



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DEL NORDESTE



FACULTAD
DE MEDICINA

Maestría en Micología Médica

**“Hongos levaduriformes en pacientes
pediátricos hospitalizados.
Frecuencia y sensibilidad antifúngica”**

Alumna

Florencia Dinorah Rojas

Director

Jorge Luis Finquelievich

Año 2019

Universidad Nacional del Nordeste

Facultad de Medicina

Dedicado a

A mis cuatro amores, Male, Igna, Lucho y Luis

mi día es bello junto a ustedes

A mi mama y mi papa

Gracias por todo y por confiar en mí

A mi abuela

amor de mi vida, precursora del clan

Agradecimientos

Tengo la bendición de contar con gente hermosa a mí alrededor, fundamental en la construcción de esta mujer que soy, capaz de llevar a cabo un proyecto como este.

Gracias Tina, Lily y Javier. Todo esto es posible gracias a ustedes, mis compañeros diarios y amigos, que me ayudan, aconsejan y contienen, con mucho amor y respeto.

Gracias Gustavo, el director de orquesta de este equipo, por ese sin fin de oportunidades que me brindas y tu camino constante a mi lado.

Gracias Jorge por aceptar acompañarme, por tu paciencia, sabiduría y tu capacidad de trasmitirla, esta tesis representa un pedacito de todo aquello que nos llega a tus alumnos cuando educas.

Gracias Luis, por tu amor, por cuidarlos y ayudarme para que hoy pueda estar escribiendo estas palabras finales.

Indice

| | |
|---|-----------|
| INTRODUCCIÓN | 2 |
| Justificación..... | 12 |
| Hipótesis | 13 |
| OBJETIVOS | 14 |
| Objetivos generales..... | 14 |
| Objetivos específicos..... | 14 |
| MATERIALES Y MÉTODOS | 16 |
| 1. Identificación: | 16 |
| Producción de ureasa..... | 17 |
| Examen en fresco con tinta china | 17 |
| Micromorfología..... | 17 |
| Siembra en medios cromogénicos | 17 |
| Sistemas comerciales para identificación definitiva | 18 |
| 2. Estudio de Sensibilidad | 18 |
| RESULTADOS | 21 |
| Tabla 1. Frecuencia de especies aisladas en pacientes pediátricos y neonatos... 21 | |
| Grafico 1. Representación gráfica de las frecuencias de aislamientos de <i>C. albicans</i> y levaduras no - <i>C. albicans</i> durante el período de 10 años. 22 | |
| Tabla 2. Número de aislamientos y frecuencias de especies aisladas durante cada año de estudio..... 23 | |
| Tabla 3. Origen de los aislamientos de acuerdo a las especies obtenidas. 24 | |
| Tabla 4. Número de pacientes neonatos con desarrollo de levaduras en muestras tomadas en simultaneo. 26 | |
| Tabla 5 . Pacientes que presentaron mas de un aislamiento de levaduras en diferentes momentos. Especies aisladas y factor predisponente 27 | |
| Tabla 6. Asociaciones encontradas según la muestra clínica y la población en estudio..... 28 | |

| | |
|---|-----------|
| Tabla 7. Factores de riesgo de algunos de los pacientes, especificando las especies aislada en cada caso..... | 29 |
| Tabla 8. Porcentajes de levaduras sensibles, sensibles dependiente de dosis y resistentes al fluconazol | 30 |
| Tabla 8: Valores de CIM de especies y géneros para los cuales no estan establecidos puntos de cortes clínicos ni epidemiológicos..... | 33 |
| DISCUSIÓN | 35 |
| <i>Candida parapsilosis</i> | 37 |
| <i>Candida albicans</i> | 39 |
| <i>Candida tropicalis</i> | 41 |
| <i>Candida glabrata</i> | 42 |
| Especies menos frecuentes | 45 |
| <i>C. lusitaniae</i> | 45 |
| <i>Candida krusei</i> | 48 |
| Otros géneros | 51 |
| <i>Rhodotorula sp.</i> | 51 |
| <i>Trichosporon sp.</i> | 52 |
| <i>Cryptococcus sp.</i> | 54 |
| Candidemias | 54 |
| Infecciones asociadas a catéteres | 57 |
| Orina | 59 |
| Levaduras aisladas de materia fecal en pacientes neonatos | 62 |
| Sensibilidad antifúngica | 63 |
| CONCLUSIONES..... | 68 |
| BIBLIOGRAFIA | 70 |
| ANEXO..... | 78 |

Glosario

C: *Candida*

Tr: *Trichosporon*

Cr: *Cryptococcus*

R: *Rodothorula*

UCI: unidad de cuidados intensivos

UCIN: unidades de cuidados intensivos neonatales

ATCC: American Type Culture Collection

CIM: Concentración inhibitoria mínima

CLSI: Clinical Laboratory Standards Institute

CVC: Catéter venoso central

FCZ: fluconazol

KTZ: ketoconazol

ITZ: itraconazol

VCZ: voriconazol

AMB: anfotericina B

h: horas

µg: microgramo

µl: microlitro

MALDI-TOF: matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight

IFI: Infección fúngica invasora

Resumen

Introducción: En los últimos años, se ha observado un importante aumento de las micosis diseminadas y un cambio en la frecuencia y diversidad de las especies que las producen. Las infecciones fúngicas nosocomiales representan una importante causa de morbilidad en el mundo, y están asociadas a elevados costos al sistema sanitario. A medida que la medicina contemporánea avanza en mejorar la calidad de vida de pacientes, las infecciones fúngicas invasoras se convierten en una complicación cada vez más importante.

El género *Candida* se comporta como un importante patógeno nosocomial, junto a otras levaduras antes consideradas saprofitas, inocuas o que raramente producían enfermedad. La frecuencia con que se aíslan las distintas especies de *Candida* varía según el país, el hospital, las diferentes unidades de internación, e incluso también el año del estudio. Durante muchas décadas, *Candida albicans* fue la especie predominante. A pesar de que aún se recupera con elevada frecuencia, los aislamientos de especies no *-C albicans* se ha incrementado en los últimos años, y en ciertos casos, supera en número a los aislamientos de *C. albicans*.

En general, los datos informados con relación a la epidemiología, diagnóstico y tratamiento de las infecciones fúngicas han sido obtenidos de estudios realizados en pacientes adultos, siendo la población pediátrica en general excluida. Los recién nacidos prematuros, los pacientes pediátricos con cáncer, los niños con inmunodeficiencias primarias o adquiridas y aquellos que requieren largas permanencias en cuidados intensivos representan grupos de riesgo para desarrollar infecciones fúngicas invasoras.

El diagnóstico y tratamiento de infecciones fúngicas es un desafío, particularmente en el paciente pediátrico. Los signos y síntomas son inespecíficos, la colonización es difícil de distinguir de la enfermedad invasiva, los hemocultivos pueden ser negativos y los pacientes a menudo no pueden someterse a procedimientos de

diagnóstico invasivos. Son pocas las opciones terapéuticas disponibles para el manejo de infecciones fúngicas, principalmente en niños. Conocer nuestra epidemiología nos permitirá comprender qué pacientes se enfermarán y por qué, determinar quién está en riesgo de desarrollar una enfermedad y dirigir mejor nuestros recursos y esfuerzos de diagnóstico y terapéutica, La detección temprana y el tratamiento de infecciones por levaduras, son la llave para disminuir el riesgo de la morbimortalidad de estos pacientes.

Objetivo: Conocer la frecuencia y el perfil de sensibilidad antifúngica de especies de levaduras aisladas de muestras clínicas de pacientes pediátricos hospitalizados y neonatos de unidades de cuidados intensivos en nosocomios de nuestra región.

Materiales y métodos: Durante enero de 2005 y diciembre 2015 se estudiaron todas las levaduras aisladas de muestras clínicas de pacientes pediátricos del Hospital Pediátrico "Juan Pablo II" de Corrientes y de pacientes neonatos de sanatorios privados de Resistencia. Las mismas fueron derivadas al Departamento de Micología del Instituto de Medicina Regional - Universidad Nacional del Nordeste, para su identificación y estudio de sensibilidad antifúngica. La identificación se realizó en base a características morfológicas, bioquímicas y fisiológicas de cada espécimen. La identificación definitiva fue realizada empleando sistema comercial API ID 32C. Se determinó la concentración inhibitoria mínima de fluconazol, voriconazol, itraconazol, ketoconazol y anfotericina B para cada aislamiento, empleando la técnica de microdilución en caldo.

Resultados: Se procesaron un total de 416 levaduras obtenidas a partir de 268 pacientes, 196 pediátricos (entre 2 meses a 16 años) y 72 neonatos internados en unidades de cuidados intensivos (0 hasta 3 meses de edad). Se identificaron un total de 14 especies. Del total de aislamientos, las especies del complejo *C. parapsilosis* fueron aisladas con mayor frecuencia (34,7 %), seguida por *C. albicans* complex (32,7%), *C. tropicalis* (21,1 %), *C. glabrata* complex (4,08 %) y

Trichosporon spp. (2,64%). Este orden de frecuencias se mantuvo en ambas poblaciones por separado, pero en pediátricos *C. glabrata* ocupó el 4º lugar junto con *Tr. asahii*. La distribución de *C. albicans* en relación a las levaduras no- *C. albicans* mostró diferencias estadísticamente significativas entre ellas en cada año de estudio, excepto en 2008, 2009 y 2011, donde la frecuencia de aislamientos *C. albicans* y levaduras no- *C. albicans* fue similar. Las levaduras *C. parapsilosis* fueron aisladas con mayor frecuencia en muestras de sangre en ambas poblaciones, pero en un porcentaje significativamente mayor entre pacientes neonatos (pediátricos: 37,4 %, neonatos: 63,3 %). En pacientes pediátricos, la segunda especie en hemocultivos fue *C. tropicalis* (25,2 %), seguida por *C. albicans* (24,2 %), y en neonatos *C. albicans* (13,6 %), luego *C. tropicalis* (9,1%). De 71 aislamientos de catéteres pediátricos, 20 fueron acompañados por levaduras en los hemocultivos. Las especies de estas muestras paralelas sangre/catéter fueron: 8 *C. parapsilosis*, 6 *C. tropicalis*, 2 *C. albicans*, 1 donde *C. parapsilosis* se aisló de sangre y *C. albicans* de catéter y 3 donde se aisló *C. albicans* del hemocultivo y *C. parapsilosis* en el catéter. En las muestras de orina, *C. albicans* fue la especie predominante en ambas poblaciones (50,8% entre pacientes pediátricos y 36,7% en pacientes neonatos).

Del total de *C. parapsilosis*, 6 cepas de pediátricos y 4 de neonatos resultaron con sensibilidad disminuida frente al FCZ: 2 de catéteres (2 SDD), 4 de sangre (4 SDD) y 4 de orinas (1 SDD y 3 R). Uno de los pacientes pediátricos presentó en sangre y catéter, aislamientos de *C. parapsilosis* SDD frente al FCZ. Otro de los pacientes presentó una cepa de *C. parapsilosis* SDD al FCZ, luego de tres hemocultivos previos positivos con cepas sensibles durante el tratamiento con FCZ. Hubo 2 cepas de *C. albicans* una R y una SDD, aisladas de orinas de pacientes neonatos. Todas las levaduras de *C. tropicalis*, *C. krusei* y los complejos *C. parapsilosis* y *C. albicans* fueron sensibles al VCZ.

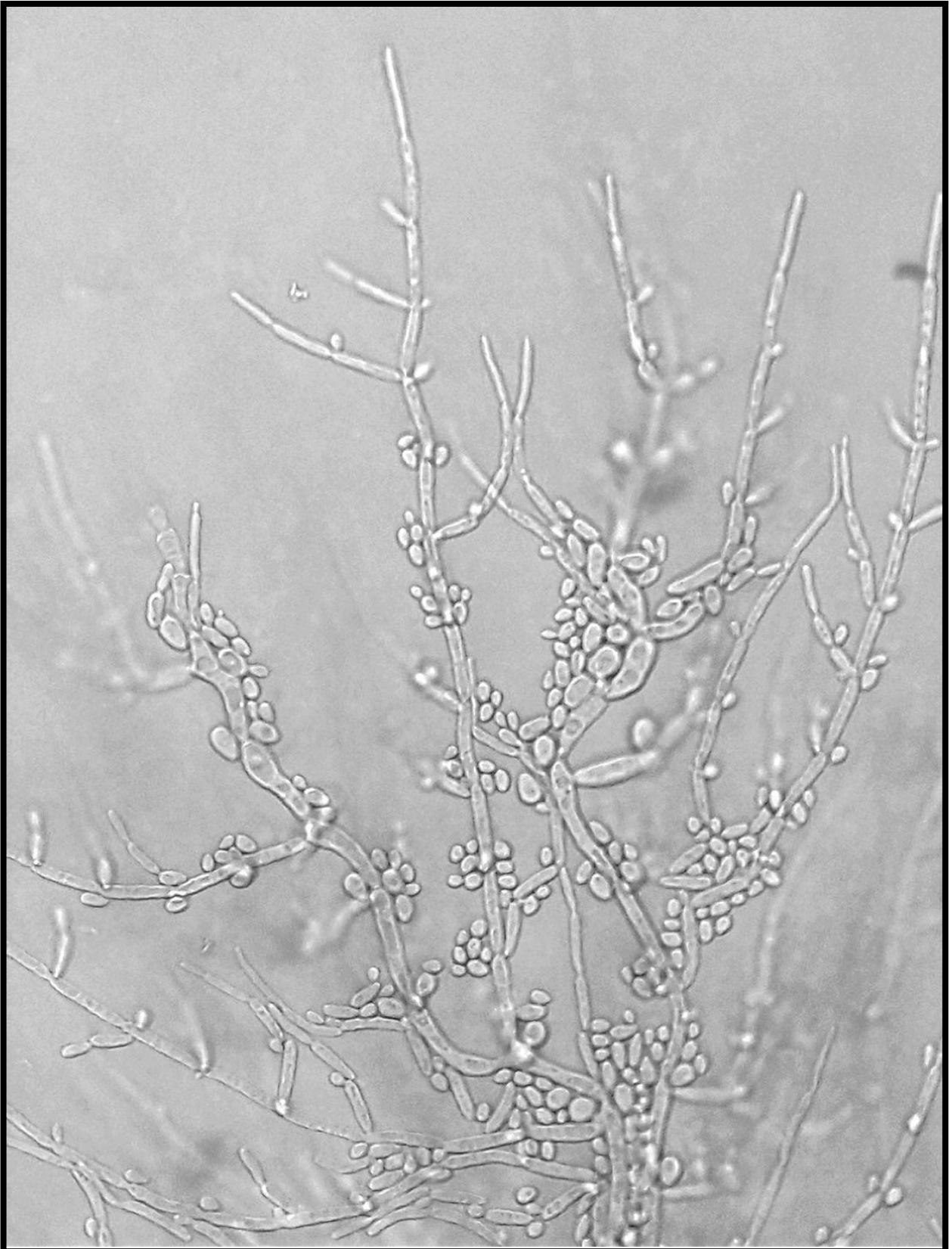
Discusión: A medida que la medicina contemporánea avanza en el tratamiento de afecciones de elevada mortalidad las infecciones fúngicas invasoras constituyen una complicación cada vez más importante. A pesar de los progresos realizados en los cuidados de los pacientes de alto riesgo, las infecciones fúngicas están asociadas a una tasa de mortalidad significativamente alta. Este primer gran estudio de levaduras en pacientes pediátricos de nuestra región mostró una elevada incidencia de infecciones por levaduras en niños, una distribución típica de especies con *C. albicans*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* representando la mayoría de los episodios, similar a la observada en otros estudios de Latinoamérica y Argentina. Quedó en evidencia que entre pacientes pediátricos en nuestra región, *C. parapsilosis* es la especie prevalente y ha desplazado a *C. albicans* como especie más frecuente, siendo la primera aislada de la mayoría de las muestras procesadas, principalmente en muestras de hemocultivos y catéteres. La elevada incidencia del complejo *C. parapsilosis* como patógeno humano, se puede relacionar a que esta levadura forma parte de la biota normal de la piel. Se aísla de la piel del personal de salud, además de las superficies y de materiales médicos, y se comprobó su transmisión a los pacientes a través de las manos del personal y su persistencia en los ambientes hospitalario, resultando en una de las vías de infección horizontal por levaduras más comunes. Considerando la elevada prevalencia de *C. parapsilosis* encontrada en este trabajo y debido a la gran relación que guarda con infecciones de tipo exógeno, son necesarias estrictas medidas preventivas de higiene y concientización en la importancia del lavado de manos, además del cuidado en el manejo de los catéteres, a fin de evitar la colonización del mismo, posterior formación de biofilm y de esta manera disminuir la incidencia de infecciones producidas por esta levadura.

El 67,3% de las especies aisladas resultaron levaduras no - *C. albicans*. La amplia variedad y elevada proporción de levaduras no *C. albicans* detectadas en este

trabajo pone énfasis en la necesidad de identificación de especies como necesidad de conocer nuestra epidemiología, además que nos permitirá definir acerca de la preferencia de estas especies a nichos específicos entre pacientes pediátricos. El monitoreo sistemático de levaduras permite conocer cambios en la distribución de especies y detectar cepas resistentes, importante entre pacientes pediátricos donde las opciones terapéuticas son escasas en nuestra región. Este aumento podría estar relacionado con la existencia de mejores métodos de diagnóstico e identificación, el uso creciente y generalizado de ciertas prácticas médicas y por otro lado a la selección de especies más resistentes debido al uso más extenso de antifúngicos. Dado que estas especies poco comunes pueden encontrarse como patógenos oportunistas importantes entre los pacientes pediátricos, resulta fundamental documentar su comportamiento frente a los agentes antifúngicos para definir manejo terapéutico del paciente.

A pesar de que los métodos convencionales de identificación de levaduras permiten obtener una identificación básica de especies, es necesario incorporar metodología avanzada como ser técnicas moleculares y de espectrometría de masa que permitan detectar diferencias o relaciones sutiles entre las especies que forman parte de un complejo.

Finalmente, es importante señalar que la resistencia a los antifúngicos sigue siendo baja y restringida a unos pocos aislamientos. Es por importante entonces centrarse en identificar a esas especies menos frecuentes, como *C. lusitaniae*, *C. famata*, *Trichosporon* sp. debido que algunas de ellas muestran baja sensibilidad a los agentes antifúngicos clínicos.



Candida parapsilosis complex 400X Agar leche.

INTRODUCCION

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se ha observado un importante aumento de las micosis diseminadas y un cambio en la frecuencia y diversidad de las especies que las producen (1–3). Las infecciones fúngicas nosocomiales representan una importante causa de morbilidad en el mundo, y están asociadas a elevados costos al sistema sanitario; a medida que la medicina contemporánea avanza en mejorar la calidad de vida de pacientes con enfermedades malignas, con trasplante de órganos y trastornos autoinmunes, las infecciones fúngicas invasoras se convierten en una complicación cada vez más importante.

Diferentes estudios han demostrado que los hongos levaduriformes siguen siendo una causa principal de enfermedad fúngica invasora en pacientes internados en todo el mundo. En Estados Unidos, la sepsis relacionada con infecciones fúngicas aumentó en un 207%, desde algo más de 5.000 casos en 1979 hasta más de 16.000 episodios en el año 2000, siendo *Candida* spp. el hongo aislado con mayor frecuencia (4). El análisis de los datos a través del National Nosocomial Infections Surveillance System reveló un aumento en la incidencia de 2,0 a 3,8 infecciones fúngicas/1000 pacientes, donde el 78% de las mismas fueron causadas por levaduras del género *Candida*. Este mismo estudio reveló que entre los microorganismos que causaban infección del torrente sanguíneo, los hongos ocuparon el 4º lugar, más frecuentes incluso a patógenos tan comunes como *Escherichia coli*. Entre el 8-10% del total de infecciones adquiridas por vía hematológica fueron producidas por las especies del género *Candida*, y demostraron un aumento del 487% en su frecuencia durante la década en estudio (5).

En otro estudio relacionado a infecciones en la UCI realizado en cinco continentes, que incluyó 76 países, la prevalencia de candidemia fue de 6,87 episodios /1000 ingresos en la UCI. El mismo reveló que la supervivencia de los pacientes con candidemias en la UCI fue significativamente menor que en el caso de bacteriemia

tanto por bacterias Gram negativas como Gram positivas (42,6%, 25,3%, y 29,1% respectivamente)(6). Un estudio multicéntrico realizado por Nucci y *col.* entre 2008 al 2010, demostró que Argentina fue el país de Latinoamérica con la tasa más alta de candidemia, 1,95 casos /1000 admisiones y 0,24 casos cada 1000 pacientes día. Además mostró que el 44,2 % de los niños de UCI habían sufrido al menos, un episodio de candidemia durante su internación (7).

En general, los datos informados con relación a la epidemiología, los diagnósticos y tratamientos de las infecciones fúngicas han sido obtenidos de estudios realizados en pacientes adultos, siendo la población pediátrica excluida, en general, de este tipo de análisis. Los recién nacidos prematuros, los pacientes pediátricos con cáncer, los niños con inmunodeficiencias primarias o adquiridas como el SIDA, y aquellos pacientes que requieren largas permanencias en unidad de cuidados intensivos representan grupos de riesgo para desarrollar infecciones fúngicas invasoras. El riesgo aumenta en niños que requieren trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) y terapia inmunosupresora (8–12). En estos grupos de riesgo, numerosos factores aumentan la predisposición a este tipo de infecciones, entre ellos el uso de catéteres, de prótesis y otros dispositivos implantables, las terapias con antibióticos de amplio espectro, la nutrición parenteral, los tratamientos inmunosupresores, la cirugía gastrointestinal y/o historia de colonización fúngica o las neutropenias prolongadas (11,13–16).

