> <i>Meticilino Sensible</i> <input type="checkbox"/> <i>Enterococcus faecium</i> <input type="checkbox"/> <i>Enterococcus faecalis</i> <input type="checkbox"/> <i>Streptococcus agalactiae</i> <input type="checkbox"/> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <input type="checkbox"/> Otros: _____
--	---

Susceptibilidad a los antibióticos		(S) SENSIBLE		(I) INTERMEDIO	
(R) RESISTENTE					
Ampicilina	R	Ceftazidima		Ertapenem	S
				Piperacilina Tazobactam	S
Ampicilina-sulbactam	R	Ceftriaxona		Gentamicina	
				Tigeciclina	

Amoxicilina			Cefuroxima			Imipenem			TMP/SMX		
Amikacina	R		Ciprofloxacina	S		Levofloxacina			Vancomicina		
Cefalotina			Clindamicina			Linezolid					
Cefepima	S		Colistin			Meropenem					
Cefotaxima	S		Eritromicina			Oxacilina					

24. Antibiograma: Debe anotarse la susceptibilidad del gérmen aislado S-sensible, I-intermedio, R-resistente

25. Hongos: Si el aislamiento corresponde a un hongo complete esta sección. Ejemplo.

- Cándida sp.*
- Cándida albicans*
- Cándida parapsilosis*
- Cándida tropicalis*
- Otras: _____

26. Uso de antibióticos: Anote los antibiótico (nombre genérico) que ha utilizado el paciente con IAAS desde su ingreso. Ejemplo

1. Ampicilina 2. Gentamicina 3. Piperacilina-Tazobactam
4. _____ 5. _____ 6. _____

27. Uso de dispositivos invasivos: Anote los dispositivos invasivos que ha utilizado el paciente en la última semana si **no** es paciente post quirúrgico y en los últimos 30 días **si es post quirúrgico**. Ejemplo:

Uso de dispositivos invasivos:	Fecha de colocación:	Fecha de retiro:
<input type="checkbox"/> Catéter umbilical	/ /	/ /
<input checked="" type="checkbox"/> Catéter percutáneo	17/ 03 / 2017	/ /
<input checked="" type="checkbox"/> Intubación endotraqueal /Ventilación	10 / 03 /2017	17 / 03 /2017
<input type="checkbox"/> CVC	/ /	/ /
<input type="checkbox"/> NPT	/ /	/ /
<input type="checkbox"/> DVP	/ /	/ /
<input type="checkbox"/> Cateterización vesical	/ /	/ /
<input type="checkbox"/> Tubo pleural	/ /	/ /
<input type="checkbox"/> Otro:	/ /	/ /

28. Procedimientos Quirúrgicos: Esta IAAS está relacionada con un proceso quirúrgico Sí _____ No _____
Limpia: Se trató de una cirugía limpia (es decir una cirugía no traumática, que no involucra apertura del tracto gastrointestinal, genitourinario o respiratorio, o que no involucre la presencia de un cuerpo extraño) Sí _____ No _____

Fecha de cirugía: Día/Mes/Año del procedimiento quirúrgico asociado a IAAS.

Tipo de cirugía: Nombre del procedimiento quirúrgico asociado a la IAAS.

Cirujano: Nombre y Apellido del cirujano principal relacionado con el procedimiento quirúrgico.

29. Condición de egreso: Condición al egreso del paciente que presentó esta IAAS. VIVO ()
 DEFUNCIÓN ()
FECHA: Día/Mes/Año del Egreso.

30. Notificación: Cargo de la Persona que notifica la IAAS. **Médico** () **Enfermería** ()
Epidemiología ()

31. Firma de notificación: Nombre y Apellido del que notifica el caso

ANEXO N°2

Procedimiento para la preparación de agar Muller Hinton suplementado con 2% de dextrosa y 0.5 µg/ml de azul de metileno.

Anexo 2. Procedimiento para la preparación de agar Muller Hinton suplementado con 2% de dextrosa y 0.5 µg/ml de azul de metileno.