Muchos de los factores de riesgos que afectan a los pacientes adultos, también afectan a los pacientes neonatos tales como uso de catéter venoso central, los protectores gástricos y la terapia antibacteriana. Sin embargo, aquí se suman otros factores como la prematurez y el bajo peso al nacer que incrementan la predisposición a desarrollar infecciones fúngicas (14,16). Un niño prematuro de edad gestacional menor de 25 semanas tiene mayor probabilidad de desarrollar candidiasis en comparación con los bebés de más de 28 semanas. Otros factores

de riesgo incluyen trombocitopenia y tratamientos con cefalosporinas o carbapenem (14,16–18).

El género *Candida* se comporta como un importante patógeno nosocomial, junto a otras levaduras antes consideradas saprofitas, inocuas o que raramente producían enfermedad (4,6,7,12–14). La frecuencia con que se aíslan las distintas especies de *Candida* varía según el país, el hospital, las diferentes unidades de internación, e incluso también el año del estudio. Durante muchas décadas, *Candida albicans* (*C. albicans*) fue la especie causante de infecciones fúngicas predominante. A pesar de que en la actualidad aún se recupera con elevada frecuencia en muestras clínicas, los aislamientos de especies de levaduras no -*C. albicans* ha ido incrementando notablemente en los últimos años, y en ciertos casos, este grupo supera en número a los aislamientos de *C. albicans* (22–27).

Este aumento de la participación de especies no *C. albicans* podría, en parte, estar relacionada a las mejoras logradas en los métodos de diagnóstico e identificación actualmente utilizados. Por ejemplo, el uso de medios cromogénicos tiene la capacidad de diferenciar presuntivamente especies de *Candida* de manera más rápida y fácil; la introducción de técnicas moleculares en la rutina de diagnóstico ha permitido realizar identificación de especies de levaduras y en ciertos casos, directamente a partir de la muestra clínica, la espectrometría de masas ofrece una alternativa efectiva y rápida para la identificación de microorganismos entre ellos levaduras (28–31). Por otro lado, también podría ser una consecuencia de diferentes niveles de resistencia que estas especies presentan a los antifúngicos, comparadas con *C. albicans*, favoreciendo de esta manera su persistencia en las infecciones, promoviendo de esta manera la disminución en frecuencia de esta especie (28,32).

Los estudios de vigilancia longitudinal de instituciones individuales, ciudades, países y regiones geográficas amplias han documentado este surgimiento de especies no *C. albicans*, así como su mayor resistencia a los antifúngicos de uso

clínico. Se ha demostrado que la resistencia a fluconazol y equinocandinas es más común entre especies no *C. albicans* y en parte se debe a que existen algunas de estas especies con resistencia primaria a los antifúngicos, como por ejemplo *C. krusei* a fluconazol, y otras como *C. glabrata*, con capacidad de adquirir resistencia secundaria a las drogas antifúngicas (10, 22,33–36).

Más de 30 especies han sido notificadas como agentes etiológicos de candidiasis invasivas. Entre los pacientes pediátricos, las especies más común informadas son *C. albicans*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* (10,11, 16, 19,20,26,27), y en menos frecuentes *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. kefyr*, *C. lusitaniae* y levaduras de otros géneros, como *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Malassezia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Pichia* y *Hansenula* (10,11, 15, 19, 24,37–39). Por otro lado, el uso de métodos de identificación molecular ha ampliado la diversidad de especies que se encuentran producen enfermedad (29,40).

La mayoría de las especies del género *Candida* han sido reconocidas como parte de la microbiota normal de la piel, las mucosas, el tracto gastrointestinal y los aparatos genital y urinario del ser humano (39,41). Sin embargo, en determinadas situaciones que alteran o modifican el equilibrio existente entre individuo-*Candida*, la levadura puede comportarse como un patógeno oportunista y producir una gran variedad de enfermedades (42). La ruptura de este equilibrio puede deberse a uno o varios factores, como ser disminución de las defensas del hospedador de origen fisiológico (edades extremas, embarazo), enfermedades de base preexistente (diabetes, endocrinopatías etc), inmunosupresión (virus de inmunodeficiencia humana (VIH), leucemia), tratamientos prolongados (quimioterapia, corticoterapia), entre otros. O bien, por la disrupción anatómica de barreras del hospedero debido a situaciones tales como traumatismos, quemaduras, la implantación de dispositivos médicos como ser el uso de catéteres venosos y urinarios o cirugías

extensas. Cualquier tipo de interrupción de la barrera epitelial, favorece la penetración de los microorganismos que constituyen la microbiota a la circulación (37,42).

La detección de *Candida* en muestras clínicas puede representar una colonización, infección local o infección invasiva. En pacientes hospitalizados, los microorganismos que participan en las infecciones provienen de fuentes endógenas y exógenas (43). Entre las primeras se incluye tubo digestivo, la mucosa vaginal, la uretra y la piel. La colonización masiva del intestino, así como el daño producido en las mucosas del aparato digestivo, pueden favorecer la translocación de las levaduras a través de las mucosas hacia los vasos linfáticos y de éstos al torrente sanguíneo, dando así origen a las fungemias (41,43,44). Entre las infecciones de origen exógeno, deben señalarse las ocasionadas por soluciones de nutrición parenteral contaminadas, procedimientos quirúrgicos, las soluciones endovenosas y la infección de válvulas cardíacas y otras prótesis (23, 43,45).

La colonización fúngica en pacientes pediátricos internados y el riesgo de asociación con infecciones invasoras es bien conocida. El ingreso de los pacientes en una unidad de cuidados intensivos a menudo involucra la colonización de sus mucosas y/o piel, pudiendo desarrollar, como complicación de su permanencia, formas diseminadas graves (42). Los factores que favorecen la colonización entre pacientes pediátricos son el bajo peso, la corta edad gestacional (menor a 27 semanas), tiempo de estancia hospitalaria superior a tres semanas, uso de tratamientos antibióticos, existencia de catéteres venosos centrales, asistencia respiratoria mecánica, y/o procedimientos quirúrgicos. Un cuarto de los recién nacidos se coloniza con *Candida* y, de estos, dos tercios lo hacen en la primera semana de vida. En los primeros días la colonización es en el recto, en fauces y en

la tráquea. Tras la segunda semana, el grado de colonización disminuye en estos sitios y aumenta en la ingle. *Candida albicans* es la especie que predomina y se observa mayor colonización en los nacidos por vía vaginal (17,46,47). Habitualmente se considera que el origen de *Candida* es la microbiota del paciente, pero también se puede adquirir de forma horizontal. Los pacientes cambian la cepa propia por otra que adquieren en el hospital y la diseminación puede hacerse a través del contacto humano, los objetos inanimados o la comida (16).

Las infecciones producidas por levaduras incluyen una serie de enfermedades que pueden afectar a la mayoría de los sistemas del cuerpo, produciendo desde enfermedades mucocutáneas leves y funguria, hasta infecciones graves profundas como meningitis, endocarditis e infecciones intra abdominales (48). Entre las muchas manifestaciones clínicas de la candidiasis, la candidemia y la candidiasis invasiva han recibido la mayor atención en los ensayos clínicos. Varios autores han demostrado que la mortalidad está estrechamente relacionada con el momento de la terapia y/o el control de la fuente. Por ejemplo, una intervención temprana con una terapia antifúngica apropiada y/o la extracción de un catéter venoso central (CVC) contaminado o el drenaje de material infectado generalmente se asocia con mejores resultados generales.

El término fungemia se utiliza para designar la presencia de hongos en sangre, detectadas mediante el hemocultivo. Se producen cuando los microorganismos invaden el torrente sanguíneo y se multiplican a un ritmo que supera la capacidad del sistema retículo endotelial para eliminarlos. La candidemia se asocia con hasta un 47% de mortalidad atribuible, y esto es aún mayor entre las personas con shock séptico (49). Esta invasión puede producirse desde un foco infeccioso extravascular, a través de los capilares sanguíneos o de los vasos linfáticos, o

desde un foco intravascular (endocarditis, infecciones de catéteres intravasculares o arteriales)(50). Los CVC están comúnmente relacionados con la candidemia, pero los catéteres no siempre son la fuente, especialmente entre los pacientes neutropénicos, en los que el tracto gastrointestinal es una fuente común.

La detección de las fungemias constituye una de las prioridades del sistema de salud; las levaduras que invaden el torrente circulatorio pueden diseminarse, principalmente en bebés que tienen un sistema inmune inmaduro, e invadir otros órganos. Por estas razón, las fungemias están asociadas a una elevada mortalidad, informada entre un 10 hasta un 40 % entre pacientes pediátricos críticos (51,52).

Un diagnóstico de IFI en un niño inmunocomprometido comienza con una valoración del riesgo. Dicha evaluación incluye la evaluación de la probabilidad de que las manifestaciones clínicas de un paciente sean causadas por una IFI. Factores como la enfermedad neoplásica primaria, defectos cuantitativos y cualitativos en neutrófilos, monocitos, células T, células B, anticuerpos y citocinas, la integridad de la mucosa y el tratamiento inmunosupresor son críticos en esta evaluación del riesgo. Un historial cuidadoso y un examen físico meticuloso complementan la evaluación junto a la cama, al tiempo que proporcionan una guía para la selección racional de las modalidades de diagnóstico por imágenes y los estudios de laboratorio.

En los últimos años, el diagnóstico de laboratorio de las infecciones fúngicas ha mejorado con la llegada de nuevos métodos para el aislamiento y la identificación de hongos. Se han utilizado con éxito nuevas tecnologías tales como la detección de anticuerpos y antígenos, y otros como la técnica T2 de visualización de resonancia magnética para diagnóstico de candidiasis invasora, y las nuevas técnicas moleculares para la tipificación y detección de patógenos fúngicos en

algunos casos a partir de la muestra (29,53,54). La utilización de herramientas moleculares y de espectrometría de masa como el MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization – Time of Flight) ha permitido desarrollar nuevos métodos de identificación de *Candida*, lo que lleva a la identificación de nuevas especies junto con su mayor reconocimiento en la infección humana. Estos estudios revelan diferencias genómicas que han permitido clasificar a las especies que anteriormente se creían únicas, como complejos de especies, como ser el caso de los complejos *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. glabrata* entre otras (55,56). Son complejos de especies fenotípicamente similares, pero que son genéticamente distintas. Por ejemplo, *C. dubliniensis*, especie relacionada *C. albicans*, fue originariamente aislada en infecciones orales y orofaríngeas en pacientes con SIDA y algunos aislados pueden presentar resistencia al FCZ. Otras como *C. metapsilosis*, *C. orthopsilosis*, son especies crípticas que forman parte de junto a *C. parapsilosis* sensu stricto del complejo *C. parapsilosis*, y presentan mínimas diferencias en su respuesta a los antifúngicos, y además se ha informado de su capacidad diferencial de causar brotes nosocomiales, como ser el caso de *C. orthopsilosis* (55). Otro ejemplo importante del aporte relacionado a las nuevas técnicas lo constituye la identificación de *Candida auris*. Esta levadura recientemente reconocida como una levadura multirresistente de notificación obligatoria, emergente a nivel mundial, puede causar infecciones invasoras asociada a una elevada mortalidad. Uno de los principales inconvenientes de esta levadura es que representa un desafío para identificar y tratar, debido a solo puede ser identificada a través de métodos moleculares o MALDI-TOF, no pudiendo ser reconocida por métodos convencionales y a que ha sido reportada como resistente al fluconazol y de sensibilidad variable a otros azoles, anfotericina B y equinocandinas (<https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/index.html>) (57–61).

A pesar de los grandes avances que han permitido las técnicas moleculares al diagnóstico microbiológico, muchos de estos métodos aún no se han estandarizado ni validado en ensayos clínicos y, por lo tanto, no se utilizan ampliamente en los laboratorios microbiológicos, además de otras limitaciones como el hecho de no disponer de un presupuesto adecuado en los nosocomios públicos de nuestra región que habilite a la implementación de estas técnicas. Actualmente la gran mayoría del diagnóstico de infecciones fúngicas en nuestra región se basan en metodologías convencionales, no moleculares debido a la cantidad reducida de equipos de PCR en los laboratorios hospitalarios y los escasos recursos disponibles. El cultivo y el examen microscópico siguen utilizándose en nuestra región como el "estándar de oro", aunque en general, son pocos sensibles. Los análisis de antígeno, como los sistemas de detección de galactomananos y glucanos, se usan, aunque no con frecuencia, pero estas pruebas varían en sensibilidad y especificidad, dependiendo en gran medida a la experiencia del personal que lo realice y de la población de pacientes evaluados.

Las guías de tratamiento de las infecciones fúngicas están dirigidas en general a paciente adultos, poco hay documentado en niños (49,57,58). Sin embargo, existen grandes diferencias entre niños y adultos en el tratamiento, por ejemplo en la farmacocinética, que requiere modificación de la dosis, o diferencias significativas en toxicidad, particularmente de nefrotoxicidad, frente a los diferentes antifúngicos. Por lo tanto, es primordial la obtención de datos pediátricos específicos para guiar terapia antifúngica en niños. Las guías elaboradas por Infectious Diseases Society of America (IDSA) incluyen recomendaciones para la prevención y el tratamiento de infecciones oportunistas en niños expuestos al VIH e infectados por el VIH (<https://aidsinfo.nih.gov/guidelines>), y por otro lado en la guía referente al manejo de la candidiasis recibe el apoyo de American Academy of Pediatrics (AAP) y la Pediatric Infectious Diseases Society (PIDS)(49) en las

recomendaciones pediátricas. Las guías ESCMID elaboradas por la European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases establecen pautas para la prevención y manejo de infecciones invasivas en neonatos y niños causadas por *Candida* spp.(58) En ambas recomendaciones para tratamiento de las candidiasis invasivas pueden resumirse en común: la utilización de equinocandinas como primer línea de tratamiento, seguida por fluconazol como alternativa aceptable a utilizarse en pacientes que no están críticamente enfermos y/o que se considera poco probable que tengan infección por una especie de *Candida* resistente a fluconazol. Estas guías también sugieren la transición de equinocandinas a fluconazol (generalmente dentro de los 5 a 7 días) para pacientes clínicamente estables, que tienen aislamientos sensibles al fluconazol (ej., *C. albicans*)(49). La anfotericina B liposomal, el voriconazol y posaconazol representan buenas alternativas si hay intolerancia, disponibilidad limitada o resistencia a los otros agentes antifúngicos. Sin embargo, si se prescribe voriconazol o posaconazol se recomienda la monitorización terapéutica de estas drogas principalmente en aquellos pacientes con respuesta insatisfactoria a la terapia, sospecha de toxicidad o de interacciones farmacológicas, insuficiencia hepática o renal. El uso profiláctico de fluconazol está respaldado en pacientes con cirugía abdominal reciente y perforaciones gastrointestinales recurrentes. El aislamiento de *Candida* solo de las secreciones respiratorias nunca debe incitar el tratamiento. En candidemia, se recomienda la extracción de catéteres permanentes. Si no se pueden extraer los catéteres, se debe preferir la anfotericina B lipídica o las equinocandinas a los azoles. Solo se recomienda anfotericina B desoxicolato en las candidiasis neonatal, en niños mayores y adultos esta droga produce efectos secundarios graves. Actualmente en esta región, en las instituciones participantes de este estudio, solo tenemos disponibilidad de fluconazol y anfotericina B desoxicolato, y en mucho menor medida voriconazol y formulaciones lipídicas de anfotericina B.

El diagnóstico y tratamiento de infecciones fúngicas es un desafío, particularmente en el hospedero inmunocomprometido. Los signos y síntomas son inespecíficos, la colonización es difícil de distinguir de la enfermedad invasiva, los hemocultivos pueden ser negativos y los pacientes a menudo no pueden someterse a procedimientos de diagnóstico invasivos. Por otro lado, son pocas las opciones terapéuticas disponibles para el manejo de infecciones fúngicas, principalmente en niños. Entonces es fundamental determinar la epidemiología de nuestra región, además de conocer las especies prevalentes, a fines de tomar medidas de prevención de la colonización y/o infección hospitalaria y para poder establecer una terapéutica eficaz de ser requerida. La epidemiología detallada nos permitirá comprender qué pacientes se enfermarán y por qué, permite determinar quién está en riesgo de desarrollar una enfermedad y, por lo tanto, dirigir mejor nuestros recursos y esfuerzos de diagnóstico y terapéutica, así como predecir con mayor precisión el pronóstico. La detección temprana y el tratamiento de infecciones debidas a especies del género *Candida* y otras levaduras, son la llave para disminuir el riesgo de la morbilidad y mortalidad de estos pacientes.

Justificación

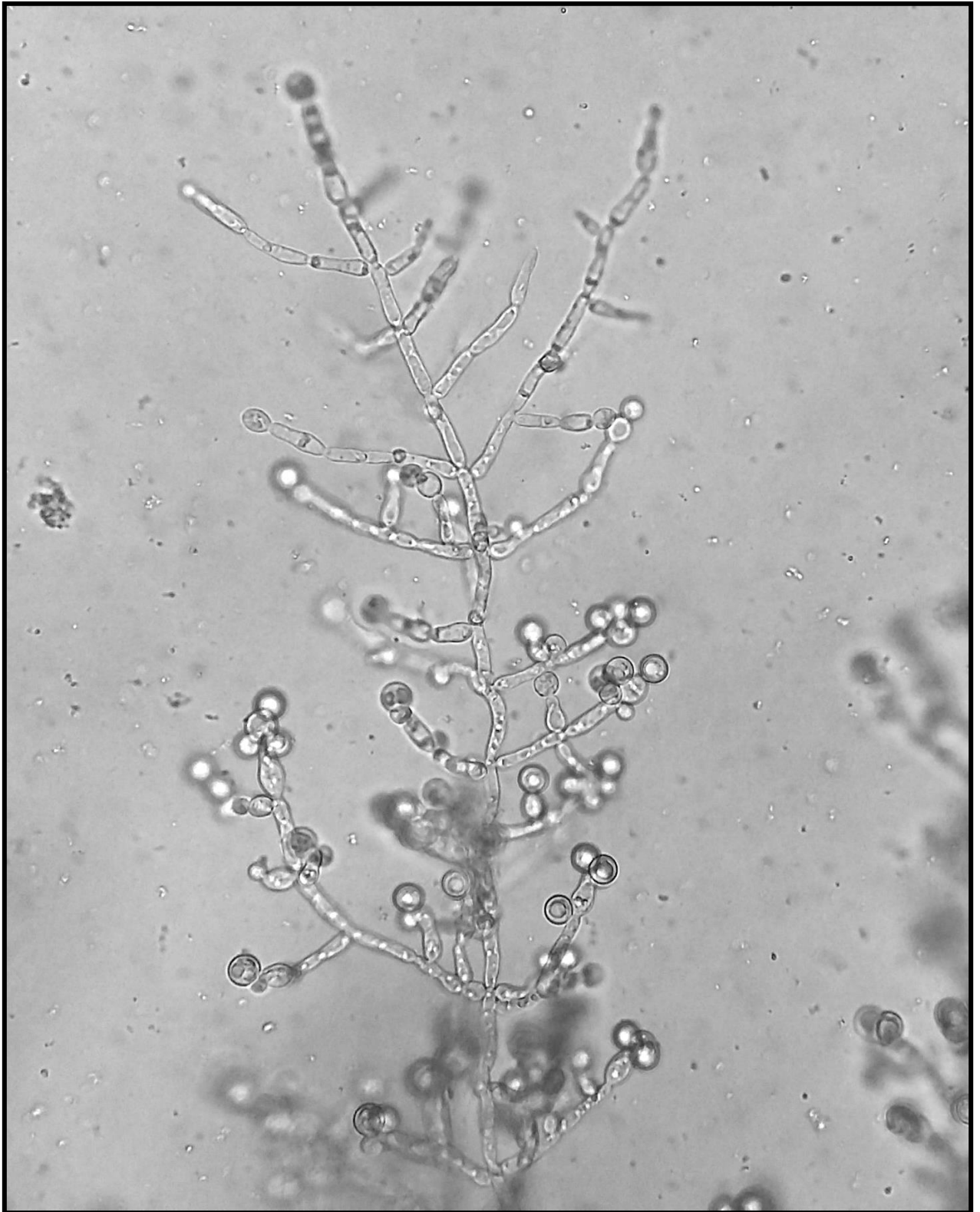
Las infecciones fúngicas invasoras han incrementado su incidencia y constituyen una importante causa de morbilidad y mortalidad entre los pacientes pediátricos internados. A pesar de que los niños y los adultos son igualmente vulnerables a estas infecciones, ambos grupos deben ser evaluados por separado. Estudios previos realizados en nuestra región, muestran una elevada proporción de aislamientos de levaduras no *C. albicans* así como de cepas resistentes a los antifúngicos utilizados en la zona, lo que obliga a continuar la vigilancia a fin de conocer la problemática actual.

El análisis de los factores de riesgo, el control regular de la colonización en la internación, la correcta identificación del agente etiológico junto con el estudio de su perfil de sensibilidad son importantes puntos que permiten prevenir la infección fúngica y establecer medidas de control y de tratamiento efectivas. Por otro lado, debe considerarse que las enfermedades fúngicas ocasionan un elevado costo al sistema sanitario, razón que enfatiza la necesidad de su valoración y aplicar medidas de prevención.

Son pocos los estudios realizados respecto a la colonización e infección fúngica invasora en los centros de internación del nordeste argentino (NEA), menos aún los relacionados a pacientes pediátricos. Los datos obtenidos de las especies involucradas y la detección de cepas con sensibilidad reducida permitirán aportar datos acerca de nuestra situación.

Hipótesis

La frecuencia de aislamiento de especies de no- *Candida albicans* en pacientes pediátricos hospitalizados se incrementó en los últimos 10 años. Se detectan aislamientos con sensibilidad reducida a los antifúngicos clínicos.



C. albicans complex. 400X Agar leche.

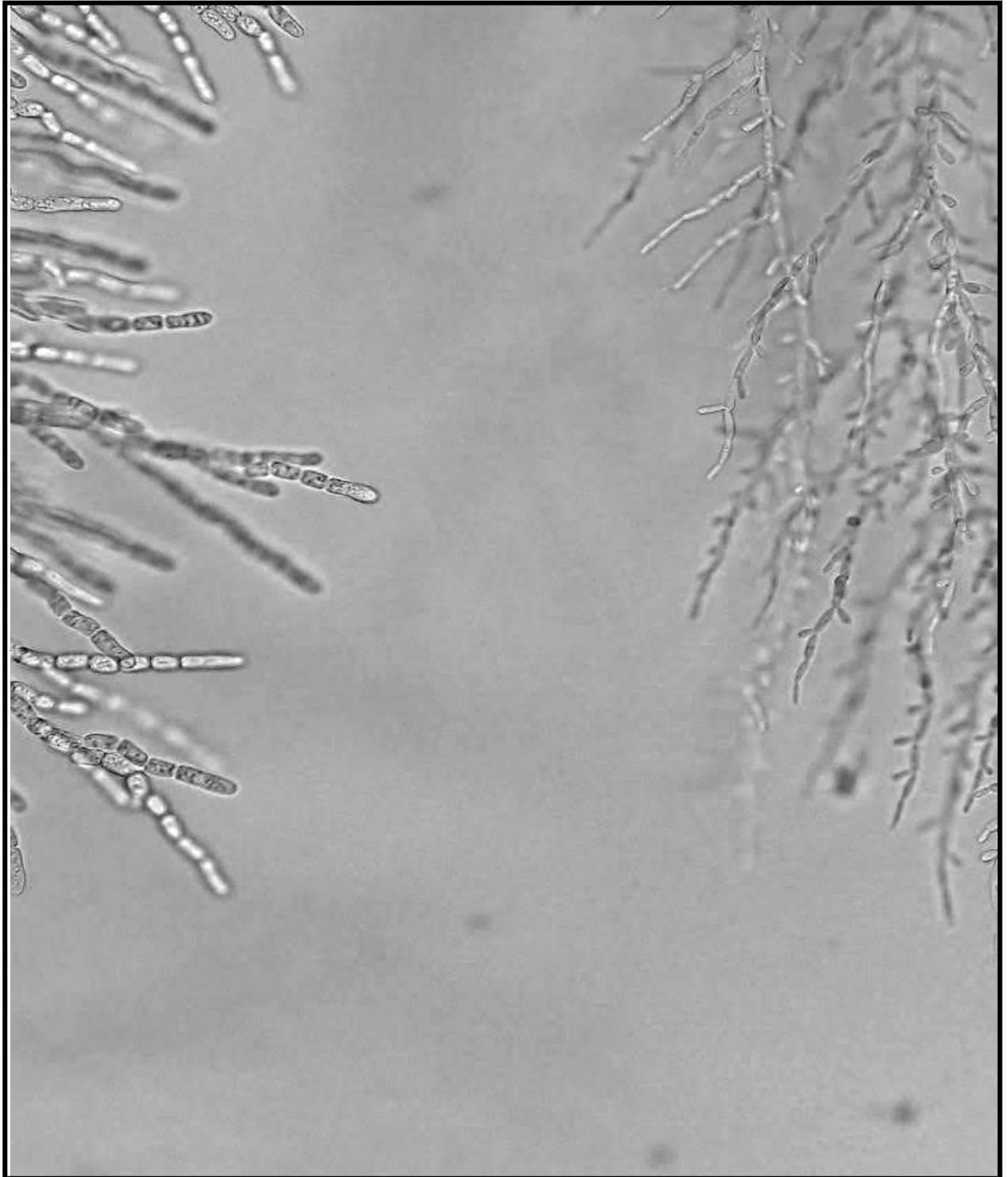
OBJETIVOS

Objetivos generales

Conocer la frecuencia y el perfil de sensibilidad antifúngica de especies de levaduras aisladas de muestras clínicas de pacientes pediátricos hospitalizados y neonatos de unidades de cuidados intensivos de nosocomios de esta región.

Objetivos específicos

- Determinar la frecuencia de especies de levaduras aisladas de muestras clínicas de pacientes neonatos internados en unidades de cuidados intensivos.
- Determinar la frecuencia de especies de levaduras aisladas de muestras clínicas de pacientes pediátricos hospitalizados.
- Determinar la concentración inhibitoria mínima de los aislamientos a partir de un método de microdilución en placa.
- Comparar las frecuencias de especies de levaduras aisladas obtenidas de pacientes pediátricos y de neonatos.
- Comparar los perfiles de sensibilidad obtenidos de las levaduras aisladas de pacientes pediátricos y de neonatos.
- Conocer la frecuencia de especies como agentes de candidemias y colonizadores de catéteres en pacientes pediátricos
- Conocer la frecuencia de especies como agentes colonizadores en neonatos en unidades de cuidados intensivos.



Tr. asahii y *C. parapsilosis* complex. 400X Agar leche

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante enero de 2005 y diciembre 2015 se estudiaron todas las levaduras aisladas de muestras clínicas de pacientes pediátricos del Hospital Pediátrico “Juan Pablo II” de la ciudad de Corrientes y de pacientes neonatos de sanatorios privados de la ciudad de Resistencia. Las mismas fueron derivadas al Departamento de Micología del Instituto de Medicina Regional - Universidad Nacional del Nordeste, para su identificación y estudio de sensibilidad antifúngica. Cada espécimen fue derivado con una ficha donde fueron consignados los datos del paciente como ser, número de identificación, edad, sexo, enfermedad de base o factor predisponente.

1. Identificación:

Para realizar la identificación de cada levadura, se realizaron pruebas en base a características morfológicas, bioquímicas y fisiológicas de cada espécimen.

- Detección de ureasa
- Examen en fresco con tinta china
- Estudio micromorfológico por crecimiento en agar leche.
- Siembra en medios cromogénicos (CHROMagar *Candida*, Medica- Tec, Argentina).
- Prueba de asimilación de trehalosa para identificación presuntiva de especies del complejo *C. glabrata*

La identificación definitiva de los aislados fue realizada empleando sistema comercial API ID 32C (*BioMérieux, Argentina*).

Producción de ureasa

El medio de urea (ver Anexo medios de cultivos) contiene rojo de fenol como indicador, que vira de amarillo a rojo poniendo de manifiesto la actividad de la enzima. Esta prueba se utilizó para la identificación presuntiva de especies de *Cryptococcus* y *Trichosporon*, que resultan positivas.

Examen en fresco con tinta china

Se utilizó para observar levaduras con cápsulas, presuntivas del género *Cryptococcus*. Se colocó una gota de una suspensión de la levadura en estudio, o de la muestra clínica, más una gota de tinta china entre porta y cubreobjeto, se observó al microscopio óptico. Se consideró positivo cuando se observaron levaduras refringentes rodeadas por una cápsula de 1-20 micrones de espesor.

Micromorfología

A fin de realizar la identificación presuntiva de ciertas especies, se utilizó Agar leche (Ver anexo), que permitió visualizar la formación de hifas y pseudomicelio, blastoconidias, clamidoconidias y/o artroconidias (59). La levadura incógnita se sembró tocando suavemente la superficie del agar con un ansa y luego se cubrió con un cubreobjetos estéril. La placa se incubó a 37°C, de 3 a 7 días.

Siembra en medios cromogénicos

Se utilizó el medio de CHROMagar *Candida*®. El mismo contiene sustratos enzimáticos unidos a compuestos cromogénicos que producen un color determinado en presencia de enzimas específicas de especie. Su utilización permitió la identificación presuntiva de *C. albicans* que desarrolla de color verde, *C. tropicalis* de color azul y *C. krusei* de color rosa y aspecto seco. Las demás especies desarrollaron colores y tonalidades inespecíficos (blanco, crema, rosa) y no pueden ser identificadas.

La levadura incógnita se sembró en placas con el medio cromogénico y se incubó a 37°C, durante 48 a 72 h, de acuerdo a indicaciones establecidas por el fabricante.

Sistemas comerciales para identificación definitiva

Se utilizó el sistema API ID 32 C (bioMérieux, Argentina) que consiste en un panel descartable de 32 pocillos, que contienen 29 sustratos deshidratados para pruebas de asimilación (carbohidratos, ácidos orgánicos y aminoácidos), una prueba de sensibilidad a cicloheximida, una prueba colorimétrica para determinar hidrólisis de la esculina y un control negativo.

La siembra se realizó siguiendo las indicaciones del fabricante. Se realizó lectura visualmente a las 48 h de incubación a 30 °C. El crecimiento (positivo) se determinó por presencia de turbidez en cada pocillo. Los resultados se convirtieron en un biocódigo numérico de 8 dígitos que permite la identificación a través de un manual (ID 32C, índice analítico de perfiles).

2. Estudio de Sensibilidad

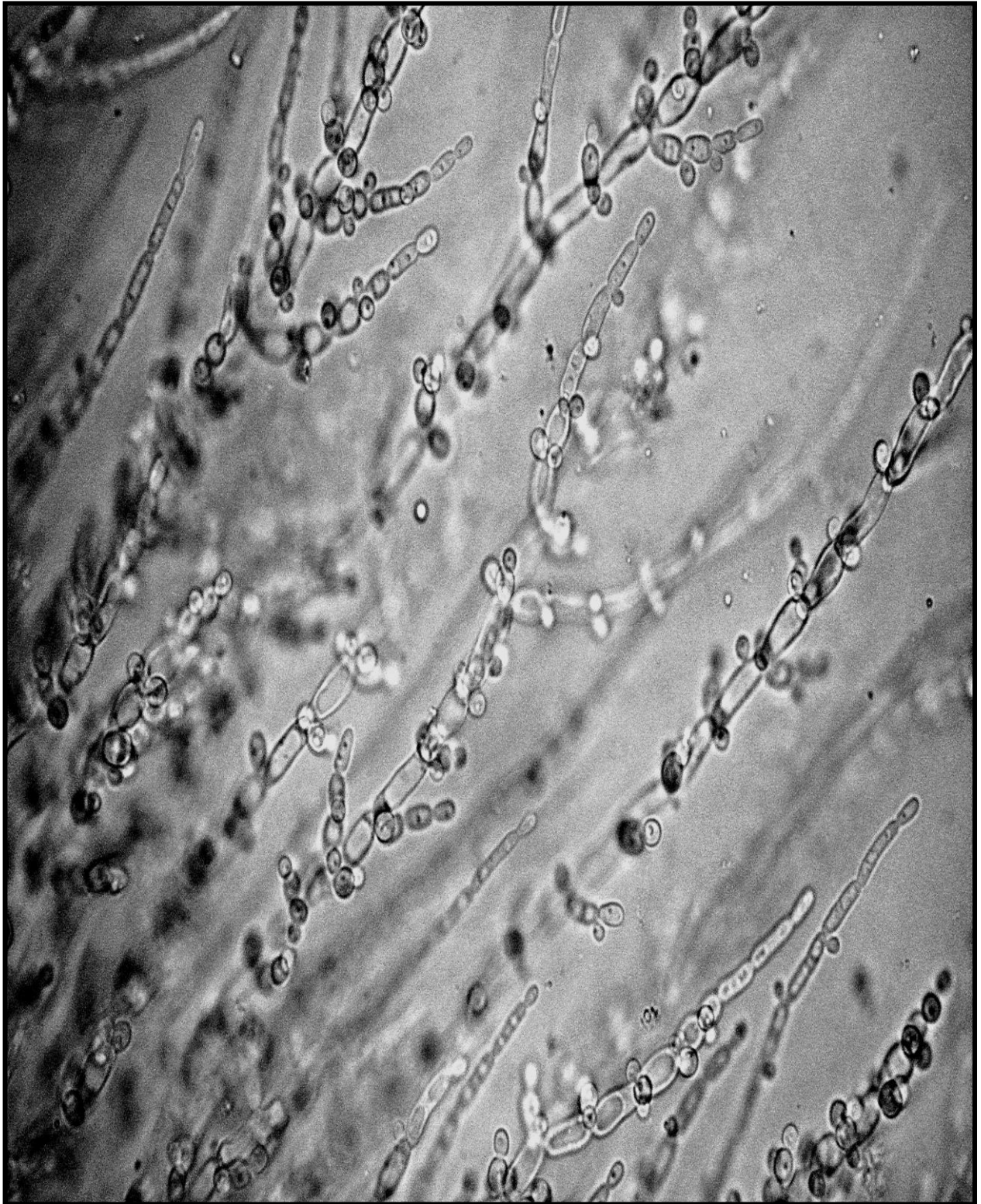
El estudio de la sensibilidad antifúngica *in vitro* de cada levadura, se realizó empleando la técnica de microdilución en caldo, según lo establece el documento de referencia M27-A3 del *Clinical Laboratory Standart Institute* (60). Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) de fluconazol (FCZ), voriconazol (VCZ), itraconazol (ITZ), ketoconazol (KTZ) y anfotericina B (AMB) para cada aislamiento. Los rangos de concentración empleados fueron de 0,125 - 64 µg/ml para el FCZ y 0,03 - 16 µg/ml para el resto de las drogas. La evaluación de equinocandinas no fue posible, debido a que no se tuvo disponible la droga pura durante el estudio.

La CIM para los azoles se consideró como la menor concentración del antifúngicos a la cual se observó una disminución prominente de la turbidez comparado con el pocillo control de crecimiento (\approx 50% de inhibición).

La CIM para la AMB fue considerada como la menor concentración del fármaco que inhibió cualquier crecimiento visible (100 % de inhibición).

Para categorizar los aislamientos se emplearon los puntos de corte establecidos en los documentos de referencia del CLSI (60,61). Para aquellas especies que no tiene establecidos puntos de corte clínico que permita su categorización, se emplearon los puntos de corte epidemiológicos establecidos en los manual M59 2ed. del CLSI que permiten la división de aislados salvajes y no salvajes (62).

Como control de procedimiento se utilizaron cepas de control *C. parapsilosis* ATCC 22019 y *C. krusei* ATCC 6258.



Candida tropicalis. 400X Agar leche.

RESULTADOS

RESULTADOS

1. Identificación de especies

Se procesaron un total de 416 levaduras obtenidas a partir de 268 pacientes. Del total de pacientes, 196 fueron pediátricos (entre 2 meses a 16 años) y 72 neonatos internados en unidades de cuidados intensivos (UCIN) (0 hasta 3 meses de edad).

Se identificaron un total de 14 especies diferentes. La **tabla 1** muestra las especies aisladas de acuerdo con la población de pacientes. La diversidad de especies fue mayor entre pacientes pediátricos (12/14) que en neonatos (10/14).

Tabla 1. Frecuencia de especies aisladas en pacientes pediátricos y neonatos.

| | Neonatos | % neonatos | Pediátricos | % pediátricos | Total |
|--------------------------------|----------|------------|-------------|---------------|-------|
| <i>C. parapsilosis</i> complex | 55 | 36,9 | 88 | 32,9 | 143 |
| <i>C. albicans</i> complex | 53 | 35,6 | 83 | 31,1 | 136 |
| <i>C. tropicalis</i> | 21 | 14,1 | 67 | 25,1 | 88 |
| <i>C. glabrata</i> complex | 10 | 6,71 | 7 | 2,63 | 17 |
| <i>C. guilliermondii</i> | 4 | 2,68 | | | 4 |
| <i>C. lusitaniae</i> | 1 | 0,67 | 3 | 1,12 | 4 |
| <i>C. krusei</i> | 2 | 1,34 | 4 | 1,51 | 6 |
| <i>C. kefyr</i> | | | 1 | 0,38 | 1 |
| <i>C. famata</i> complex | 1 | 0,67 | | | 1 |
| <i>C. rugosa</i> complex | 1 | 0,67 | | | 1 |
| <i>T. asahii</i> | 1 | 0,67 | 7 | 2,63 | 8 |
| <i>T. mucoides</i> | | | 3 | 1,12 | 3 |
| <i>Rhodotorula</i> sp. | | | 2 | 0,75 | 2 |
| <i>Cr. neoformans</i> | | | 1 | 0,38 | 1 |
| <i>Cr. gatti</i> | | | 1 | 0,38 | 1 |
| Total | 149 | 100 | 267 | 100 | 416 |

C: *Candida*, T: *Trichosporon*; Cr: *Cryptococcus*

Del total de aislamientos, las especies del complejo *C. parapsilosis* fueron aisladas con mayor frecuencia (34,7 %), seguida por *C. albicans* complex (32,7%), *C. tropicalis* (21,1 %), *C. glabrata* complex (4,08 %) y *Trichosporon* spp. (2,64%). Este orden de frecuencias se mantuvo en ambas poblaciones por separado, con la diferencia de que en el caso de los pediátricos *C. glabrata* ocupó el 4º lugar junto con *Tr. asahii*.

El **grafico 1** muestra la distribución de la especie *C. albicans* en relación a las levaduras no *C. albicans* en cada año de estudio, en el cual se observan diferencias significativas entre ambas poblaciones, excepto en los años 2008, 2009 y 2011, donde la frecuencia de aislamientos *C. albicans* y levaduras no- *C. albicans* fue similar. La **Tabla 2** muestra el número de pacientes de cada población en estudio y las especies aisladas cada año evaluado. La **tabla 3** muestra las especies obtenidas de acuerdo a la muestra clínica, para cada población en estudio.

Grafico 1. Representación gráfica de las frecuencias de aislamientos de *C. albicans* y levaduras no - *C. albicans* durante el período de 10 años.

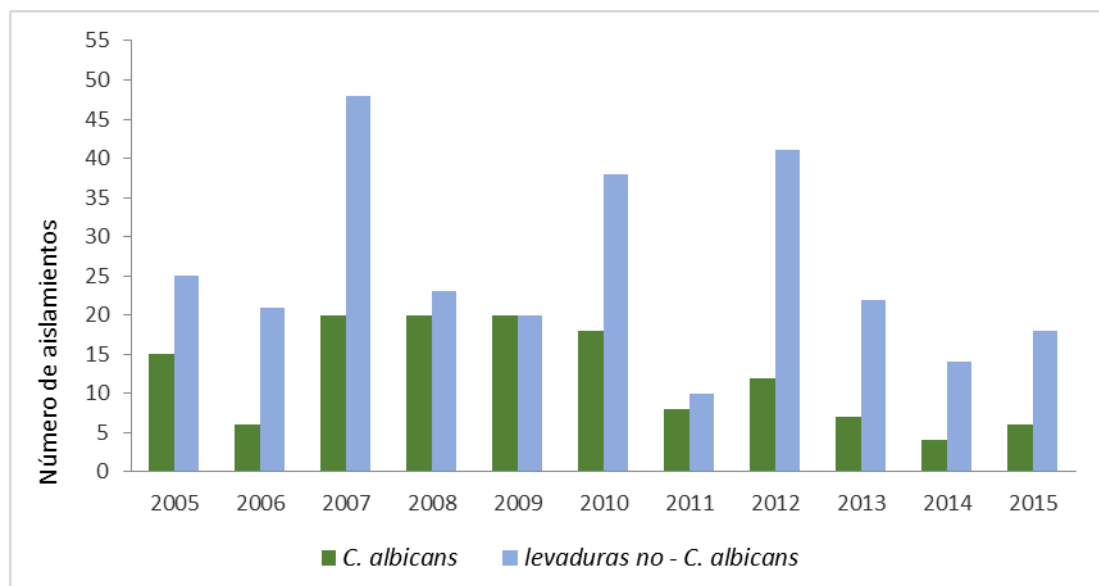


Tabla 2. Número de aislamientos y frecuencias de especies aisladas durante cada año de estudio.

| | 2005 | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | Totales |
|--------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| Pacientes | 29 | 22 | 50 | 23 | 30 | 32 | 14 | 27 | 18 | 11 | 13 | 267 |
| Neonatos | 5 | 9 | 12 | 8 | 11 | 10 | 2 | 8 | 2 | 2 | 3 | 72 |
| Pediátricos | 24 | 13 | 38 | 14 | 19 | 22 | 11 | 19 | 16 | 9 | 10 | 195 |
| ESPECIES | | | | | | | | | | | | |
| <i>C. albicans</i> | 15 | 6 | 20 | 20 | 20 | 18 | 8 | 12 | 7 | 4 | 6 | 136 |
| <i>C. parapsilosis</i> | 6 | 12 | 25 | 8 | 8 | 23 | 9 | 28 | 10 | 6 | 8 | 143 |
| <i>C. tropicalis</i> | 10 | 6 | 17 | 13 | 5 | 10 | 1 | 8 | 6 | 5 | 7 | 88 |
| <i>C. glabrata</i> | 5 | 2 | | | 2 | 5 | | 3 | | | | 17 |
| <i>C. krusei</i> | 3 | | | | | | | 1 | 2 | | | 6 |
| <i>C. guilliermondii</i> | | | | | 2 | | | | 2 | | | 4 |
| <i>C. lusitaniae</i> | | | 2 | 1 | | | | | 1 | | | 4 |
| <i>C. kefyr</i> | | | | | 1 | | | | | | | 1 |
| <i>C. famata</i> | | 1 | | | | | | | | | | 1 |
| <i>C. rugosa complex</i> | | | | | 1 | | | | | | | 1 |
| <i>Tr. asahii</i> | | | 4 | | 1 | | | 1 | 1 | 1 | | 8 |
| <i>Tr. mucoides</i> | | | | | | | | | | 2 | 1 | 3 |
| <i>Rhodotorula sp.</i> | | | | | | | | | | | 2 | 2 |
| <i>Cr. neoformans</i> | 1 | | | | | | | | | | | 1 |
| <i>Cr. gatti</i> | | | | 1 | | | | | | | | 1 |
| Total | 40 | 27 | 68 | 43 | 40 | 56 | 18 | 58 | 29 | 18 | 19 | 416 |