1. Pesar con una balanza analítica 38 gramos de agar Muller Hinton deshidratado y disolverlo en 1 litro de agua destilada. Se debe utilizar un recipiente alcance altas temperaturas
2. Calentar el medio disuelto en agua destilada hasta alcanzar la ebullición agitando constantemente y disolver el medio por completo.
3. Pesar y agregar al medio disuelto 20 gramos de dextrosa y mezclar.
4. Agregar 1 ml de azul de metileno garantizando una concentración final de 0.5 µg/ml.
5. Decantar el medio disuelto en un matraz volumétrico de 2000 ml y poner un tapón de algodón con gaza y colocar un indicador de esterilización físico y biológico adherido al matraz.
6. Colocar el matraz en el esterilizador y autoclavar a 121 °C durante 15 minutos.
7. Al terminar el ciclo de autoclavado permita que le medio se enfríe a una temperatura de entre 45 a 50 °C.
8. Servir en platos Petri con un diámetro de 150 mm y deje enfriar a temperatura ambiente hasta que el medio se halla solidificado.
9. Empacar los medios en mangas de 10 platos Petri.

ANEXO N°3

Criterios de interpretación de pruebas de susceptibilidad y control de calidad utilizando el método de epsilometría

Anexo 3. Criterios de interpretación de pruebas de susceptibilidad y control de calidad utilizando el método de epsilometría.

	Control de Calidad (CIM µg/ml) a 48 horas de incubación a 35°C.			CLSI CRITERIO DE INTERPRETACIÓN (CIM µg/ml)			EUCAST CRITERIO DE INTERPRETACIÓN (CIM µg/ml)		
	<i>C.krusei</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.albicans</i>	S	I	R	S	I	R
	ATCC6258	ATCC 22019	ATCC 90028						
Anfotericina B (AMB)	0.5-2.0	0.25-1.0	0.125-0.50						
<i>C. albicans</i>							≤1.0		≥1.0
<i>C. glabrata</i>							≤1.0		≥1.0
<i>C. tropicalis</i>							≤1.0		≥1.0
<i>C. krusei</i>							≤1.0		≥1.0
<i>C. parapsilosis</i>							≤1.0		≥1.0
Anidulafungina (AND)	0.016-0.125	0.5-4.0	0.002-0.008						
<i>C. albicans</i>				≤0.25	0.50	≥1.0	≤0.03		≥0.03
<i>C. glabrata</i>				≤0.12	0.25	≥0.50	≤0.06		≥0.06
<i>C. tropicalis</i>				≤0.25	0.50	≥1.0	≤0.06		≥0.06
<i>C. krusei</i>				≤0.25	0.50	≥1.0	≤0.06		≥0.06
<i>C. parapsilosis</i>				≤2.0	4.0	≥8.0	≤0.002		≥4.0
<i>C. guilliermondii</i>				≤2.0	4.0	≥8.0			
Caspofungina (CAS)	0.25-1.0	0.25-2.0	0.064-0.25						
<i>C. albicans</i>				≤0.25	0.50	≥1.0			
<i>C. glabrata</i>				≤0.12	0.25	≥0.50			
<i>C. tropicalis</i>				≤0.25	0.50	≥1.0			
<i>C. krusei</i>				≤0.25	0.50	≥1.0			
<i>C. parapsilosis</i>				≤2.0	4.0	≥8.0			
<i>C. guilliermondii</i>				≤2.0	4.0	≥8.0			
Fluconazol (FLU)	128-≥256	1.0-8.0	0.125-0.50						
<i>C. albicans</i>				≤2.0	4.0	≥8.0	≤2.0		>4.0