C: *Candida*, Tr: *Trichosporon*; Cr: *Cryptococcus*

Tabla 3. Origen de los aislamientos de acuerdo a las especies obtenidas.

| | | Sangre | Catéter | Sangre obtenida catéter | Orina | Materia fecal | LCR | BAL | Líqu. ascítico | Líqu. peritoneal | Líqu. biliar | Líqu. pleural | Biopsia de tejido de quemado | Total |
|--------------------------------|-------------------|--------|---------|-------------------------|-------|---------------|-----|-----|----------------|------------------|--------------|---------------|------------------------------|------------|
| <i>Candida albicans</i> | PEDIÁTRICO | 24 | 19 | 3 | 33 | | 2 | | | 3 | 1 | | | 136 |
| | NEONATO | 3 | 1 | | 29 | 16 | | | | | | | | |
| <i>C. parapsilosis</i> complex | PED. | 38 | 30 | 4 | 9 | | 2 | | 1 | 1 | | | | 143 |
| | NEO. | 13 | | | 24 | 21 | | | | | | | | |
| <i>C. tropicalis</i> | PED. | 25 | 19 | 3 | 17 | | | | | 4 | | | | 88 |
| | NEO. | 2 | 1 | 1 | 11 | 5 | | | | | | | | |
| <i>C. glabrata</i> complex | PED. | 2 | 1 | | 4 | | | | | | | | | 17 |
| | NEO. | 1 | | | 6 | 3 | | | | | | | | |
| <i>C. krusei</i> | PED. | | 1 | | 2 | | | 1 | | 1 | | | | 6 |
| | NEO. | | | | 1 | | | | | | | | | |
| <i>C. guilliermondii</i> | NEO. | | | | 2 | 2 | | | | | | | | 4 |
| <i>C. lusitaniae</i> | PED. | 2 | | | | | | | | | | 1 | | 4 |
| | NEO. | | | | 1 | | | | | | | | | |
| <i>C. kefyr</i> | PED. | | | | 1 | | | | | | | | | 1 |
| <i>C. famata</i> complex | NEO. | 1 | | | | | | | | | | | | 1 |
| <i>C. rugosa</i> complex | NEO. | 1 | | | | | | | | | | | | 1 |
| <i>Tr. asahii</i> | PED. | 1 | 1 | | 4 | | | | | | | | 1 | 8 |
| | NEO. | 1 | | | | | | | | | | | | |
| <i>Tr. mucoides</i> | PED. | 3 | | | | | | | | | | | | 3 |
| <i>Rhodotorula sp.</i> | PED. | 2 | | | | | | | | | | | | 2 |
| <i>Cr. Neoformans</i> | PED. | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | 1 | | | | | | | | | | | | |
| <i>Cr. gatti.</i> | PED. | 1 | | | | | | | | | | | | 1 |
| TOTAL | | 121 | 73 | 11 | 144 | 49 | 4 | 1 | 1 | 9 | 1 | 1 | 1 | 416 |

C: *Candida*, T: *Trichosporon*; Cr: *Cryptococcus*; Liq: líquido; LCR: líquido cefalorraquídeo; BAL: lavado bronquioalveolar.

Los aislamientos de *Rhodotorula* fueron obtenidas de hemocultivos del mismo paciente en distintos episodios.

Las levaduras del complejo *C. parapsilosis* fueron aisladas con mayor frecuencia en muestras de sangre en ambas poblaciones, pero en un porcentaje significativamente mayor entre pacientes neonatos (pediátricos: 37,4 % vs neonatos: 63,3 %). En pacientes pediátricos, la segunda especie fue *C. tropicalis* (25,2 %), seguida por *C. albicans* (24,2 %), mientras que en pacientes neonatos, el complejo *C. albicans* se aisló en segundo lugar (13,6 %), seguida por *C. tropicalis* (9,1%).

De los 71 aislamientos de catéteres en pacientes pediátricos, 20 fueron acompañadas por levaduras aisladas también en los hemocultivos. En el resto (71,8%), el cultivo de la muestra de sangre obtenido por punción venosa resultó negativo. Las especies aisladas de muestras paralelas sangre/catéter fueron: 8 *C. parapsilosis*, 6 *C. tropicalis*, 2 *C. albicans*, 1 donde *C. parapsilosis* se aisló de sangre y *C. albicans* de catéter y 3 donde se aisló *C. albicans* del hemocultivo y *C. parapsilosis* en el catéter.

Solo en una ocasión se recibieron levaduras aisladas de catéter de un paciente neonato, en el cual se encontró asociación *C. albicans* – *C. tropicalis* del catéter y *C. tropicalis* del hemocultivo.

Entre las muestras de orina, *C. albicans* fue la especie predominante en ambas poblaciones (50,8% entre pacientes pediátricos y 36,7% en pacientes neonatos), y a pesar que en segundo lugar en ambos casos la especie de mayor frecuencia fue *C. parapsilosis*, el porcentaje fue significativamente superior entre pacientes neonatos (30,4% neonatos; 13,8% pediátricos).

Entre pediátricos, hubo pacientes con aislamientos de diferentes muestras, donde se obtuvieron las siguientes levaduras: 1 de orina y líquido peritoneal (*C. tropicalis*), 1 de líquido de drenaje biliar y hemocultivo (*C. albicans*), 1 de hemocultivo (*C. albicans*) y líquido peritoneal (*C. glabrata*), 1 de líquido peritoneal, catéter y orina (*C. tropicalis*) y 1 de líquido de derivación ventrículo atrial, LCR (*C. albicans*) y un hemocultivo (*C. tropicalis*).

En ciertos casos, entre los pacientes neonatos se estudiaron cultivos simultáneos de sangre y/o orina y/o materia fecal. La **tabla 4** muestra el número de pacientes neonatos y las especies aisladas en cada caso.

Tabla 4. Número de pacientes neonatos con desarrollo de levaduras en muestras tomadas en simultaneo.

| Neonatos | <i>C. parapsilosis</i> | <i>C. tropicalis</i> | <i>C. albicans</i> | <i>C. guilliermondii</i> | <i>C. glabrata</i> |
|---|------------------------|----------------------|--------------------|--------------------------|--------------------|
| Sangre/Orina/Mat. fecal | 2 | | 1 | | 1 |
| Sangre/Sangre obtenida de catéter/ Orina / Mat. fecal | | 1 | | | |
| Sangre / Catéter | 1 | | | | |
| Sangre / Orina | 2 | | | | |
| Orina / Mat. fecal | 19 | 3 | 15 | 2 | 2 |

En un paciente se aisló *C. tropicalis* en la muestra de sangre y asociación *C. tropicalis* – *C. albicans* en el catéter. En otro paciente se aisló *C. tropicalis* en materia fecal y *C. albicans* en orina.

En algunos pacientes se aislaron levaduras de muestras procesadas en distintas ocasiones. La **tabla 5** muestra las especímenes procesados y los aislamientos en cada caso, mencionando el factor predisponente de contarse con el antecedente.

Tabla 5 . Pacientes que presentaron mas de un aislamiento de levaduras en diferentes momentos. Especies aisladas y factor predisponente

| Paciente número | Muestra (número de episodios) | Especie (s) aislada en cada episodio | Factor predisponente(s) |
|--------------------------|-------------------------------|--|--|
| 1 (pediátrico) | sangre (3) | <i>C. tropicalis</i> | enterocolitis necrotizante |
| | sangre /cateter (2) | <i>C. tropicalis /C. tropicalis</i> | |
| 2 (pediatrico) | sangre (2) | <i>C. albicans</i> | Leucemia linfoblástica aguda |
| 3(pediátrico) | sangre (2) | <i>C. parapsilosis</i> | |
| 4 (neonato) | sangre (2) | <i>C. parapsilosis</i> | |
| 5 (neonato) | orina/materia fecal (2) | <i>C. albicans/C.albicans</i> <i>C. albicans/C.tropicalis</i> | prematureo/alimentación lipídica parenteral |
| 6,7 (neonato) | orina (2) | <i>C. albicans</i> | |
| 8 (pediatrico) | sangre (2) | 1° episodio asoc. <i>C. albicans</i> - <i>C. lusitaniae</i> 2° episodio <i>C.tropicalis</i> | neuroblastoma, leucemia mieloide aguda |
| 9 (pediátrico) | sangre (2) | <i>C. tropicalis</i> | paciente oncológico |
| 10 (pediatrico) | cateter (2) | <i>C. parapsilosis</i> | paciente oncológico |
| 11 (pediátrico) | sangre (2) | 1° Asoc. <i>C. tropicalis</i> - <i>C. lusitaniae</i> 2° <i>C. tropicalis</i> | paciente oncológico |
| 12 (neonato) | orina/materia fecal (3) | <i>C. parapsilosis</i> | prematureo /alimentación lipídica parenteral |
| 13 (neonato) | orina (3) | <i>C. parapsilosis</i> | prematureo /alimentación lipídica parenteral |
| 14 (pediátrico) | sangre(1) | <i>C. albicans</i> | |
| | sangre/cateter (2) | 1° <i>C. albicans/C. parapsilosis</i> 2 ° <i>C. albicans/C. albicans</i> | |
| 15 (pediátrico) | sangre (3) | <i>C. parapsilosis</i> | |
| 16 (pediátrico) | sangre/cateter (1) | <i>C. parapsilosis/C. parapsilosis</i> | |
| | sangre (4) | <i>C. parapsilosis</i> | |
| 17 (neonato) | sangre/cateter (1) | <i>C. parapsilosis/C. parapsilosis</i> | |
| | sangre (1) | <i>C. parapsilosis</i> | |
| 18 (neonato) | orina (2) | <i>C. tropicalis</i> | |
| 19 (pediatrico) | sangre (2) | <i>Rhodotorula spp.</i> | paciente oncológico, CVC |
| 20 (neonato) | orina (1) | <i>C. tropicalis</i> | |
| | orina/líquido peritoneal (2) | <i>C. tropicalis/C. tropicalis</i> | |
| 21 (pediátrico) | sangre (2) | <i>T. mucoides</i> | paciente oncológico |

Se obtuvieron un total de 22 asociaciones. La **tabla 6** muestra las especies asociadas de acuerdo al material clínico y el tipo de paciente.

Tabla 6. Asociaciones encontradas según la muestra clínica y la población en estudio.

| Especies | Muestra clínica | Población | Cantidad |
|---|----------------------------|--------------|-----------|
| <i>C. parapsilosis</i> - <i>C. albicans</i> | catéter | pediátrico | 2 |
| | sangre | pediátrico | 1 |
| <i>C. parapsilosis</i> - <i>C. famata</i> | sangre | neonato | 1 |
| <i>C. albicans</i> - <i>C. tropicalis</i> | catéter | neonato | 1 |
| <i>C. parapsilosis</i> - <i>C. krusei</i> | orina | pediátrico | 1 |
| | orina | neonato | 1 |
| <i>C. parapsilosis</i> - <i>C. tropicalis</i> | Sangre obtenida de catéter | pediátrico | 1 |
| | orina | pediátrico | 1 |
| | orina | neonato | 1 |
| <i>C. parapsilosis</i> – <i>T. mucoides</i> | sangre | pediátrico | 1 |
| <i>C. parapsilosis</i> – <i>T. asahii</i> | sangre | pediátrico | 1 |
| | orina | pediátrico | 2 |
| <i>C. tropicalis</i> - <i>C. lusitaniae</i> | sangre | pediátrico | 1 |
| <i>C. albicans</i> - <i>C. lusitaniae</i> | sangre | pediátrico | 1 |
| <i>C. tropicalis</i> – <i>T. asahii</i> | catéter | pediátrico | 1 |
| <i>C. albicans</i> - <i>C. guilliermondii</i> | materia fecal | neonato | 1 |
| <i>C. albicans</i> - <i>C. glabrata</i> | orina | neonato | 2 |
| | materia fecal | neonato | 1 |
| | orina | pediátrico | 1 |
| <i>C. albicans</i> - <i>C. krusei</i> | catéter | pediátrico | 1 |
| | | Total | 22 |

C: *Candida*; T: *Trichosporon*

La **tabla 7** muestra algunos de los factores de riesgo documentados de los pacientes estudiados. En la mayoría de los casos, salvo los datos mínimos para identificar el origen de los aislamientos, no se consiguieron los datos referidos a la enfermedad de base y/o los factores de riesgo de los pacientes.

Tabla 7. Factores de riesgo de algunos de los pacientes, especificando las especies aislada en cada caso

| Factor de riesgo | Número de pacientes | Especies aisladas |
|---|---------------------|---|
| Enterecolitis necrotizante | 1 | <i>C. tropicalis</i> (5) |
| Obstrucción intestinal peritonitis | 1 | <i>C. parapsilosis</i> (1) |
| Paciente oncológico (sin especificar tipo) | 22 | <i>C. tropicalis</i> (9), <i>C. parapsilosis</i> (8), <i>C. albicans</i> (7), <i>C. glabrata</i> (1), <i>C. lusitaniae</i> (2) |
| Leucemia linfoblástica aguda | 1 | <i>C. albicans</i> (2), <i>C. parapsilosis</i> (1) |
| Leucemia Mieloide Aguda | 3 | <i>C. tropicalis</i> (3), <i>C. albicans</i> (1), <i>C. lusitaniae</i> (1) |
| Alimentación lipídica parenteral | 6 | <i>C. parapsilosis</i> (8) |
| Desnutrición | 1 | <i>C. parapsilosis</i> (1) |
| Prematurez | 12 | <i>C. parapsilosis</i> (12), <i>C. guilliermondii</i> (2), <i>C. tropicalis</i> (2), <i>C. albicans</i> (1) |
| Síndrome urémico hemolítico | 1 | Asoc. <i>C. parapsilosis</i> - <i>T. mucoides</i> |
| Dialisis peritoneal paciente nefrectomizado | 1 | <i>C. lusitaniae</i> |
| Dialisis | 1 | <i>C. parapsilosis</i> |
| Quemado | 5 | <i>C. parapsilosis</i> (2), <i>C. albicans</i> (2), <i>C. tropicalis</i> (1) |
| Cirugía Cardiovascular | 1 | <i>C. parapsilosis</i> (1) |
| Cardiopatía congénita | 1 | <i>C. parapsilosis</i> (1) |
| Neumonía | 1 | <i>C. albicans</i> (1) |
| Hidrocefalia | 1 | <i>C. tropicalis</i> (2) |
| Abceso cerebeloso | 1 | <i>C. albicans</i> (2) |
| Malformación congénita renal | 1 | Asoc. <i>C. parapsilosis</i> - <i>C. kusei</i> |
| Unidad de terapia intensiva | 101 | <i>C. parapsilosis</i> (42), <i>C. tropicalis</i> (31), <i>C. albicans</i> (31), <i>C. krusei</i> (3), <i>T. asahii</i> (4), <i>C. lusitaniae</i> (2), <i>C. glabrata</i> (1), <i>Cryptococcus neoformans VNI</i> (1) |
| VIH | 1 | <i>C. krusei</i> (1) |

2. Sensibilidad antifúngica

La **tabla 8** muestra en porcentajes, los aislamientos categorizados en sensible (S), sensibles dependiente de dosis (SDD) y resistentes (R), según el documento de referencia (63), para los complejos de especies *C. parapsilosis*, *C. albicans*, *C. glabrata*, y para *C. tropicalis* y *C. krusei* obtenidas en este estudio.

Tabla 8. Porcentajes de levaduras sensibles, sensibles dependiente de dosis y resistentes al fluconazol

| Especies | Categorización clínica frente al fluconazol % (n) | | |
|------------------------|---|----------|----------|
| | S | SDD | R |
| Pediátricos | | | |
| <i>C. albicans</i> | 100 (83) | | |
| <i>C. parapsilosis</i> | 93,1 (82) | 6,9 (6) | |
| <i>C. tropicalis</i> | 100 (68) | | |
| <i>C. glabrata</i> | | 100 (7) | |
| Neonatos | | | |
| <i>C. albicans</i> | 96,6 (51) | 1,7 (1) | 1,7 (1) |
| <i>C. parapsilosis</i> | 92,7 (51) | 1,85(1) | 5,45 (3) |
| <i>C. tropicalis</i> | 100 (20) | | |
| <i>C. glabrata</i> | | 100 (10) | |

C: *Candida*, S: sensible, SDD: sensible dependiente de dosis, R: resistente

Candida krusei no fue evaluada frente al FCZ porque esta especie tiene resistencia intrínseca a esta droga.

Las levaduras de *C. parapsilosis* con sensibilidad disminuida frente al FCZ se aislaron de: 2 de cateteres (2 SDD), 4 de sangre (4 SDD) y 4 de orinas (1 SDD y 3 R). Uno de los pacientes pediátricos presentó en sangre y cateter, aislamientos de *C. parapsilosis* SDD frente al FCZ. Otro de los pacientes presentó una cepa de *C. parapsilosis* SDD al FCZ, luego de tres hemocultivos previos positivos con cepas sensibles y durante el tratamiento con FCZ.

Las cepas de *C. albicans* R y SDD fueron aisladas de orinas de 2 pacientes neonatos. Todas las levaduras de *C. tropicalis*, *C. krusei* y los complejos *C. parapsilosis* y *C. albicans*, fueron sensibles al VCZ, según puntos de cortes establecidos en el manual del CLSI (63).

Algunas especies no pudieron ser categorizadas en sensibles o resistentes debido a que no existen puntos de cortes clínicos establecidos para las mismas. En algunos de estos casos se emplearon los puntos de cortes epidemiológicos propuestos por el documento M59 del CLSI (62), que permiten separar cepas *salvajes* (o “*wild type*”), es decir aquellas que no manifiestan mecanismo de resistencia fenotípico, de las cepas *no salvajes* (*no wild type*) que son aquellas que si manifiestan algún tipo de resistencia *in vitro*. En ausencia de puntos de corte clínicos, los puntos de cortes epidemiológicos permiten monitorear la emergencia de cepas con alguna resistencia *in vitro*, que pueda conducir a una cepa menos sensible o con resistencia a la droga en estudio (64).

Todos los aislamientos de *C. tropicalis* y *C. krusei*, y de los complejos *C. parapsilosis*, *C. albicans*, *C. glabrata* mostraron valores de CIM de AMB por debajo del VCE fijado por el documento del CLSI (2 ug/ml), por lo tanto fueron consideradas cepas *salvajes*.

Las levaduras de *C. guilliermondii* y 2 de las 4 de *C. lusitaniae* mostraron CIM de FCZ menor a los VCE establecidos para estas especies (8 ug/ml y 1 ug/ml respectivamente). Sin embargo las otras 2 cepas de *C. lusitaniae* tuvieron valores de CIM mayores a 2 ug/ml para esta droga, resultando ser cepas *no salvajes*, es decir resistentes *in vitro* al FCZ.

Las levaduras del complejo *C. glabrata* mostraron valores de CIM de VCZ menores al punto VCE, resultando ser todos estos aislamientos cepas *salvajes*. Las levaduras de *C. tropicalis*, *C. glabrata* complex, *C. krusei* y *C. lusitaniae* mostraron CIM del ITZ menores a los VCE establecidos.

Para el caso de todas aquellas especies y géneros para los cuales no existen puntos de cortes clínicos ni epidemiológicos, se determinó la CIM empleando el método de

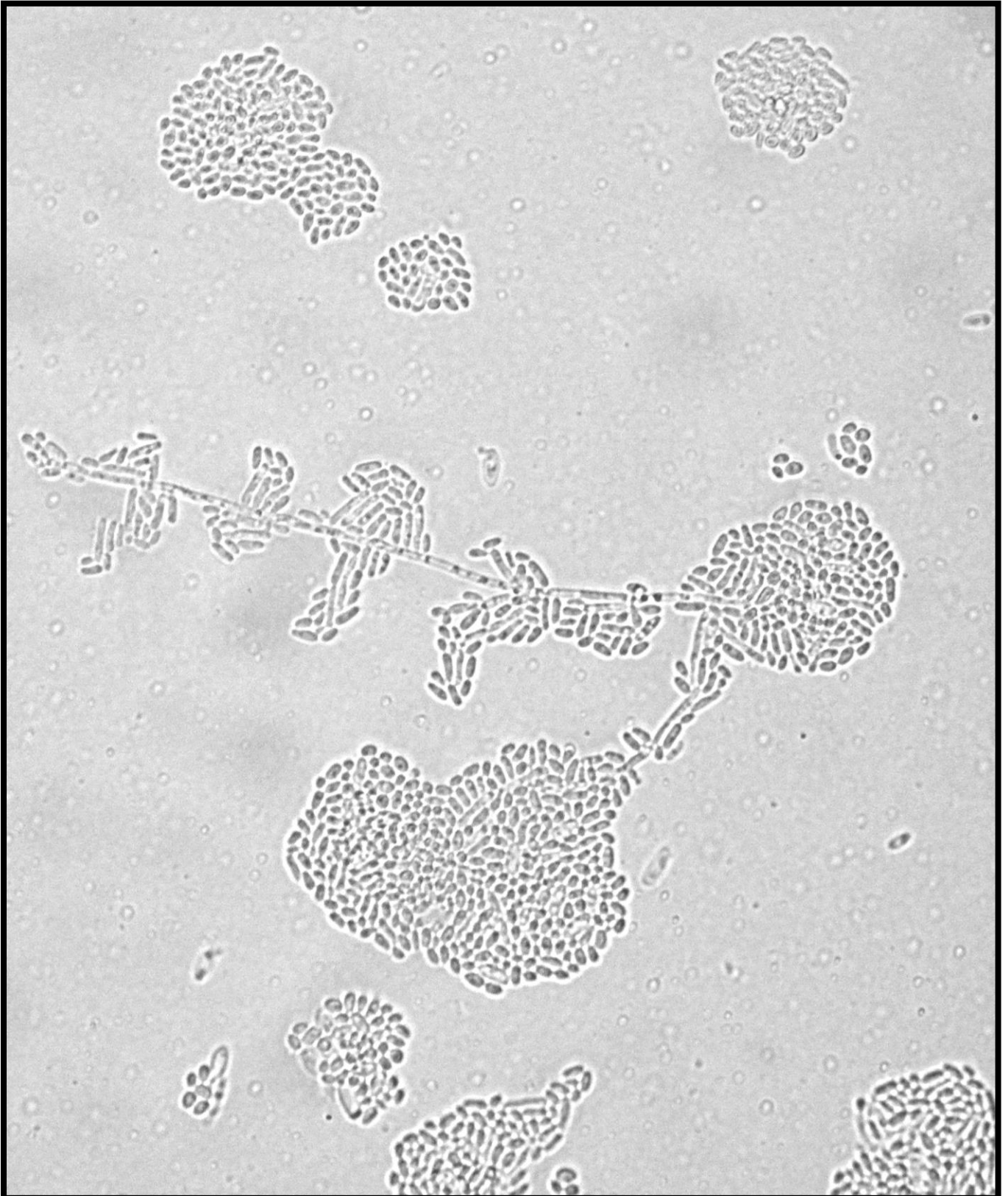
microdilución en caldo, siguiendo la metodología propuesta por el documento del CLSI (61). La **tabla 9** muestra los valores de CIM obtenidas en para cada una de estas levaduras.

Tabla 8: Valores de CIM de especies y géneros para los cuales no están establecidos puntos de cortes clínicos ni epidemiológicos.

| Especie | CIM µg/ml (número de aislamientos) | | | | |
|---|------------------------------------|---|--|-----------------------------------|--|
| | Fluconazol | Voriconazol | Itraconazol | Ketoconazol | Anfotericina |
| <i>C. kefyr</i> | 1 | 0,125 | 0,125 | 0,26 | 2 |
| <i>C. famata</i> complex | 32 | 0,25 | 0,25 | 0,25 | 0,125 |
| <i>C. rugosa</i> complex | 8 | 0,06 | 0,06 | 0,06 | 0,5 |
| <i>C. lusitaniae</i> * ¹ | 1(1); 0,5(1); 2(2); | 0,03 (3); 0,125 (1) | 0,03 (3); 0,06 (1) | 0,25 (1); 0,5 (2); 1 (1) | 1 (1); 2 (3) |
| <i>C. guilliermondii</i> * ² | 2(2); 8(2) | 0,06 (2); 0,125 (2) | 0,06 (2); 0,125 (2) | 0,125 (2); 0,5 (2) | 0,5(2); 1(2) |
| <i>Tr. asahii</i> | 0,5 (1); 1(1); 2(3); 4(3) | 0,03 (3); 0,06 (3); 0,125 (1); 0,25 (1) | 0,03 (1); 0,06 (2); 0,125 (2); 0,25 (1); 0,5 (2) | 0,03 (2); 0,25 (3); 0,5(2); 2 (1) | 0,5 (1); 2 (3); 4 (1); 16 (1); >16 (2) |
| <i>Tr. mucoides</i> | 2 (1); 4(2) | 0,03 (1); 0,06 (1); 0,125 (1) | 0,03 (1); 0,06 (1); 0,125 (1) | 0,03 (2); 0,06 (1); 1(1) | 2 (2); 4(1) |
| <i>Rhodotorula sp.</i> | >128 (2) | 16 (2) | 16 (2) | 16 (2) | 2 (2) |
| <i>Cr. neoformans</i> | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,06 | 0,5 |
| <i>Cr. gatti</i> | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,5 |

*¹*C. lusitaniae* presenta puntos de corte epidemiológicos solo para FCZ e ITZ

*²*C. guilliermondii* presenta puntos de corte epidemiológicos solo para FCZ



Candida krusei. 400X Agar leche.

DISCUSION

DISCUSIÓN

A medida que la medicina contemporánea avanza en el tratamiento de afecciones de elevada mortalidad como trastornos autoinmunes, tumores malignos y trasplantes de órganos, las infecciones fúngicas invasoras constituyen una complicación cada vez más importante. Diferentes estudios han demostrado que *Candida* sp. sigue siendo la causa principal de enfermedad fúngica invasora y ocupan el cuarto lugar en infecciones del torrente sanguíneo adquiridas en hospitales en pacientes pediátricos en los Estados Unidos y Europa (65–67). A pesar de los progresos realizados en los cuidados de los pacientes de alto riesgo, las infecciones fúngicas invasoras están asociadas a una tasa de mortalidad significativamente alta. Los estudios publicados en los últimos década muestran un mortalidad en niños con candidemia de entre el 19% y 31% (57,68,69), y estos valores aumentan en aquellos pacientes con mayor grado de inmunosupresión, particularmente en trasplantados de células madre hematopoyéticas.

Este estudio pretende profundizar en algunos de los aspectos epidemiológicos de las infecciones producidas por levaduras en pacientes pediátricos internados en instituciones de nuestra región, con el fin de aprovechar la información obtenida como pauta para orientar el diagnóstico clínico y establecer tratamientos empíricos más adecuados de acuerdo con la prevalencia de las especies aisladas. Aunque muchos aspectos de los factores de riesgo y los algoritmos de tratamiento aprendidos en las últimas décadas usadas en pacientes adultos pueden emplearse en pacientes pediátricos, existen parámetros propios en pediatría que deben ser establecidos en cada región para ser utilizados en el ejercicio clínico.

Diferentes estudios de vigilancia epidemiológica realizados en distintos organismos de salud, públicos y privados, de diversas regiones geográficas han demostrado como factor común, la emergencia de especies no *C. albicans*, involucradas en un espectro similar de infecciones, pero que tienen mayor potencial para desarrollar resistencia a los

antifúngicos habituales. Desde los años 90 hasta la actualidad, se ha producido un cambio gradual en la frecuencia de especies de *Candida* aisladas en muestras clínicas. *C. albicans* era considerada como la especie responsable en alrededor del 80 % de los casos de infecciones por levaduras, pero actualmente en numerosas publicaciones, se notifica en menos del 50 %, observándose un aumento en la frecuencia de especies como *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* entre otras (11, 24, 26,27, 32, 40, 52,75,76). Uno de los estudios de colaboración más grandes que han evaluado la incidencia de las infecciones por *Candida* fueron realizados por el International Pediatric Fungal Network (IPFN)(72), donde revelan un predominio de especies no - *albicans* en pacientes pediátricos (56%) y neonatos (52%), aunque con frecuencias de aislamientos similares de *C. albicans* y *C. parapsilosis*. Por otro lado, los distintos reportes revelan que existen variaciones significativas en el aislamiento de especies según la región geográfica y el grupo de pacientes en estudio, siendo en ciertos casos más prevalentes especies no *C. albicans*. (7, 28, 37,40). Los resultados de este estudio confirman y refuerzan la información acerca de infecciones producidas por levaduras no *C. albicans* también en centros médicos de nuestra región.

En este estudio, la triada *C. parapsilosis* complex, *C. albicans* complex y *C. tropicalis* representó el **88,2%** de las especies más frecuente aisladas. El **67,3 %** de las especies aisladas resultaron levaduras no - *C. albicans*. Fue significativo el hallazgo de *C. parapsilosis* como complejo de especies predominante en ambas poblaciones, así como en la mayoría de las muestras clínicas evaluadas, desplazando a *C. albicans* a segundo, y en algunos casos a tercero, como por ejemplo en hemocultivos pediátricos.

La triada *C. albicans/C. parapsilosis/C. tropicalis* coincide con otros datos informados anteriormente en Argentina y Latinoamérica en donde, en general, aproximadamente el 80% de los aislamientos corresponde a estas tres especies (10, 23,24, 35,73), y difiere de otros países como Alemania o Estados Unidos donde en algunos nosocomios *C.*

glabrata complex ocupa el segundo lugar, en donde la prevalencia de esta especie se deba probablemente al uso de FCZ como profilaxis (74–76).

La metodología empleada para la identificación de las levaduras permitió la identificación de las especies, con un porcentaje de confianza superior al 96% indicado por método comercial, en todos los casos. Uno de los problemas principal que se presenta con la metodología de identificación utilizada en este estudio es la imposibilidad de identificar una especie emergente como *C. auris*. Esta levadura multi resistente recientemente reconocida por su capacidad de producir brotes, además de la elevada mortalidad asociada las infecciones, puede identificarse erróneamente como varios organismos diferentes cuando se utilizan métodos fenotípicos tradicionales para la identificación de levaduras como VITEK 2 YST, API 20C, Phoenix y MicroScan. Solo con estudios de identificación molecular y con dispositivos de diagnóstico por espectrometría de masa (MALDI-TOF) pueden diferenciar *C. auris* de otras especies de *Candida*, pero no todas las bases de datos de referencia incluidas en los dispositivos MALDI-TOF permiten la detección. A pesar de que en nuestro país esta especie aún no ha sido reportada, su aislamiento puede resultar un problema, especialmente en lugares con recursos limitados como el nuestro donde la identificación molecular puede no estar disponible de inmediato. Nuevamente nos obliga a reconsiderar la necesidad de implementación de técnicas más sofisticadas, más rápidas y efectivas en la detección de especies multirresistentes emergentes de alto riesgo.

Candida parapsilosis

Candida parapsilosis complex se presenta como un microorganismo cada vez más frecuente causante de infecciones nosocomiales, principalmente entre pacientes pediátricos. En el presente estudio el complejo *Candida parapsilosis* fue la levadura predominante.

C. parapsilosis sensu lato es un complejo que incluye 3 especies íntimamente relacionadas: *C. parapsilosis sensu stricto* (s.s.), *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis*. Con la definición de estas 3 especies dentro del complejo *C. parapsilosis*, surgieron interrogantes sobre la prevalencia de cada una de ellas en cuanto a la posible variación según el grupo etario y los sitios anatómicos de los cuales se aíslan, pero, en especial, si existen diferencias en los perfiles de sensibilidad a los antifúngicos entre las mismas. Varios estudios han demostrado que las mismas presentan virulencia y perfiles de sensibilidad diferentes, sin embargo estas especies solo pueden ser diferenciadas por técnicas moleculares (55,56,77,78). Como el diagnóstico de infecciones fúngicas en nuestra región aún se basan en metodologías convencionales, los métodos de identificación aquí empleados no fueron capaces de distinguir estas especies crípticas. Considerando las diferencias epidemiológicas entre las variedades, enfatiza la necesidad futura de disponer en el laboratorio con estas técnicas actuales más específicas.

Aunque esta especie es agente causal de múltiples patologías tanto en huéspedes inmunocomprometidos como inmunocompetentes, afecta principalmente a los recién nacidos de bajo peso, pacientes cateterizados, y sujetos bajo esquemas de hiperalimentación intravenosa. Su incidencia ha aumentado en el mundo, estableciéndose como la segunda *Candida* en frecuencia aislada de hemocultivos en Asia, Latinoamérica y algunos países de Europa, e incluso informada en primer lugar en algunos centros (24,78–83). En Argentina fue el primer agente etiológico de candidemia en unidades de cuidados intensivos pediátricos y neonatales, con una prevalencia de hasta 10 veces mayor que en adultos (7,35). En este estudio, las especies del complejo *C. parapsilosis* fueron encontradas con mayor frecuencia en la mayoría de las muestras clínicas, en ambas poblaciones estudiadas. Estudios previos realizados en nuestra región, ya la notificaron como una especie predominante entre pacientes pediátricos, aislada principalmente en muestras de catéteres y hemocultivos (10,11)

La elevada incidencia de este complejo como patógeno humano, se puede relacionar a que es reconocida como importante microorganismo parte de la biota normal de la piel. Diferentes estudios reportan que *C. parapsilosis* complex se aísla de la piel del personal de salud con un rango de portación que varía entre el 17% al 75%, además de las superficies y de materiales médicos. Se ha comprobado la transmisión de esta levadura a los pacientes a través de las manos del personal y por otro lado su persistencia en los ambientes hospitalario, resultando en una de las vías de infección horizontal por levaduras más comunes (45,48,51–53). También se ha demostrado su presencia en fluidos intravenosos, bombas de vacío utilizadas para la producción de nutrición parenteral y en cremas y pomadas empleadas en el cuidado de la piel (28, 41,80). Se ha relacionado ampliamente al uso de nutrición lipídica parenteral como así también al uso prolongado de catéteres y otros dispositivos implantados, ya que esta levadura presenta la capacidad de adherencia y de formar biopelículas en la superficie interna de los mismos (85, 89,93,94). Esto podría explicar que el 41,1 % de las levaduras que se aislaron colonizando catéteres pertenecieron al complejo *C. parapsilosis*, y que además haya sido aislada en todos aquellos pacientes neonatos con alimentación lipídica parenteral (ver tabla 7).

Considerando la elevada prevalencia de *C. parapsilosis* encontradas en este trabajo y debido a la gran relación que guarda con infecciones de tipo exógeno, son necesarias estrictas medidas preventivas de higiene y concientización en la importancia del lavado de manos antes y después del contacto con los pacientes, además del cuidado en el manejo de los catéteres, a fin de evitar la colonización del mismo, posterior formación de biofilm y de esta manera disminuir la incidencia de infecciones producidas por esta levadura.

Candida albicans

Uno de los hallazgos más importantes realizado en este trabajo fue la relativa baja frecuencia de *C. albicans* obtenida en relación con las demás especies. Históricamente,

C. albicans representó entre el 70–80% de los aislamientos clínicos. Sin embargo, en los últimos 10 a 30 años, las especies no - *albicans* surgieron como importantes patógenos oportunistas de infecciones humanas y en algunos casos, como en este trabajo, superaron a *C. albicans* en frecuencia (7, 11, 27, 40,90). Como se dijo previamente, este aumento podría estar relacionado con la existencia de mejores métodos de diagnóstico e identificación, el uso creciente y generalizado de ciertas prácticas médicas y la selección de especies más resistentes debido al uso más extenso de antifúngicos.

Un sistema inmune intacto y una microbiota normal son suficientes para proteger al individuo de las infecciones por *Candida*. Las infecciones por levaduras adquiridas vía endógena, se establecen por células que normalmente colonizan las mucosas, superficies o la piel como comensales inofensivos, pero que producen infección cuando ocurren desequilibrios en el sistema inmune o el microbioma del hospedero. Sin embargo, ciertos eventos críticos pueden favorecer que este hongo se torne patógeno. *C. albicans* es un componente habitual de la microbiota cutánea, tracto gastrointestinal y genital. Del 2 al 15% de los enfermos colonizados por esta especie desarrollan candidiasis diseminada (37). En un estudio de vigilancia realizado a 592 neonatos donde se tomaron cultivos semanales, el 12,1% de los pacientes se colonizaron con levaduras del género *Candida*, de las cuales el 42% fue por *C. albicans*. El resto fueron colonizados luego del 5 día, y los recién nacidos por vía vaginal tuvieron un mayor riesgo de colonización temprana, siendo en este caso, *C. albicans* la especie más prevalente. Este mismo estudio demostró que el 6,9% de los pacientes neonatos que desarrollaron candidiasis estaban colonizados y solo el 0,76% de los bebés no colonizados, lo que sugiere que el monitoreo de la colonización en los bebés de mayor riesgo puede ser beneficioso. En nuestro estudio, se encontró como segunda especie en frecuencia en materia fecal de neonatos, constituyendo una potencial fuente de infección endógena para el desarrollo de candidiasis.

C. albicans fue la especie más frecuente encontrada en las muestras de orina en este trabajo, similar a lo que se observa en otras investigaciones que la informan en una frecuencia entre el 50 al 70% (91–93). Uno de los puntos más importantes de esta especie es que es más virulenta que otras y se ha asociado con mayores tasas de daño producido en órganos y una mayor mortalidad atribuible (20). Esta levadura tiene la capacidad de desarrollar adherencia a células epiteliales y endoteliales, síntesis de enzimas hidrolíticos, formación de hifas y pseudohifas, cambio fenotípico, modulación antigénica, constituyendo un importante patógeno nosocomial (39). Un estudio realizado en pacientes neonatos, demostró que a pesar de la detección y el tratamiento, la tasa de mortalidad de la candidiasis invasiva fue del 32%, y entre los afectados por *C. albicans*, estos valores alcanzaban el 44%.

Candida tropicalis

C. tropicalis es una de las especies más comunes entre las especies no *C. albicans* en pacientes pediátricos, frecuentemente aislada de cultivos de sangre y orina (15, 28, 35, 73,83). En nuestro estudio, fue la segunda en frecuencia en hemocultivos de pacientes pediátricos (25,8 %), desplazando a tercer lugar a *C. albicans*, aunque entre pacientes neonatos fue aislada en menor frecuencia (9 %). Esta especie es a menudo encontrada en pacientes en unidades de cuidados intensivos, especialmente en aquellos que requieren cateterización prolongada, los que reciben antibióticos de amplio espectro o pacientes con cáncer, especialmente con leucemia y neutropénicos (15, 28, 40, 83,94). Si observamos en el presente trabajo los pacientes de los cuales dispuso de algún dato de factor de riesgo, el 29,7 % de los pacientes oncológicos tuvo algún aislamiento de *C. tropicalis* y junto con *C. albicans*, fue la especie más frecuente aislada en pacientes pediátricos internados en UTI (ver tabla 8).

Esta levadura tiene mayor potencial de diseminación entre individuos neutropénicos con enfermedad hematológica o receptores de médula ósea en comparación con otras especies (83). Según Kontoyiannis y col., entre las diferencias distintivas en la

presentación y los factores de riesgo que distinguen las fungemias producidas por *C. tropicalis* y *C. albicans*, la primera se presenta en forma más persistente y conduce a estadías más prolongadas en UTI durante el curso de la infección (39,95). Esta persistencia de *C. tropicalis* se observó en este trabajo, donde en tres casos de pacientes pediátricos y dos de neonatos, se obtuvieron aislamientos reiterados de *C. tropicalis* en más de una ocasión durante su internación (ver tabla 5). Por otro lado, algunos estudios epidemiológicos (94–96) han demostrado que esta especie se asocia con mayor mortalidad que otras especies. En el estudio realizado por Singhi y col. una de las variables significativamente asociadas con mayor mortalidad fue el aislamiento de especies no *albicans*, especialmente *C. tropicalis* (97). Costa y col. observaron una tasa de mortalidad general del 41% para candidemias y del 71% para pacientes con infecciones por *C. tropicalis* (98). Esta predisposición de *C. tropicalis* para la diseminación y la elevada mortalidad asociada, pueden estar relacionadas a factores de virulencia de esta especie tales como la formación de biopelículas y la secreción de proteinasas (28).

Esta especie también ha sido informada con menor sensibilidad antifúngica en comparación con *C. albicans*. Este comportamiento no se observó en nuestro trabajo, porque todas las cepas de *C. tropicalis* evaluadas resultaron sensibles a los antifúngicos probados, diferente de *C. albicans* donde sí se registró resistencia frente a los azoles.

Candida glabrata

C. glabrata es un complejo de especies de distribución ubicua en la naturaleza, que pueden encontrarse en la cavidad oral, y mucosa vaginal y uretral de individuos sanos. Anteriormente se las consideraba un saprófito no patógeno, que raramente causaban infecciones graves en humanos. Sin embargo, tras el uso generalizado y el aumento de las terapias inmunosupresoras, la frecuencia de infecciones causadas por esta levadura ha aumentado de manera significativa (99). En nuestro estudio se encontró en cuarto lugar entre neonatos (6,71%) y pediátricos (2,63%). En relación a otros trabajos de

pacientes pediátricos realizados anteriormente en nuestra región, esta especie ha disminuido su frecuencia entre pacientes pediátricos (15) y ha aumentado entre neonatos (73).

Poco se conoce acerca de los reservorios hospitalarios de *C. glabrata*, donde las fuentes probables de infección podríamos suponer involucran una interacción compleja de reservorios tanto humanos como ambientales (28). Aunque estas levaduras no son aisladas con frecuencia de las manos del personal del hospital, se ha sugerido que interviene la transmisión exógena, debido a que ha sido aislada de superficies ambientales en contacto con las manos (34,105–107). Sin embargo, al formar parte de la biota normal del individuo se presume una alta ocurrencia de infecciones de origen endógeno por esta levadura. Ha sido aislada en aproximadamente entre un 31 a 55% de pacientes internados, y las tasas de colonización aumentan con la gravedad de la enfermedad y la duración de la hospitalización (99). En este estudio, se ha aislado en muestras simultáneas de orina y materia fecal de pacientes neonatos, como agente colonizante en cateter y como causante de candidemias. Su detección temprana podría permitir reforzar medidas de control a fin de evitar su diseminación.