<i>C. glabrata</i>				-	32	≥64	≤0.002		>32
<i>C. parapsilosis</i>				≤2.0	4.0	≥8.0	≤2.0		>4.0
<i>C. tropicalis</i>				≤2.0	4.0	≥8.0	≤2.0		>4.0
Otras Especies							≤2.0		>4.0
Posaconazol (POS)	0.125-0.50	0.032-0.25	0.032-0.125						
<i>C. albicans</i>							≤0.06		>0.06
<i>C. parapsilosis</i>							≤0.06		>0.06
<i>C. tropicalis</i>							≤0.06		>0.06
Voriconazol (VO)	0.25-1.0	0.016-0.064	0.004-0.016						
<i>C. albicans</i>				≤0.12	0.25-0.50	≥1.0	≤0.12		≥0.12
<i>C. krusei</i>				≤0.50	1.0	≥2.0			
<i>C. parapsilosis</i>				≤0.12	0.25-0.50	≥1.0	≤0.12		≥0.12
<i>C. tropicalis</i>				≤0.12	0.25-0.50	≥1.0	≤0.12		≥0.12
Micfungina (MYC)	0.032-0.25	0.25-2.0	0.004-0.032						
<i>C. albicans</i>				≤0.25	0.50	≥1.0	≤0.016		>0.016
<i>C. glabrata</i>				≤0.06	0.12	≥0.25	≤0.03		>0.03
<i>C. tropicalis</i>				≤0.25	0.50	≥1.0			
<i>C. krusei</i>				≤0.25	0.50	≥1.0			
<i>C. parapsilosis</i>				≤2.0	4.0	≥8.0	≤0.002		>2.0
<i>C. guilliermondii</i>				≤2.0	4.0	≥8.0			
Inoculo	0.5 McFarland.								
Medio	Agar Muller Hinton con dextrosa al 2% y Azul de Metileno 0.5 µg/ml								
Incubación	Incubar a 35°C en bolsa plástica por 24-48 horas. Confirmar <i>C. glabrata</i> y <i>C. tropicalis</i> a las 48 horas.								
Interpretación de Resultados	Anfotericina B: inhibición completa del crecimiento; Azoles: Interpretar en el primer punto de inhibición significativo o marcado decrecimiento de la densidad. Se refiere al principio del 80% de inhibición visualmente seleccionar el CIM. Equinocandinas: Interpretar en el primer punto de inhibición significativo, 80% de inhibición.								