Esta especie ha sido informada como agente frecuente de infecciones urinarias junto a otras especies como *C. albicans* y *C. tropicalis* (91, 93,103–105). Existen evidencias que se adapta fácilmente a determinadas propiedades de la orina, como la osmolalidad y el pH (91). Un estudio multicéntrico realizado por Sobel y col. muestra a *C. glabrata* como responsable del 20% de las infecciones del tracto urinario por *Candida* en un total de 316 pacientes (102), y en otro realizado por Kauffman y col. *C. glabrata* ocupó el segundo lugar con una frecuencia del 15,6 % entre 861 pacientes con funguria (105). En diferentes estudios realizados en nuestro país, esta especie ocupó el segundo lugar en frecuencia, 24,8 % según Mujica y col. (103) o tercer lugar, 11,5% según Cornistein y col. (104). En este estudio, el complejo *C. glabrata* se aisló en un porcentaje inferior (6,94 %) ocupando el cuarto lugar en muestras de orina, tanto entre pacientes pediátricos como neonatos,

con un valor similar al obtenido por Alvarez (8,7%), quien también realizó su investigación en una población pediátrica (93).

Las infecciones por *C. glabrata* son difíciles de tratar debido a que estas levaduras son poco sensibles a las drogas azólicas. En consecuencia, estas infecciones se presentan con una elevada tasa de mortalidad entre pacientes hospitalizados de alto riesgo (28,106). También existen evidencias que demuestran una rápida diseminación de las infecciones por esta levadura en los estos pacientes (34,99). *C. glabrata* complex es generalmente sensible a los derivados poliénos como nistatina y AMB, pero presenta sensibilidad disminuida al FCZ, droga de primera línea utilizada en el tratamiento de los pacientes en estos nosocomios (34). Las levaduras de *C. glabrata* de este estudio no presentaron resistencia antifúngica manifiesta frente a los demás azoles como ITZ y VCZ. En estos casos, el tratamiento con azoles podría llevar al fracaso terapéutico. Es por lo tanto fundamental, el aislamiento e identificación de esta especie especies, a fin de instaurar la terapia antifúngica correcta.

Este estudio mostró un aumento en la frecuencia de aislados del complejo de *C. glabrata* en comparación a a otros estudios realizados en nuestro país, como por ejemplo el de Rodero y col. (2,6 % vs 4,08%), pero, valor similar a los datos informados por Córdoba y col. (4,3 %). En otro trabajo similar realizado en el 2006 donde se evaluaron pacientes pediátricos, la frecuencia informada de esta especie fue del 10,7 % en hemocultivos y 5,6 % en cateteres, superior a la obtenida en este trabajo (11). En un estudio similar realizado por nuestro equipo de trabajo, donde se evaluaron levaduras aisladas de neonatos, de 92 cepas solo una fue *C. glabrata*, obtenida a partir de un cateter (1,1%), comparado con este trabajo donde se obtuvieron 10 de 149 levaduras (6,71%). Esto demuestra un aumento en la frecuencia de esta especie entre pacientes neonatos, en relación a 20 años atrás en nuestra región (10). Es importante mencionar que en estos pacientes neonatos, no hubo terapia previa con FCZ, lo cual permitiría descartar una selección de especies.

Distintas frecuencias se observan en países como los Estados Unidos y Alemania, donde los aislamientos del complejo *C. glabrata* ocupan el segundo lugar, probablemente debido al uso de terapias con FCZ como profilaxis. En los nosocomios incluidos en este estudio no se utiliza terapia con FCZ como profilaxis.

Especies menos frecuentes

Candida lusitaniae

Candida lusitaniae es reconocida como un patógeno nosocomial emergente, principalmente entre pacientes graves e inmunodeprimidos. Una revisión realizada que incluye 55 casos de infecciones por esta levadura, reveló que la mayoría de las infecciones se producen en paciente relativamente jóvenes, siendo la funguemia el síndrome principal, y con menos frecuencia se informan casos de peritonitis, infecciones del tracto urinario y meningitis (107). En nuestro estudio se obtuvieron cuatro aislamientos de *C. lusitaniae*, dos de hemocultivos, uno de líquido pleural y uno de orina de un paciente neonato. En dos de estos casos se encontró esta levadura en asociación con otras especies (una *C. tropicalis* y otra *C. albicans*).

A pesar de ser poco frecuente, informada entre un 0,6 y 2,1% en publicaciones realizadas en Argentina (7, 11,35), y hasta en un 4 % a nivel internacional (menor aún entre paciente pediátricos) (26,27,112), su interés clínico radica en su capacidad para desarrollar resistencia a la AMB, en especial durante el tratamiento con este fármaco. Esta resistencia a la AMB es principalmente del tipo adquirida, aunque existen algunos reportes de cepas con resistencia intrínseca (108,109). A pesar que el documento del CLSI no establece puntos de cortes epidemiológicos de AMB frente a esta especie, Pfaller y col. establecen valores tentativos de ECV de AMB (2 ug/ml, 24h y 4 ug/ml, 48h)(62,64). Las levaduras procesadas en este trabajo, resultaron ser cepas salvajes sin mecanismos de resistencia adquiridos, si consideramos el ECV establecidos por Pfaller.

En un estudio, entre 103 aislamientos de hemocultivos evaluados frente a la AMB por Etest, 96,7% fueron sensibles a concentraciones de ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$ y dos presentaron CIMs

altas (8 y 16 µg/ml, respectivamente) (110). En contraste con las pruebas de microdilución en caldo, el método Etest o la evaluación con curvas de muerte han demostrado ser más sensibles y específicas en estos casos para la detección de resistencia a la AMB en aislamientos de *C. lusitaniae* y para las otras especies de *Candida*. Algunos autores sugieren que la resistencia primaria a la AMB es poco común entre los primeros aislamientos de hemocultivos, sin embargo, si esta droga se utiliza para tratar estas infecciones, el paciente debe ser cuidadosamente monitoreado a fin de detectar la aparición de resistencia adquirida (32). A fin de determinar con más precisión el comportamiento de esta especie frente a estas drogas se necesitan mayores datos sobre esta levadura, incluido los perfiles de sensibilidad.

No existen puntos de corte clínicos para esta especie que nos permita categorizarlas en aislamientos sensibles o resistentes frente a los azoles. El CLSI establece puntos de cortes epidemiológicos frente al fluconazol e itraconazol (ECV 1 µg/ml ambas drogas)(62). En general, se comporta como una especie sensible frente a los triazoles (96 a 100%)(110). Sin embargo en nuestro estudio, dos de los aislamientos resultaron con CIM superiores al ECV frente al FCZ (CIM 2 µg/ml). Los valores de CIM de esta especie frente al FCZ se muestran en general en amplios rangos, entre 0,25 a 16 µg/ml., aunque son escasos aquellos que exhiben el valor de la CIM (64,107).

Candida lusitaniae está asociada a infecciones en pacientes inmunocomprometidos, principalmente oncológicos y neutropénicos (21, 40,107,108). En este estudio, los 4 pacientes que presentaron aislamientos de *C. lusitaniae* tenían alguna enfermedad de base o factor de riesgo predisponente: un paciente con neuroblastoma, otro con leucemia mieloide aguda, otro paciente nefrectomizado en diálisis peritoneal, y un neonato de bajo peso con un período de internación de dos meses en unidad de cuidados intensivos.

Candida guilliermondii

Candida guilliermondii se puede encontrar formando parte de la microbiota humana y es considerada un patógeno emergente, que se presenta con una gran variabilidad en su

frecuencia de aislamiento de acuerdo al país y la población en estudio (7, 21, 26, 35,116). Por ejemplo, en un estudio de candidemias realizado por Nucci y col. que incluyó a 7 países de Latinoamérica, esta especie fue muy común en Honduras con una frecuencia de 20,7%, mientras que en países como Brasil y Colombia representó menos del 2% del total de los aislamientos. En este estudio, *C. guilliermondii* fue encontrada al 2,67%, menor a la frecuencia informada por Nucci y col. (6,7%). Pero en este caso, los aislamientos no fueron obtenidos a partir de muestras de hemocultivos, sino de muestras pareadas de orina y materia fecal de pacientes neonatos. Otros sitios anatómicos de donde esta especie ha sido aislada incluyen catéter, orina, muestras respiratorias, piel, tejidos blandos y genitales (10,112).

La importancia de esta especie radica en que ha sido informada como una levadura con capacidad de propagarse produciendo brotes nosocomiales (111,113,114), razón por la cual es importante su detección temprana. Se ha demostrado que la transmisión nosocomial se detiene tras un refuerzo de las medidas de control de infecciones (111).

En algunos casos, esta especie se presenta con sensibilidad disminuida a diferentes tipos de antifúngicos. Dick y col. informaron un caso de candidiasis diseminada debido a *C. guilliermondii* en el que el paciente falleció a pesar de la terapia con AMB, y cuando se realizó el estudio de sensibilidad *in vitro* demostró que el microorganismo era resistente a esta droga (36). La resistencia al FCZ se informó en un caso de osteomielitis en un dedo causada por *C. guilliermondii*, donde la infección no respondió al tratamiento prolongado con FCZ y requirió la amputación del dedo afectado. La cepa aislada obtenida del hueso infectado resultó resistente tanto al FCZ como al ITZ (115). Por otro lado, Masala y col. informaron de un brote nosocomial por *C. guilliermondii* de fungemias relacionadas al catéter entre cinco pacientes quirúrgicos, donde todos los aislamientos fueron resistentes a la flucitosina, pero sensibles al FCZ y AMB. Todos los pacientes fueron tratados con éxito con FCZ, junto con la extracción de los catéteres vasculares (111). A pesar de que en las distintas publicaciones se refieren a la sensibilidad o resistencia de los aislados de

esta especie, no existen hasta la actualidad valores de puntos de corte establecidos para *C. guilliermondii*, razón por la cual se dificulta la comparación entre trabajos. Si está establecido el VCE para el FCZ (8 ug/ml), que permite categorizar a las cepas evaluadas en este estudio como cepas salvajes, sensibles *in vitro* a esta droga. Estas cepas también presentaron valores bajos de CIM frente a los demás azoles y AMB. En anteriores publicaciones en nuestra región se han estudiado cepas de esta especie sensibles a los mismos antifúngicos aquí evaluados (10,11).

Debido a que *C. guilliermondii* puede mostrar una sensibilidad disminuida a diferentes clases de agentes antifúngicos, a que hay evidencia de que puede transmitirse de un paciente a otro en el entorno hospitalario, su aislamiento debe considerarse de importancia en nuestras instituciones.

Candida krusei

Candida krusei representa en general entre 1,5 al 4% de los aislamientos de *Candida* de hemocultivos, aunque la frecuencia de aislamiento puede ser menor cuando se consideran poblaciones pediátricas (7, 10, 27,35), aunque puede aumentar en instituciones donde se utiliza FCZ como profilaxis (40). En este estudio, esta especie representó el 1,44 % del total de los aislamientos, aunque no fue aislada en muestras de sangre. Existen escasos reportes de esta levadura en otros sitios anatómicos; también se la ha encontrado en muestras de cateteres venoso central y en orinas de pacientes internados (26, 98, 110,121).

Existen algunos estudios que sugieren que la utilización de FCZ puede contribuir a la selección de esta especie; y también hay registros de colonización e infección entre pacientes internados con neoplasias hematológicas sin previa utilización de esta droga, lo cual supondría que la selección se realiza de biota endógena del paciente (32,117). Entre las cepas evaluadas en este estudio, aquella obtenida de BAL fue aislada de un paciente pediátrico internado en unidades de cuidados intensivos, VIH positivo, que en el momento del aislamiento recibía terapia con FCZ.

El perfil de susceptibilidad antifúngica observado entre las levaduras de *C. krusei* estudiadas mostró en dos de los casos resistencia también a otras drogas azólicas como ITZ y KTZ en uno de las cepas y KTZ en otras dos, con valores de CIM >1 µg/ml para cada droga. Esta menor sensibilidad observada frente a otros azoles en esta especie ha sido previamente observada por nuestro grupo de trabajo (10), en el caso de un aislamiento de *C. krusei* de un hemocultivo de un paciente pediátrico que presentó resistencia al ITZ. Sin embargo, la resistencia cruzada frente a los azoles para esta especie no está documentada, y la resistencia a los demás azoles es consecuencia de un mecanismo de resistencia diferente (123,124).

Algunos autores señalan a esta especie como un patógeno multirresistente con resistencia intrínseca al FCZ, a la AMB (CIM ≤ 1 µg/ml para 8,0 % de aislamientos) y a la flucitosina (4,0% S)(32,118). Sin embargo este perfil de resistencia no se extiende a los nuevos triazoles ni a las equinocandinas. En nuestro estudio los aislamientos fueron sensibles frente al voriconazol, y considerando los puntos de cortes epidemiológicos de AMB propuestos por el manual M60 del CLSI, son cepas salvajes, es decir que no evidencian de mecanismos de resistencia frente a la AMB (CIM < 2 µg/ml).

***Candida rugosa*, *C. kefyr*, *C. famata*.**

Son especies poco frecuentes, pero que han sido informadas en estudios previos (40,120). Si bien algunas de estas especies han sido designadas como especies "emergentes", su incremento podría simplemente representar mejores métodos utilizados en los últimos años en la identificación a nivel de especie.

Se han descrito fungemias por *C. rugosa* en enfermos inmunosuprimidos, asociada a la utilización de catéter, y colonizaciones de heridas asociadas al uso de nistatina tópica en una unidad de quemados (39). Ha sido documentada por causar brotes nosocomiales de fungemia y por su baja sensibilidad a los azoles y las equinocandinas (40,120). Se encontró que *C. rugosa* es más común en candidiasis invasivas en América Latina en comparación con otras regiones del mundo (120). En este trabajo fue aislada en una

muestra de hemocultivo de un paciente neonato, y se mostró sensible a todos los antifúngicos probados, excepto frente al FCZ donde se obtuvo un valor de CIM elevado.

C. kefyr es un patógeno que en raras ocasiones produce enfermedad (26, 35,126), pero que también ha sido informada en pacientes pediátricos (11,27). Un estudio realizado sobre 23 instituciones médicas en América del Norte entre 2003 y 2008, encontró que *C. kefyr* fue el agente causal de candidiasis invasiva en 11 casos de 5.526 candidiasis (0,2%) (122). En un hospital de Francia, el 17% de los pacientes neutropénicos con leucemia aguda estaban colonizados con *C. kefyr* (123). En este estudio se aisló de la orina de un paciente pediátrico. En nuestra región ha sido previamente informada colonizando cateteres (11) y en otro estudio multicéntrico realizado en Argentina se comunicó como agente causal de candidemia en un paciente que murió sin negativizar cultivos (35).

Candida famata en raras ocasiones produce candidiasis invasivas y se ha demostrado que exhibe baja sensibilidad a las equinocandinas y azoles, principalmente en un contexto de exposición antifúngica previa (40). Es una especie muy difícil de identificar, si no se cuentan con métodos comerciales, moleculares o de espectrometría de masa, debido a que comparte características fenotípicas similares a *C. guilliermondii* y *C. auris*. En este estudio, su identificación se llevó a cabo empleando métodos comerciales de identificación definitiva (API ID 32C), pero actualmente debido a la alerta por emergencia epidemiológica establecida por el CDC para *C. auris*, su identificación solo puede realizarse por métodos moleculares o espectrometría de masas.

La cepa de *C. famata* aislada en este trabajo se obtuvo del hemocultivo de un paciente neonato, en asociación con una *C. parapsilosis*. Lo interesante de este hallazgo fue que *C. famata* exhibió una CIM al FCZ de 32 ug/ml mientras que el aislamiento de *C. parapsilosis* fue sensible. Por esta razón, es importante aislar, identificar y realizar estudios de sensibilidad a las levaduras obtenidas en muestras clínicas.

Otros géneros

Rhodotorula sp.

Las especies de *Rhodotorula* son bacidiomicetes ambientales comunes, que pueden encontrarse en el suelo, agua de mar y lagos, jugo de fruta y leche, y han sido aisladas de diferentes superficies domesticas como ser cortinas de baño, superficies y cepillos de dientes (1,124). El género contiene 46 especies de las cuales tres han sido descritas como patógenos poco frecuentes en humanos: *R. mucilaginosa* (también conocido como *R. rubra*), *R. glutinis* y *R. minuta*. La asociación de *R. mucilaginosa* y el ser humano está bien documentada; esta levadura ha sido aislada de piel, esputo y tracto digestivo siendo considerada parte de la microbiota humana normal. Esta misma especie es la principal causante de infecciones por este género, seguidas por *R. glutinis* (1). En este trabajo, con las técnicas empleadas, solo se logró identificación de género. Algo similar ocurre con otras publicaciones, donde en su mayoría los casos publicados no presentan la identificación de especies, debido a que normalmente las técnicas moleculares requeridas no están disponibles en el laboratorio de rutina (11,35).

Las infecciones fúngicas oportunistas debidas al género *Rhodotorula* han sido informadas en pacientes con factores predisponentes como el uso de catéter venoso central y enfermedad hematológica subyacente. También se han reportado fungemias por *Rhodotorula*, peritonitis, endocarditis o meningitis en otros grupos de pacientes vulnerables, entre ellos pacientes con SIDA, quemaduras extensas, diálisis peritoneal ambulatoria continua, cirrosis, pacientes con cirugía intra abdominal, drogadictos por vía intravenosa y pacientes en UCI en estado crítico (124–128). En nuestro caso los dos aislamientos de *Rhodotorula* se obtuvieron del mismo paciente, oncológico, con catéter venoso central, es decir con los factores de riesgo informadas para este género. Los mismos se obtuvieron en dos oportunidades distintas, mientras el paciente realizaba terapia con FCZ, manifestando resistencia *in vivo* de esta levadura frente a esta droga. La falta de respuesta terapéutica se confirmó *in vitro* porque ambos aislamientos

exhibieron valores de CIM elevados frente a las drogas azólicas. Existen reportes anteriores de infecciones por estas levaduras, durante el tratamiento con fluconazol o equinocandinas (127–130).

Ambos aislamientos presentaron valores de CIM frente a la AMB relativamente bajas. En general, las especies de *Rhodotorula* son consideradas intrínsecamente resistentes a los azoles y equinocandinas, pero susceptibles a la AMB y flucitosina. La mayor parte de los casos publicados fueron tratados con éxito con AMB (1,124).

***Trichosporon* sp.**

Las especies de *Trichosporon* se distribuyen ampliamente en el medio ambiente y se encuentran formando parte de la biota normal de la piel, particularmente en las áreas peri-genitales, y ocasionalmente como biota del aparato digestivo y vías aéreas superiores (21,38).

Este género debido a la incorporación de la biología molecular, ha sufrido una importante reclasificación taxonómica, y hoy se describen 37 especies que pertenecen al menos a cinco clados filogenéticos. Sin embargo, sólo 16 se han asociado con infecciones en humanos (38). Algunas especies se asocian con infecciones invasoras, principalmente *Tr. asahii*, *Tr. mucoides*, *Tr. asteroides*.

La gran mayoría de los casos publicados en la bibliografía son causados por *Tr. asahii* (74%) (1,38). En este trabajo, las dos especies aisladas fueron *Tr. asahii* y *T. mucoides*. Sin embargo, una parte significativa de la literatura existente no proporciona una identificación correcta o única y por lo tanto, los datos genuinos acerca de la distribución de especies son limitados.

El género *Trichosporon* es responsable de infecciones superficiales como la piedra blanca a infecciones sistémicas como neumonía por hipersensibilidad, particularmente en regiones de climas cálidos y húmedos. En pacientes inmunocomprometidos, se han informado: fungemias, endocarditis, peritonitis y meningitis (1, 21,38). Entre los factores

de riesgo más comunes para las infecciones invasivas por estos hongos se encuentran, enfermedades hematológicas malignas con neutropenia prolongadas o con disfunción de los neutrófilos como la enfermedad granulomatosa crónica. Además se relacionó con micosis asociadas al uso de dispositivos como catéteres venosos centrales, catéteres vesicales y catéter peritoneal. La capacidad de estos microorganismos de adherirse a dispositivos implantados y formar biopelículas favorece el desarrollo de las tricosporosis invasiva, facilitando la ineficacia de los fármacos antifúngicos suministrados y respuestas inmunes del huésped. Las largas permanencias en UCI, los pacientes en diálisis peritoneal y la quimioterapia también favorecen el desarrollo de enfermedad. En este estudio el 50% de los casos de aislamientos de *Trichosporon* sp. fueron fungemias. La afección renal también es frecuente y generalmente puede estar asociadas a hematuria y presencia de levaduras en orina. En nuestro estudio, el 50 % de los *Tr. asahii* fueron aislados de muestras de orina.

Cuatro de *Tr. asahii* aislados fueron obtenidos de distintos pacientes de una sala de terapia intensiva, en un periodo de tres meses (2 de orina, 1 de hemocultivo, 1 de catéter) y en todos los casos estuvieron asociados a otras levaduras (*C. parapsilosis* mayoritariamente, excepto en el caso del catéter con *C. tropicalis*). Si bien podría pensarse a estos episodios como un brote, los aislamientos presentaron diferencias en su sensibilidad antifúngica frente a la AMB. Para estos casos se precisan estudios moleculares específicos que permitan establecer si existe relación clonal entre las cepas, así como la información acerca de si los pacientes estuvieron o no con terapia antifúngica durante la internación, lo cual podría explicar las diferencias en la sensibilidad frente a la AMB.

La mayoría de los estudios que examinan perfiles de sensibilidad antifúngica de las diferentes especies dentro del género *Trichosporon*, han sugerido que *Tr. asahii* se presenta con mayor frecuencia resistente a la AMB, pero es más sensible a los triazoles que las demás especies de *Trichosporon* (38). Esto se observó también en los *Tr. asahii*

aquí estudiados, que en general presentaron valores bajos de CIM frente a los azoles y más elevados para AMB (Ver tabla 7).

Similar a *Tr. asahii*, *Trichosporon mucoides* puede producir infecciones benignas superficiales, pero este hongo puede comportarse como oportunista, causando infecciones invasivas en pacientes inmunocomprometidos como ser como pacientes con cáncer, trasplante de órganos, uso catéteres vasculares y urinarios, y con terapia antibiótica de amplio espectro (38,131). En nuestros estudios estas levaduras fueron aisladas de dos pacientes, uno de ellos en diálisis peritoneal y el otro en dos hemocultivos en distintas ocasiones. Estas cepas mostraron CIM bajas frente a todos los antifúngicos, con valores menores frente a la AMB que los observados para *Tr. asahii*, similar a lo descrito por Colombo y col. en una revisión realizada para de este género (38).

Cryptococcus sp.

La meningitis criptocócica por las especies de los complejos *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus gattii* es la causa más común de infección fúngica del sistema nervioso central en el mundo de hoy, principalmente en pacientes inmunocomprometidos, aunque también causan enfermedad en huéspedes aparentemente normales. En este estudio, se obtuvieron una cepa de *Cr. neoformans* y otra de *Cr. gatti* de muestras de hemocultivos. A pesar de que estas levaduras se aíslan de manera más frecuente de LCR, su aislamiento en hemocultivos se observa con menor frecuencia, principalmente en pacientes con meningitis. Lamentablemente, pocos datos se conocen de ambos pacientes de este estudio con estos aislamientos, sin poder establecer si la levadura fue también aislada de LCR y no fue derivada, o bien si estos pacientes eran VIH positivos.

Candidemias

La candidemia, definida como la presencia de levaduras de *Candida* en la sangre, es la causa principal de infecciones fúngicas invasoras en niños hospitalizados, y después de

las bacteriemias causadas por *Staphylococcus* coagulasa negativos, *Staphylococcus aureus* y/o enterococos, es la tercera o cuarta causa más común de infección del torrente circulatorio en el mundo (54). En este estudio, los aislamientos de levaduras de hemocultivos representaron el 30 % del total de las muestras.

El aislamiento de una levadura en sangre nunca debe interpretarse como un contaminante, debe incitar la búsqueda de la fuente y demanda resolverse rápidamente debido a que esta infección tiene elevada tasa de mortalidad, principalmente entre pacientes pediátricos. La candidemia se asocia con hasta un 47% de mortalidad atribuible y esto es aún mayor entre las personas con shock séptico. Varios autores han demostrado que la mortalidad está estrechamente relacionada con el momento de inicio de la terapia y / o el control de la fuente (132–134). Un análisis reciente de 319 episodios de candidemias en 262 niños tratados en centro médico de Taiwán durante un período de 13 años, mostró una mortalidad acumulada de 13,4% al 7° y de 25,2 % a los 30 días después del primer episodio de candidemia. En nuestro país, la mortalidad de pacientes con candidemia se reporta entre un 20-30% (35,135). Aunque no existen suficientes datos específicos de pacientes pediátricos, estos valores de mortalidad atribuida a las candidemias, enfatizan la necesidad urgente de detectar, diagnosticar e instaurar tratamiento a las infecciones del torrente circulatorio en estos pacientes de riesgo.

Por otro lado, existe una relación estadísticamente significativa ya probada entre la candidemia pediátrica relacionada con mayores costos de hospitalización y prolongación de la permanencia hospitalaria (78, 79). Desde el torrente sanguíneo, el hongo tiene la capacidad de invadir casi todos los sitios y órganos del cuerpo, lo que provoca una infección sistémica de elevada mortalidad. En el presente estudio, en ocho de los pacientes neonatos y en 3 tres de los pacientes pediátricos, la levadura fue aislada en el hemocultivo conjunto con otro sitio anatómico, y confirman la infección sistémica en los pacientes.

Hay pocos informes que reflejen la incidencia real de las candidemias en nuestro país y aún son más escasos los realizados en niños. Más del 90% de las candidemias en pacientes hospitalizados, son producidas por las siguiente cinco especies: *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, y *C. krusei* (134). En este estudio, *C. parapsilosis* complex fue la especie más común entre pacientes pediátricos (38,4%), seguida por *C. tropicalis* (25,2%) y *C. albicans* complex (24,2%).

En los últimos años, la frecuencia de candidemias debidas al complejo *C. parapsilosis* se ha incrementado, sobretodo en América Latina, ocupando el segundo lugar entre las especies encontradas—después de *C. albicans*, incluso en algunos centros se reconoce como la especie más frecuente (7, 16,48), similar a los observado en este estudio. En la investigación realizada por Santos y col. donde se estudiaron 49 episodios de candidemias, *C. parapsilosis* fue la especie más frecuente aislada (32,6 %), más aún entre pacientes neonatos, similar a lo observado en este trabajo (24). El porcentaje de especies no *C. albicans* se eleva cuando analizamos la población de pacientes neonatos, y la especie más predominante fue *C. parapsilosis* (59,1 % de los aislamientos. En un estudio anterior de nuestra región en pacientes neonatos realizado por nuestro equipo de trabajo, el porcentaje obtenido de especies no *C. albicans* resultó superior al 60% (73).

Sin embargo, otras investigaciones aun reportan a *C. albicans* como la especie más frecuente. En el trabajo realizado por Córdoba y col. sobre 467 levaduras de hemocultivos, el 43,5% de las especies aisladas en pacientes pediátricos fueron *C. albicans*, seguida por *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* (35). Otro estudio multicéntrico de candidemias realizado en cinco hospitales de cuatro países de América Latina que incluyó cepas Argentinas, reportaron a *C. albicans* como el agente etiológico más frecuentemente aislado, aunque las especies no *C. albicans* alcanzaron alrededor del 60% de todos los aislamientos (25).

La elevada frecuencia de aislamientos de especies del complejo *C. parapsilosis* como agentes causales principales de candidemia en este trabajo, debe ser considerada como

un signo importante de alarma, debido a que esta levadura es indicativa de transmisión horizontal, y sugiere insuficiencias en los procedimientos médicos y de control de infecciones intra hospitalarias (74, 76,136–138).

La ocurrencia de *C. tropicalis* como agente etiológico importante de candidemia en países del hemisferio norte y de Latinoamérica ha sido informada en varias publicaciones (25,144–146). Rodero y col. identificaron a *C. tropicalis* como la segunda especie en frecuencia de aislamientos relacionados con episodios de candidemia, durante un estudio multicéntrico realizado con la participación de 12 centros médicos ubicados en la Argentina (135).

La resolución clínica de la candidemia parece estar relacionada con la especie de *Candida* responsable. Según los datos de 2.019 pacientes de todas las edades con candidemia probada de 23 centros de América del Norte, la tasa bruta de mortalidad a las 12 semanas de internación fue de 35,2% (76). Los pacientes con candidiasis por *C. parapsilosis* tuvieron la tasa de mortalidad más baja (23,7%) en comparación con pacientes infectados con otras especies. Los pacientes con candidiasis por *C. krusei* tuvieron la mayor mortalidad bruta (52,9%). Estos datos se han confirmado en una última actualización, donde se revela que la mortalidad a los 90 días de la candidemia por *C. krusei* fue 16,4% mayor que la de *C. parapsilosis* (90). Estos datos sugieren que identificar y resolver una candidemia es importante para disminuir la tasa de mortalidad entre los pacientes.

Infecciones asociadas a catéteres

Los microorganismos que producen con más frecuencia infecciones asociadas a catéter son aquellos cuyo hábitat es la piel. En unidades de terapia intensiva, el origen más común de la candidemia es probablemente los catéteres intravasculares colonizados por la microbiota de la propia piel del paciente o de la piel de las manos de los profesionales de la salud. Entre estos microorganismos podemos encontrar diferentes especies del género *Candida* (142).

Las candidemias relacionada al catéter se presentan en pacientes que tienen un catéter venoso central colocado durante un tiempo prolongado, y donde se presume que el mismo es la fuente de infección. En este estudio, el 29,6% de los casos de los aislamientos en los catéteres se acompañó de hemocultivo positivo, considerándose entonces el episodio de fungemia asociado al catéter. En estos casos, el diagnóstico es muy importante, porque implica la necesidad de la extracción rápida del catéter venoso central (70,143).

En este estudio, el complejo de *C. parapsilosis* fue predominante (41,9%), seguido por *C. albicans* y *C. tropicalis*. Existen escasos estudios en Latinoamérica que reportan acerca de las especies de levaduras aisladas de catéteres (10,23). Algunos realizados en Argentina revelan, como especies más frecuentes, a *C. albicans* (23) en algunos casos y *C. parapsilosis* en otros (10). El complejo *C. parapsilosis* también fue la especie más frecuente en las candidemias asociada a catéteres en este estudio. Esta especie tiene gran capacidad de producir biofilm y es la especie con mayor frecuencia de portación en las manos del personal sanitario (23). Es imprescindible entonces reforzar las medidas de control y prevención frente a infecciones por esta especie, como ser la técnica de lavado de manos y el cuidado en el manejo de catéteres.

En algunos casos los hemocultivos fueron negativos, considerándose en este caso que el aislamiento de la levadura del dispositivo correspondía a una colonización del mismo (143). Es frecuente en pacientes críticos recibir un cultivo positivo para *Candida* spp. en punta de catéter sin candidemia concomitante. Este hecho genera siempre dudas sobre la actitud terapéutica a seguir, especialmente si el paciente está febril, no hay un foco definido y no responde a antibioterapia de amplio espectro. A pesar de que en estos casos, en estos nosocomios, la remoción del catéter también está indicada, la distinción es fundamental para el manejo del paciente. La conducta terapéutica determinada en estas instituciones establece que las colonizaciones requieren tratamiento, pero en las infecciones asociadas al catéter, el tratamiento antifúngico debe ser más prolongado.

Orina

La presencia de candiduria en pacientes hospitalizados es un hallazgo frecuente de gran relevancia clínica, con particular importancia en aquellos pacientes de UCI y en los pacientes sondados. Sin embargo, el valor de la recuperación de levaduras en orina es controvertido y no hay consenso acerca de qué parámetros son los adecuados para diferenciar entre contaminación, colonización e infección urinaria. El aislamiento levaduras en la orina de pacientes sondados representa la mayor parte de las veces contaminación del dispositivo, puede corresponder a una colonización y sólo en raras oportunidades, infección. La candiduria se asocia a una mayor mortalidad entre estos pacientes, lo que determina la relevancia clínica de su detección (144). En nuestro estudio, los aislamientos de levaduras en orinas fueron los más frecuentes (en 144 de 416 muestras), principalmente entre pacientes neonatos.

Numerosos autores confirman que el uso de catéteres urinarios es un factor de riesgo que contribuye al crecimiento de levaduras en orina y por consiguiente al desarrollo de funguria en pacientes internados (91). Una tesis realizada acerca candidurias realizada de un hospital de Formosa, Argentina, demostró que el 37% de casos de las mismas estaban asociados al uso de sonda vesical (93,145). Otro estudio realizado por Passo y col., reveló que el 92,6% de los pacientes que habían desarrollado candiduria tenían catéteres urinarios permanentes (146). La recepción de solo la levadura aislada a nuestro laboratorio, y la escasez de los antecedentes enviados de los pacientes, dificultan disponer de datos como los relacionados a si el paciente se encontraba con sonda permanente o no, haciendo imposible determinar la relación entre el uso de sonda y la presencia de levaduras en orina. Solo podemos referir que las levaduras procesadas en este trabajo son representativas de las muestras de orinas evaluadas, en cuyo caso fueron enviadas a nuestro departamento para su identificación y estudio de sensibilidad, pero nos limita para definir si se refiere a un caso de contaminación, colonización e infección urinaria.

La relación entre candiduria y funguemia ya ha sido previamente confirmada, la presencia de levadura en la orina puede ser un signo de una infección diseminada (91). En el recién nacido en estado crítico, la candiduria a menudo refleja candidiasis diseminada y puede ser acompañada de obstrucción de la vía urinaria por la formación de bolas fúngicas a nivel de la pelvis renal. En 7 pacientes neonatos, la misma levadura hallada en orina se encontró en sangre (ver tabla 4), aunque se precisarían estudios de biología molecular para relacionar los aislamientos genéticamente y establecer el mismo origen clonal.

La especie de *Candida* aislada con más frecuencia ha sido, clásicamente, *C. albicans*; sin embargo, en diversos trabajos se ha documentado el aumento en la incidencia de otras especies de este género (91, 93,147). En un estudio multicéntrico realizado por Kauffman y col. (105), donde se estudiaron candidurias de 861 pacientes, *C. albicans* ocupó el primer lugar con 51,8%, seguido por un 15,6%, 8%, 4% y 1% de aislados correspondientes a *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. krusei* respectivamente. Pero en otros casos, *C. tropicalis* ha sido la especie más común, mientras que en otros *C. glabrata* ha sido la especie dominante. En este estudio, *C. albicans* fue la especie más frecuente en ambas poblaciones analizadas, aunque las levaduras no - *C. albicans* representaron más del 50 % de los aislamientos. Este porcentaje de especies no *C. albicans* se observan en estudios similares realizados en nuestro país. En una investigación de tesis realizada en la ciudad de Tucumán entre pacientes pediátricos, *C. albicans* constituyó aproximadamente el 40% de los aislados, pero las levaduras no - *C. albicans* representaron el 58,7% del total de las levaduras (93). En otro estudio realizado en la Ciudad autónoma de Buenos Aires por Cornistein y col., el 67,2% de las especies halladas fueron *C. no -albicans* (*C. tropicalis*, 34,4%, *C. glabrata* 11,5%, *C. parapsilosis* 1,6%, *C. krusei* 0,8%, entre otras)(104). Datos similares fueron obtenidos en otro trabajo realizado por Maldonado y col. en un multicéntrico de 14 hospitales de Buenos Aires, donde *C. albicans*, seguida por *C. tropicalis* fueron las especies más frecuentes (145).

La diferencia que podemos observar en este trabajo con relación a los demás realizados en nuestro país se observa en la frecuencia entre las especies no- *C. albicans*. La segunda especie en frecuencia fue *C. parapsilosis*, principalmente entre pacientes neonatos (30,4% neonatos vs 13,8% en pediátricos). A pesar de que esta especie es también informada en muestras de orina, su frecuencia indicada por otros autores es significativamente menor a la obtenida en este trabajo, entre un 1 a 4 % (93, 103, 105,145,146). Esta especie se encuentra con mayor frecuencia en la orina de los recién nacidos y generalmente se asocia con infección sistémica en este grupo de pacientes (92); por lo tanto es común en estudios realizado solo en pacientes neonatos (148). Un estudio previo realizado por nuestro grupo de investigación sobre distribución de especies aisladas de pacientes neonatos, también mostró frecuencias elevadas de *C. parapsilosis* en orina, aunque menor a la encontrada en este trabajo, 28% de 5/23 muestras (73). Como se ha dicho anteriormente, las cepas de esta especie tienen marcada afinidad por los materiales sintéticos, forman parte de biota comensal de piel y son responsables de diseminaciones intrahospitalarias relacionadas con la contaminación y el mal manejo de los catéteres. El estudio realizado por Alvarez, demostró que *C. parapsilosis* fue la especie más frecuente aislada como contaminante en las muestras de orina, lo cual se corrigió con el retiro de la sonda vesical y toma de nueva muestra de cultivo (93). Es importante entonces remarcar la importancia de respetar las condiciones de la toma de muestras, al mismo tiempo de aplicar las medidas de control de las infecciones hospitalarias, a fin de prevenir contaminación de material, posterior colonización y posible infección por microorganismos como *C. parapsilosis*.

La tercera levadura en frecuencia fue *C. tropicalis*, 26,5 % en pediátricos y 13,9% en neonatos. Esta especies es reconocida como patógeno importante responsable de infecciones urinarias (52). Se aísla en elevada frecuencia en casos de candidurias, siendo la segunda especie informada en frecuencia en algunos casos (73, 93,149) y en tercer lugar en otros (104,105).

De acuerdo a los resultados y teniendo en cuenta que el tratamiento efectivo de una candiduria se realiza con FCZ y/o AMB (49,105), es importante el hallazgo que más del 50% de las levaduras del complejo *C. glabrata* y la mitad de las levaduras de *C. krusei* del total obtenidas en este estudio debido a que *C. krusei* presenta resistencia intrínseca y *C. glabrata* baja sensibilidad al FCZ. Por otro lado, la mayor cantidad de especies resistentes al FCZ, 4 *C. parapsilosis* y 1 *C. albicans*, fueron observadas en los aislados obtenidos de muestras de orina. Similar es el caso de los 4 aislamientos de los *Tr. asahii* en muestras de orina. En estos 4 casos, estas levaduras mostraron altos valores de CIM frente a FCZ y/o AMB (ver tabla). Estos hallazgos limitan la disponibilidad de antifúngicos para tratar a estos pacientes, y remarcan la necesidad de realizar estudios de sensibilidad antifúngica a los aislados.

Las infecciones polimicrobianas, no solo con bacterias sino también con varias especies de levaduras, ocurren en el 5% -10% de las infecciones urinarias por *Candida* (92). En nuestro estudio en 7 de las 144 muestras de orina se aislaron asociaciones de dos especies de levaduras. *C. parapsilosis* fue el patógeno más frecuente, en combinación con *C. krusei* (2), *C. tropicalis* (2) y *T. asahii* (2), así como *C. glabrata* asociada *C. albicans* (3). La importancia de identificar estas asociaciones radica en que, en la mayoría de estos casos, uno de los dos microorganismos fue resistente al FCZ, droga de primera línea para el tratamiento en candidurias.

Levaduras aisladas de materia fecal en pacientes neonatos

La colonización del tracto gastrointestinal se ha establecido como un riesgo importante para el desarrollo posterior de la infección diseminada entre neonatos de unidades de cuidados intensivos (43). Saiman y col. evaluaron infantes de 6 terapias intensivas neonatales y encontraron tasas de colonización que oscilaron entre el 18 y el 26% (37). Las especies prevalentes fueron *C. albicans* seguida de *C. parapsilosis*, igual que lo se ha demostrado en especies prevalentes en la enfermedad invasiva (37). En nuestro

estudio, ambas especies fueron aisladas como especies predominantes, aunque *C. parapsilosis* fue la más frecuente (42,8%). Resultados similares se encontraron en un trabajo realiza por Caballero-Trejo y col. donde evaluaron colonización de distintos sitios anatómicos en neonatos internados y encontraron *C. parapsilosis* como la especie más frecuente, y en segundo lugar *C. albicans*, (64 % y 28,2 % respectivamente)(41).

En otro estudio se encontró que el 40% de los casos de candidiasis invasoras, en cuyos casos también se disponía de cultivos de materia fecal, las levaduras de *Candida* pertenecían al mismo origen clonal en ambos sitios de aislamiento (150). En las 49 muestras de materia fecal estudiadas en los neonatos de este estudio, las mismas especies de levaduras fueron aisladas de otros sitios anatómicos (ver Tabla 4). Si bien se necesitan estudios más específicos para determinar si en estos casos estas levaduras comparten el mismo origen clonal, podría pensarse la colonización intestinal como puerta de entrada para estos microorganismos. Las levaduras de *Candida* alcanzan el espacio intravascular por translocación a través del epitelio intestinal. En patologías del tubo gastrointestinal como la enterocolitis necrotizante u otras anomalías intestinales congénitas, confiere un riesgo adicional para la enfermedad invasora en neonatos colonizados debido a que está comprometida la integridad de la mucosa (39,151,152). Esta evidencia de adquisición endógena en infecciones en paciente de alto riesgo como los neonatos, aconseja la realización de cultivos de vigilancia para evidenciar la colonización, así como en ciertos casos sugiere la instauración de profilaxis antifúngica en casos de pacientes de alto riesgo.

Sensibilidad antifúngica

A pesar que las guías de tratamiento internacionales, como las propuesta por la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América (IDSA) y por la Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas, recomiendan el uso de la equinocandinas como primer línea de tratamiento en infecciones fúngicas invasoras en

neonatos y pacientes pediátricos, estas drogas no están disponibles en los centros de salud de nuestra región, razón por la cual se limitan las opciones terapéuticas disponibles para nuestros pacientes. Estas mismas guías también recomiendan FCZ o VCZ como terapia en pacientes con infecciones por microorganismos sensibles a FCZ (por ejemplo, *C. albicans*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*), o VCZ para el caso de *C. krusei*. Voriconazol también es una droga que por su alto costo económico, salvo excepciones, tampoco está disponible en nuestras instituciones (49,58).

Otra recomendación es uso de la AMB en solvente lipídicos, y desaconsejan la utilización de la AMB desoxicolato debido a la cantidad de contraindicaciones con evidencia científica documentada para la misma. Salvo excepciones que implican largos trámites administrativos por parte del personal médico de nuestras instituciones y/o grandes sumas de dinero a nuestros pacientes, la AMB asociada a lípidos tampoco está disponible en estos nosocomios. Estas limitaciones, nos obliga a realizar identificación correcta del agente causal y estudiar su perfil de sensibilidad antifúngica a fin de instaurar el tratamiento adecuado para la especie implicada.