Figura 2: Resultados de las pruebas de susceptibilidad a las equinocandinas

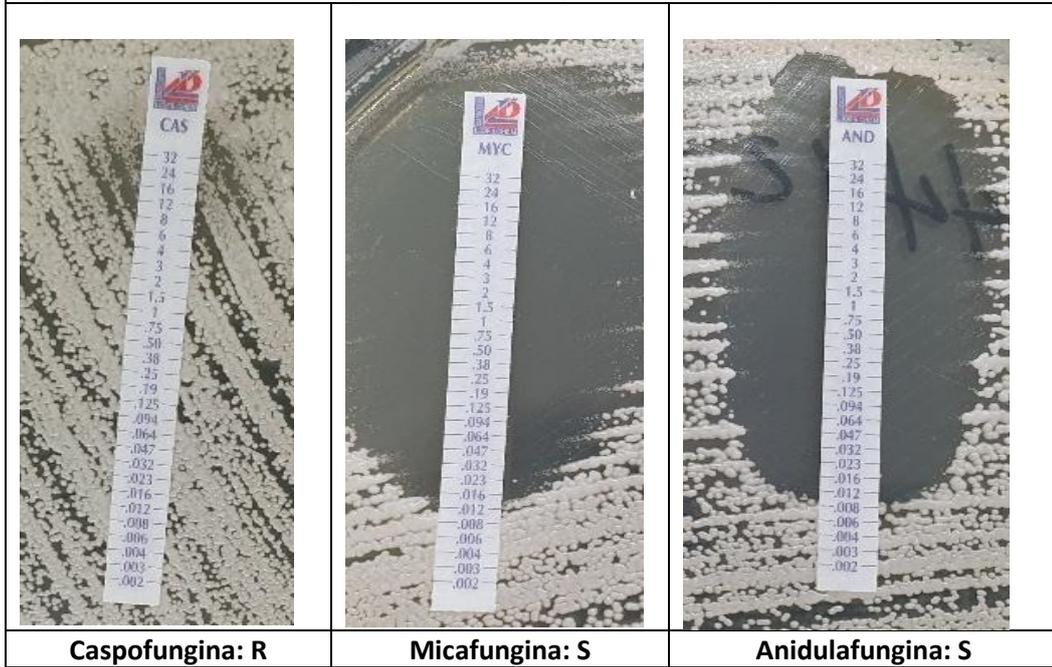


Figura 3: Resultados de las pruebas de susceptibilidad a Los azoles

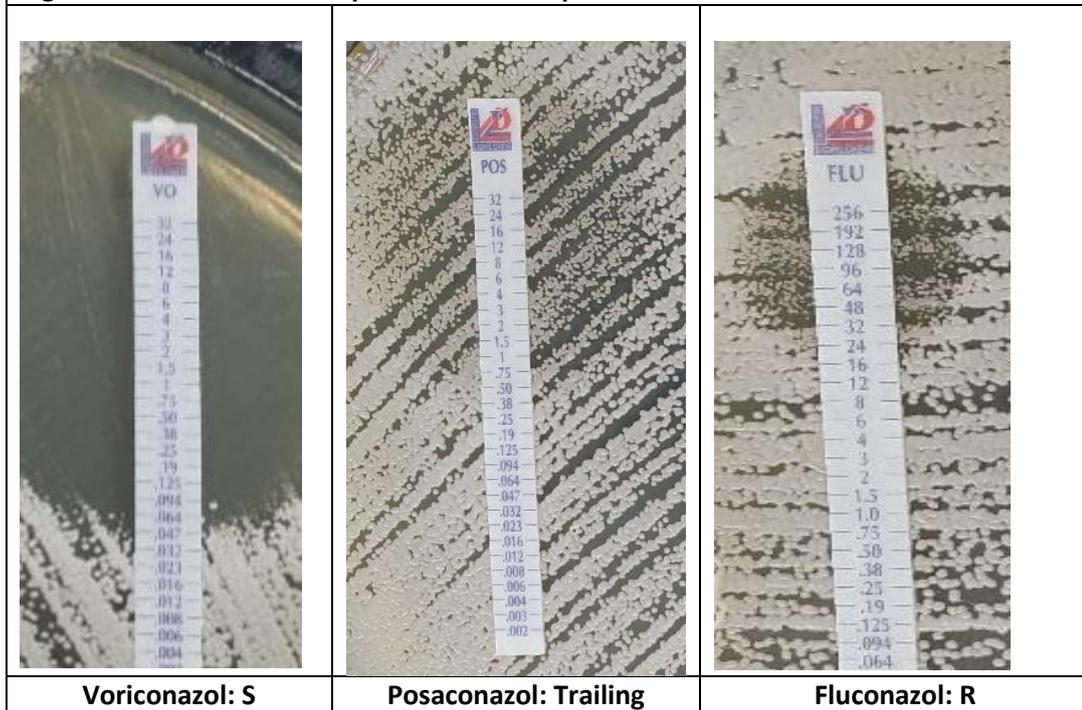


Figura 4: Resultados de las pruebas de susceptibilidad a los polienos

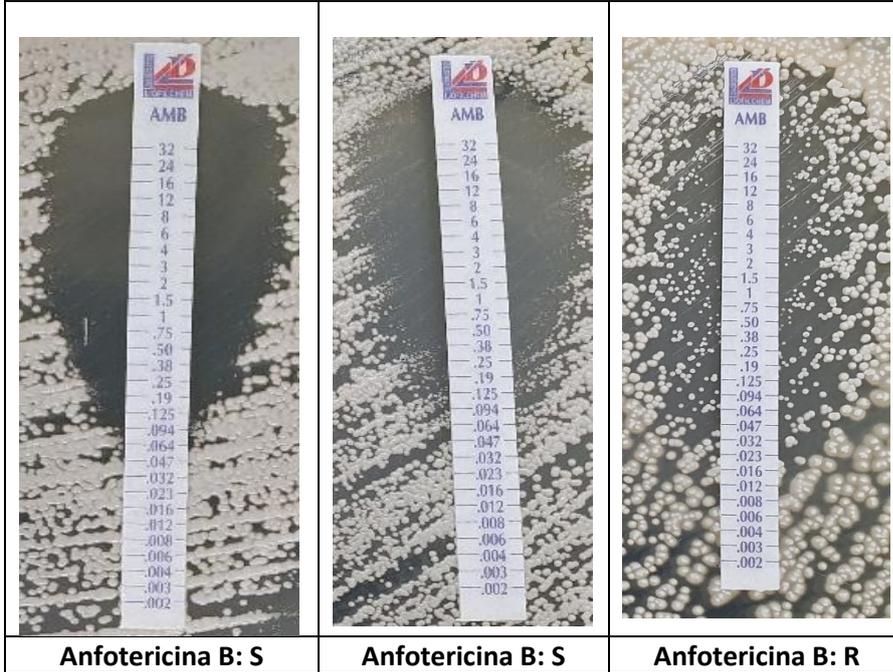


Figura 5: Perfil de susceptibilidad antifúngica de *Trichosporum asahii* a las equinocandinas y los azoles

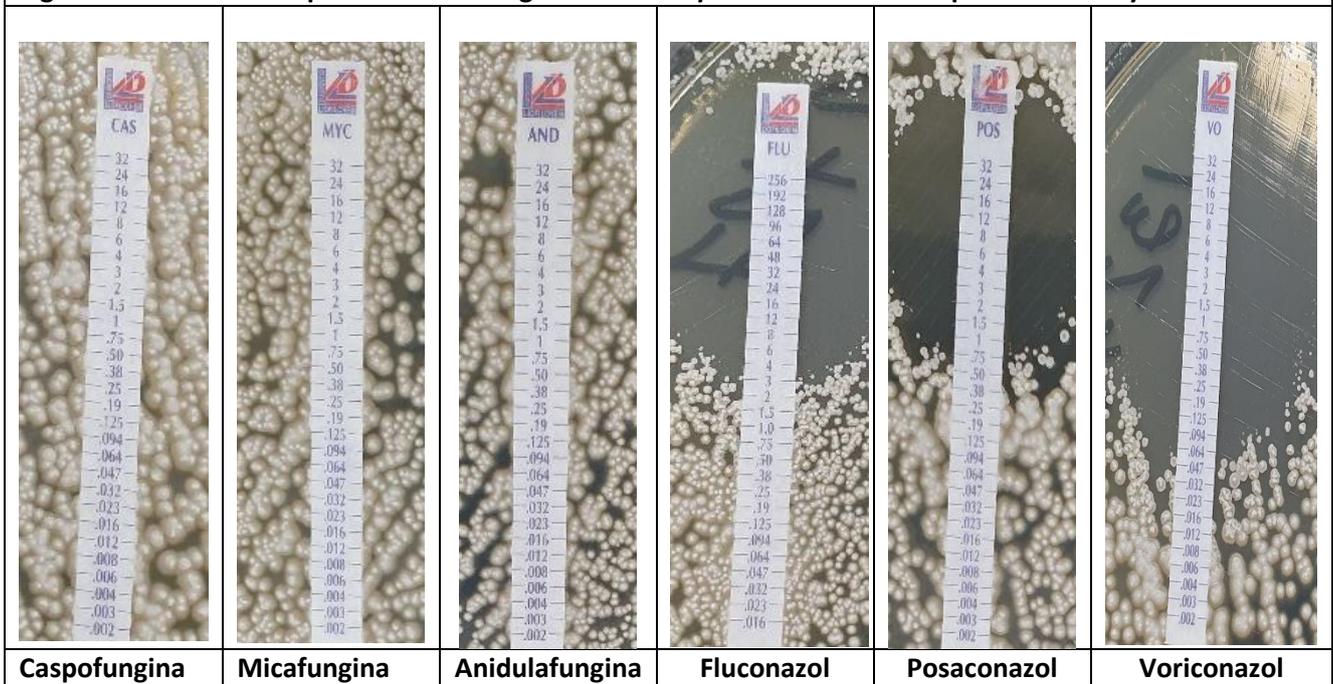
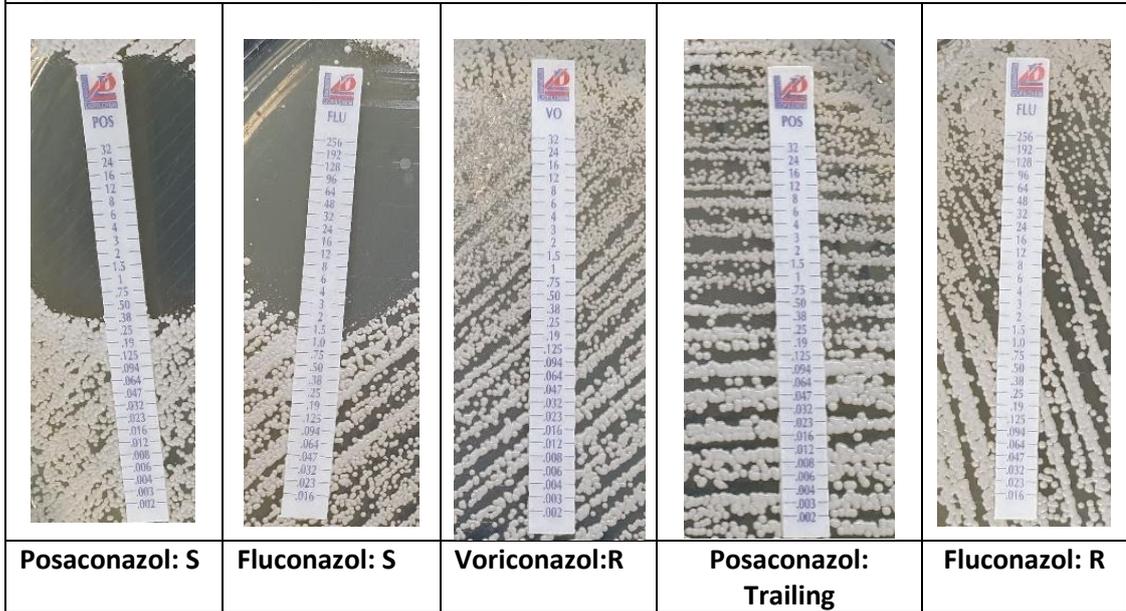


Figura 6: Resultados de pruebas de susceptibilidad a diferentes azoles



ÍNDICE DE TABLAS

Tablas	Descripción	Página
Tabla 1	Incidencia de candidiasis en recién nacidos según el peso	57
Tabla 2	Indicadores epidemiológicos relacionados a fungemia por año	109
Tabla 3	Frecuencia de aislados de especies de candida asociados a fungemia entre el periodo 2014 al 2016, identificados por VITEK2 versus VITEK-MS.	116
Tabla 4	Porcentaje de distribución de pacientes según la semana de gestación y peso al nacer.	118
Tabla 5	Porcentaje de antimicrobianos aplicados a neonatos durante la estancia hospitalaria en la UCIN.	121
Tabla 6	Frecuencia de los principales factores de riesgo asociados a fungemia.	125
Tabla 7	Porcentaje de susceptibilidad antifúngica de aislados del Complejo <i>C. parapsilosis</i> en la UCIN de 2014 a 2016, HDNDrJRE.	130
Tabla 8	Porcentaje de susceptibilidad antifúngica de aislados de <i>C. albicans</i> en la UCIN de 2014 al 2016, HDNDrJRE.	130
Tabla 9	Antifunjoograma basado en los resultados de pruebas de susceptibilidad acumulada para aislados de <i>C. parapsilosis</i> y <i>C. albicans</i> en la UCIN de 2014 al 2016, HDNDrJRE.	130

INDICE DE GRÁFICAS

Gráfica	Descripción	Página
Gráfico 1	Frecuencia de distribución de aislados de especies candida en la UCIN desde el 2014 al 2016, HDNDrJRE.	117
Gráfico 2	Porcentaje de susceptibilidad a los antifúngicos de cepas del Complejo <i>C. parapsilosis</i> aislados en la UCIN desde 2014 al 2016, HDNDrJRE.	127
Gráfico 3	Porcentaje de susceptibilidad a los antifúngicos de cepas de <i>C. albicans</i> aislados en la UCIN desde 2014 al 2016, HDNDrJRE.	129

ÍNDICE DE FIGURAS

Figuras	Descripción	Página
Figura 1	Esquema de los procesos requeridos para la identificación de microorganismos por MALDI-TOF-MS.	66
Figura 2	Resultados de pruebas de susceptibilidad a las equinocandinas.	167
Figura 3	Resultados de las pruebas de susceptibilidad a los azoles.	167
Figura 4	Resultados de las pruebas de susceptibilidad a los polienos.	168
Figura 5	Perfil de susceptibilidad antifúngica de <i>Trichosporum asahii</i> a las equinocandinas y los azoles	168
Figura 6	Resultados de pruebas de susceptibilidad a diferentes azoles.	169

INDICE DE CUADRO

Cuadro	Descripción	Página
Cuadro 1	Factores de riesgo asociados a candidiasis invasiva.	57