Existen diferencias entre niños y adultos en relación con las infecciones fúngicas invasoras. Estas diferencias incluyen factores predisponentes, tipos de microorganismos y sitios de infección. Debemos considerar sumado a estos factores que las diferencias farmacocinéticas significativas entre pacientes pediátricos y adultos frente a la mayoría de los agentes antifúngicos. Por lo tanto, existe la necesidad de obtener datos específicos en pediatría que sean útiles para guiar la terapia antifúngica en niños.

La mayoría de las levaduras evaluadas en este trabajo y principalmente los aislamientos de las especies más frecuentes, *C. parapsilosis*, *C. albicans* y *C. tropicalis*, fueron sensibles a los agentes antifúngicos estudiados coincidiendo con lo que se observa en investigaciones similares (7, 19, 35,40). Sin embargo, el **8,41 %** del total de las cepas resultó tener sensibilidad disminuida a alguno de los antifúngicos probados, o bien valores de con CIM superiores al punto de corte epidemiológico. A pesar de que la

resistencia fue baja entre las especies más comunes, el porcentaje de resistencia obtenido estuvo más en relación a las especies menos frecuentes pero reconocidas por tener menor sensibilidad, como ser la resistencia intrínseca al FCZ como en el caso de *C. krusei* o adquirida como *C. glabrata* y *C. lusitaniae*.

La terapia previa con FCZ es un factor de riesgo para la infección con un organismo resistente a esta droga (144). La baja incidencia de infecciones por especies de *Candida* resistentes a azoles puede estar relacionada con el uso limitado de FCZ en nuestros hospitales. Sin embargo, teniendo en cuenta que es escasa la información previa acerca de la sensibilidad antifúngica de las levaduras aisladas y de los tratamientos aplicados en estos nosocomios, esta hipótesis debería ser confirmada. Se detectaron cepas con sensibilidad disminuida al FCZ como *C. glabrata*, cepas de *C. parapsilosis* (6 en pacientes pediátricos y 4 en neonatos) y en un aislamiento de *C. albicans*.

También se observó sensibilidad disminuida a la AMB en 2 aislamientos de *C. lusitaniae* y otras con CIM elevadas frente a estas drogas como los *Trichosporon* sp. Aunque los resultados del presente estudio no tienen en cuenta datos farmacocinéticos/farmacodinámicos o clínicos, diferentes autores sugieren que se debe usar un VCE de 2 µg/ml para determinar si un aislado clínico de *Candida* debe considerarse como una cepa salvaje o no con respecto a la sensibilidad frente a la AMB. Fijando este punto de corte, en diferentes estudios se ha observado que las cepas WT de *Candida* se asociaron con una tasa de éxito de entre el 50% al 79% cuando se trataron con AMB (64,153–155). Por lo tanto, una CIM de AMB superior a 2 µg/ml debe considerarse como claramente inusual para la gran mayoría de las especies de *Candida*, y sugiere que el tratamiento con este antifúngico puede no ser eficaz (64). Considerando que ambas drogas son las opciones terapéuticas disponibles en nuestra región, el análisis cuidadoso de la tipificación de los agentes causales y el estudio de sensibilidad *in vitro*, resultan de vital importancia para desarrollar una estrategia terapéutica que resulte eficaz.

El reconocimiento temprano y el inicio rápido de un tratamiento efectivo es un requisito necesario para el manejo exitoso de niños con infecciones fúngicas invasoras. La creciente diversidad de patógenos fúngicos en pacientes de alto riesgo, las diferencias en los perfiles de sensibilidad frente a los agentes antifúngicos disponibles y los creciente reportes de resistencia exigen la identificación del agente infectante a nivel de especie y el estudio de su sensibilidad antifúngica. A pesar de las dificultades para obtener muestras apropiadas y/o suficientes, las necesidades de incubaciones prolongadas y los resultados falsos negativos, la microscopía y el cultivo de muestras apropiadas siguen siendo el estándar de referencia para el diagnóstico micológico. Sin embargo, técnicas más específicas sofisticadas y rápidas son necesarias para mejorar el diagnóstico micológico de nuestros pacientes. Este trabajo constituye un importante aporte al conocimiento de la epidemiología de las infecciones causadas por levaduras entre pacientes pediátricos hospitalizados en nuestra región, en búsqueda de mejorar la calidad de vida de nuestros pacientes.



CONCLUSIONES

Conclusiones

- ✓ Este primer gran estudio de levaduras en pacientes pediátricos de nuestra región, mostró una elevada incidencia de infecciones en niños, una distribución típica de especies con *C. albicans*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* representando la mayoría de los episodios, similar a la observada en otros estudios de Latinoamérica. Sin embargo, queda en evidencia que en entre pacientes pediátricos en nuestra región, *C. parapsilosis* es la especie prevalente y ha desplazado a *C. albicans* como especie más frecuente, siendo la primera aislada de la mayoría de las muestras procesadas. Considerando la elevada prevalencia del complejo *C. parapsilosis* y debido a la gran relación que guarda con infecciones de tipo exógeno, son necesarias estrictas medidas preventivas de higiene y concientización en la importancia del lavado de manos antes y después del contacto con los pacientes, además del cuidado en el manejo de los catéteres.
- ✓ La amplia variedad y elevada proporción de levaduras no *C. albicans* detectadas en este trabajo pone énfasis en la necesidad de identificación de especies como necesidad de conocer nuestra epidemiología, además que nos permitirá definir acerca de la preferencia de estas especies a nichos específicos entre pacientes pediátricos. El monitoreo sistemático de levaduras permite conocer cambios en la distribución de especies y detectar cepas resistentes, importante entre pacientes pediátricos donde las opciones terapéuticas son escasas en nuestra región.
- ✓ Dado que estas especies poco comunes pueden encontrarse como patógenos oportunistas importantes entre los pacientes pediátricos, resulta fundamental documentar su comportamiento frente a los agentes antifúngicos para definir manejo terapéutica del paciente probables opciones terapéuticas.
- ✓ A pesar de que los métodos convencionales de identificación de levaduras permiten obtener una identificación básica de especies, es necesario incorporar

metodología avanzada como ser técnicas moleculares y de espectrometría de masa que permitan detectar diferencias o relaciones sutiles entre las especies de un complejo, por ejemplo que nos permita definir relación clonal para detectar un brote y poder así aplicar medidas de control, o bien identificar especies crípticas dentro de los complejos de los cuales se espera diferencias en la sensibilidad antifúngica.

- ✓ Finalmente, es importante señalar que la resistencia a los antifúngicos sigue siendo baja y restringida a unos pocos aislamientos. Es por importante entonces centrarse en identificar a esas especies menos frecuentes, como *C. lusitaniae*, *C. famata*, *Trichosporon* sp. debido a que entre estos géneros y especies se ha observado tasas más elevadas de resistencia antifúngica.

BIBLIOGRAFIA

1. Arendrup MC, Boekhout T, Akova M, Meis JF, Cornely OA, Lortholary O, et al. ESCMID and ECMM joint clinical guidelines for the diagnosis and management of rare invasive yeast infections. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20: 76–98.
2. Lopes Colombo A, Nucci M, Salomão R, Branchini MLM, Richtmann R, Derossi A, et al. High rate of non-*albicans* candidemia in Brazilian tertiary care hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; 34: 281–286.
3. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of Invasive Candidiasis: a Persistent Public Health Problem. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 133–163.
4. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The Epidemiology of Sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003; 348: 1546–1554.
5. Consuelo M, Beck-Sague, William R, Jarvis and the, System NNIS. Secular Trends in the Epidemiology of Nosocomial Fungal Infections in the United States, 1980-1990. *J Infect Dis* 1993; 165: 1247–1251.
6. Kett DH, Azoulay E, Echeverria PM, Vincent J-L. *Candida* bloodstream infections in intensive care units: Analysis of the extended prevalence of infection in intensive care unit study*. *Crit Care Med* 2011; 39: 665–670.
7. Nucci M, Queiroz-Telles F, Alvarado-Matute T, Tiraboschi IN, Cortes J, Zurita J, et al. Epidemiology of Candidemia in Latin America: A Laboratory-Based Survey. *PLoS One* 2013; 8: e59373.
8. Cornelia Lass-Flörl. Invasive fungal infections in pediatric patients: a review focusing on antifungal therapy. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010; 8: 127–135.
9. Dinleyici EC. Pediatric invasive fungal infections: realities, challenges, concerns, myths and hopes. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2011; 9: 273–4.
10. Giusiano GE, Mangiaterra M, Rojas F, Gomez V. Azole resistance in neonatal intensive care units in Argentina. *J Chemother* 2005; 17: 347–350.
11. Giusiano G, Mangiaterra M, Saito VG, Rojas F, Gómez V, Díaz MC. Etiology of fungaemia and catheter colonisation in Argentinean paediatric patients. *Mycoses* 2006; 49: 49–54.
12. Ducassou S, Rivaud D, Auvrignon A, Vérité C, Bertrand Y, Gandemer V, et al. Invasive Fungal Infections in Pediatric Acute Myelogenous Leukemia. *Pediatr Infect Dis J* 2015; 34: 1262–1264.
13. Alvez F, Figueras C, Roselló E. [Emerging invasive fungal infections]. *An Pediatr (Barc)* 2010; 73: 52.e1–6.
14. Chicella MF, Woodruff ED, Desai MM, Michael F Chicella, Eloise D Woodruff MMD. A Review of *Candida* Prophylaxis in the Neonatal Intensive. *J Pediatr Pharmacol Ther* 2011; 16: 237–245.
15. Giusiano G, Mangiaterra M, Garcia Saito V, Rojas F, Gómez V, Díaz MC. Fluconazole and itraconazole resistance of yeasts isolated from the bloodstream and catheters of hospitalized pediatric patients. *Chemotherapy* 2006; 52: 254–259.
16. Tiraboschi IN, Carnovale S, Benetucci A, Fernández N, Kurlat I, Foccoli M, et al. Brote de candidemia por *Candida albicans* en neonatología. 2007; 263–267.
17. Steinbach WJ. Epidemiology of invasive fungal infections in neonates and children. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16: 1321–1327.
18. Steinbach WJ, Cotton CM, Walsh TJ, Benjamin DK, Clark RH, DeLong ER. Empirical Therapy for Neonatal Candidemia in Very Low Birth Weight Infants. *Pediatrics* 2004; .
19. Blyth CC, Palasanthiran P, O'Brien T a. Antifungal therapy in children with invasive fungal infections: a systematic review. *Pediatrics* 2007; 119: 772–84.
20. Asticcioli S, Nucleo E, Perotti G, Matti C, Sacco L, Pagani L. *Candida albicans* in a neonatal intensive care unit: antifungal susceptibility and genotypic analysis. *New Microbiol* 2007; 30: 303–7.
21. Hazen K. New and emerging yeast pathogens. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 462–78.
22. Mondal S, Mondal A, Pal N, Banerjee P, Kumar S, Bhargava D. Species distribution and in vitro antifungal susceptibility patterns of *Candida*. *J Inst Med* 2013; 35: 45–49.

23. Riera F, Medeot M, Sartori L, Bergallo C, Minoli J, Vilchez V, et al. [Candidemia epidemiology in Córdoba Argentina. Surveillance study of five institutions]. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba* 2014; 71: 89–93.
24. Santos PE, Córdoba S, Carrillo-Muñoz A, Rodero L, Rubeglio E, Soria M. Epidemiología de las fungemias en un hospital pediátrico de alta complejidad. *Rev Iberoam Micol* 2010; 27: 200–202.
25. Godoy P, Tiraboschi IN, Severo LC, Bustamante B, Calvo B, Almeida LP De, et al. Species distribution and antifungal susceptibility profile of *Candida* spp. bloodstream isolates from Latin American hospitals. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003; 98: 401–5.
26. Iatta R, Caggiano G, Cuna T, Montagna T, Caggiano RG, Montagna TCMT. Antifungal Susceptibility Testing of a 10-year Collection of *Candida* spp . Isolated from Patients with Candidemia. *Clin Microbiol Rev* 2016; 9478: 6–11.
27. Pappas PG, Rex JH, Lee J, Hamill RJ, Larsen RA, Powderly W, et al. A Prospective Observational Study of Candidemia : Epidemiology , Therapy , and Influences on Mortality in Hospitalized Adult and Pediatric Patients. *Clin Infect Dis* 2003; 0006: 0–9.
28. Silva S, Negri M, Henriques M, Oliveira R, Williams DW, Azeredo J. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis* : biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS Microbiol Rev* 2012; 36: 288–305.
29. Lion T. Human Fungal Pathogen Identification, Springer New York, New York, NY, 2017; .
30. Wattal C, Oberoi JK, Goel N, Raveendran R, Khanna S. Matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for rapid identification of micro-organisms in the routine clinical microbiology laboratory. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017; 36: 807–812.
31. Bader O, Weig M, Taverne-Ghadwal L, Lugert R, Groß U, Kuhns M. Improved clinical laboratory identification of human pathogenic yeasts by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17: 1359–1365.
32. Pfaller MA, Diekema DJ. Rare and Emerging Opportunistic Fungal Pathogens: Concern for Resistance beyond *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 4419–4431.
33. Cleveland AA, Farley MM, Harrison LH, Stein B, Hollick R, Lockhart SR, et al. Changes in incidence and antifungal drug resistance in candidemia: Results from population-based laboratory surveillance in Atlanta and Baltimore, 2008-2011. *Clin Infect Dis* 2012; .
34. Torres-Rodríguez JM. *Candida glabrata*: un patógeno emergente, in: Control Calid. SEMC, 1993; : pp. 1–7.
35. Córdoba S, Vivot W, Bosco-Borgeat ME, Taverna C, Szusz W, Murisengo O, et al. Species distribution and susceptibility profile of yeasts isolated from blood cultures: results of a multicenter active laboratory-based surveillance study in Argentina. *Rev Argent Microbiol* 2011; 43: 176–85.
36. Dick JD. Fatal disseminated candidiasis due to amphotericin-b-resistant *Candida guilliermondii*. *Ann Intern Med* 1985; 102: 67.
37. Saiman L, Ludington E, Dawson JD, Patterson JE, Rangel-Frausto S, Wiblin RT, et al. Risk factors for *Candida* species colonization of neonatal intensive care unit patients. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20: 1119–1124.
38. Colombo AL, Padovan ACB, Chaves GM. Current Knowledge of *Trichosporon* spp. and Trichosporonosis. *Clin Microbiol Rev* 2011; 24: 682–700.
39. Cantón E, Viudes A, Pemán J. Infección sistémica nosocomial por levaduras. *Rev Iberoam Micol* 2001; 18: 51–55.
40. Pfaller MA, Andes DR, Diekema DJ, Horn DL, Reboli AC, Rotstein C, et al. Epidemiology and outcomes of invasive candidiasis due to non-albicans species of *Candida* in 2,496 patients: Data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH) registry 2004-2008. *PLoS One* 2014; 9:.
41. Caballero-Trejo A, Aguirre-Morales CE duard., González-González GM, Cortés-Palma D, Miranda-Novales MG. Colonization by *Candida* in a neonatal intensive care unit. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2014; 52: S16–S23.
42. Hube B. From commensal to pathogen: stage- and tissue-specific gene expression of *Candida albicans*. *Curr Opin Microbiol* 2004; 7: 336–341.
43. Nucci M, Anaissie E. Revisiting the Source of Candidemia: Skin or Gut? *Clin Infect Dis* 2001; 33: 1959–1967.

44. Cole GT, Halawa AA, Anaissie EJ. The Role of the Gastrointestinal Tract in Hematogenous Candidiasis: From the Laboratory to the Bedside. *Clin Infect Dis* 1996; 22: S73–S88.
45. Negroni R, Arechavala DA, Giusiano GE. *Apuntes de Micología Médica*. 2013.
46. Manzoni P, Farina D, Leonessa M, D'Oulx EA, Galletto P, Mostert M, et al. Risk Factors for progression to invasive fungal infection in preterm neonates with fungal colonization. *Pediatrics* 2006; 118: 2359–2364.
47. Farmaki E, Evdoridou J, Pouliou T, Bibashi E, Panagopoulou P, Filioti J, et al. Fungal colonization in the neonatal intensive care unit: Risk factors, drug susceptibility, and association with invasive fungal infections. *Am J Perinatol* 2007; 24: 127–135.
48. Kerwat K, Rolfes C, Wulf H. [Fungal infections in the intensive care unit]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 2011; 46: 744–5.
49. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2015; civ933.
50. Cercenado Emilia CR. *Procedimientos en Microbiología Clínica*. *SeimcOrg* 2008; 40.
51. Pana ZD, Roilides E, Warris A, Groll AH, Zaoutis T. Epidemiology of Invasive Fungal Disease in Children. *J Pediatric Infect Dis Soc* 2017; 6: S3–S11.
52. Almeida AA de, Mesquita CSS, Svidzinski TIE, Oliveira KMP de. Antifungal susceptibility and distribution of *Candida* spp. isolates from the University Hospital in the municipality of Dourados, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2013; 46: 335–339.
53. Fortún J, Gioia F, Muñoz P, Graus J, Gómez-García de la Pedrosa E, Martín-Dávila P, et al. T2 magnetic resonance for the diagnosis of deep-seated invasive candidiasis in a liver recipient without candidemia. *Rev Iberoam Micol* 2018; 35: 159–161.
54. Mylonakis E, Clancy CJ, Ostrosky-Zeichner L, Garey KW, Alangaden GJ, Vazquez JA, et al. T2 Magnetic Resonance Assay for the Rapid Diagnosis of Candidemia in Whole Blood: A Clinical Trial. *Clin Infect Dis* 2015; 60: 892–899.
55. Tavanti A, Davidson AD, Gow NAR, Maiden MCJ, Odds FC. *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* spp. nov. to replace *Candida parapsilosis* groups II and III. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 284–292.
56. Tavanti A, Davidson AD, Gow N a R, Maiden MCJ, Odds FC. *Candida parapsilosis* Groups II and III. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 284–292.
57. Tian S, Rong C, Nian H, Li F, Chu Y, Cheng S, et al. First cases and risk factors of super yeast *Candida auris* infection or colonization from Shenyang, China. *Emerg Microbes Infect* 2018; 7: 128.
58. Chowdhary A, Sharma C, Meis JF. *Candida auris*: A rapidly emerging cause of hospital-acquired multidrug-resistant fungal infections globally. *PLoS Pathog* 2017; 13: e1006290.
59. Satoh K, Makimura K, Hasumi Y, Nishiyama Y, Uchida K, Yamaguchi H. *Candida auris* sp. nov., a novel ascomycetous yeast isolated from the external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital. *Microbiol Immunol* 2009; 53: 41–44.
60. Lee WG, Shin JH, Uh Y, Kang MG, Kim SH, Park KH, et al. First three reported cases of nosocomial fungemia caused by *Candida auris*. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 3139–3142.
61. Calvo B, Melo ASA, Perozo-Mena A, Hernandez M, Francisco EC, Hagen F, et al. First report of *Candida auris* in America: Clinical and microbiological aspects of 18 episodes of candidemia. *J Infect* 2016; 73: 369–374.
62. Blyth CC, Palasanthiran P, O'Brien TA. Antifungal Therapy in Children With Invasive Fungal Infections: A Systematic Review. *Pediatrics* 2007; 119: 772–784.
63. Hope WW, Castagnola E, Groll AH, Roilides E, Akova M, Arendrup MC, et al. ESCMID 2012. European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: prevention and management of invasive infections in neonates. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18: 38–52.
64. Jitsurong S, Kiamsiri S, Pattararangrong N. New milk medium for germ tube and chlamydoconidia production by *Candida albicans*. *Mycopathologia* 1993; 123: 95–8.
65. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; fourth informational supplement. CLSI document M27-S4. Wayne PA

- 19087-1898 USA, 2012.
66. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard - Third Edition, CLSI document M27-A3. Wayne PA 19087-1898 USA, 2008.
 67. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Epidemiological Cutoff Values for Antifungal Susceptibility Testing. 2nd ed. CLSI supplement M59. Wayne PA 19087-1898 USA, 2018.
 68. CLSI M60-Ed1. Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts - 1 st Edition, Wayne, PA, USA, 2017; .
 69. Pfaller MA, Espinel-Ingroff A, Canton E, Castanheira M, Cuenca-Estrella M, Diekema DJ, et al. Wild-Type MIC Distributions and Epidemiological Cutoff Values for Amphotericin B, Flucytosine, and Itraconazole and *Candida* spp. as Determined by CLSI Broth Microdilution. *J Clin Microbiol* 2012; 50: 2040–2046.
 70. Wisplinghoff H, Seifert H, Tallent SM, Bischoff T, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in pediatric patients in United States hospitals: Epidemiology, clinical features and susceptibilities. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22: 686–691.
 71. Raymond J, Aujard Y. Nosocomial Infections in Pediatric Patients A European, Multicenter Prospective Study. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000; 21: 260–263.
 72. Zaoutis TE, Argon J, Chu J, Berlin JA, Walsh TJ, Feudtner C. The Epidemiology and Attributable Outcomes of Candidemia in Adults and Children Hospitalized in the United States: A Propensity Analysis. *Clin Infect Dis* 2005; 41: 1232–1239.
 73. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, et al. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: The experience of the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics* 2002; 110: 285–291.
 74. Benjamin DK, DeLong E, Cotten CM, Garges HP, Steinbach WJ, Clark RH. Mortality following blood culture in premature infants: Increased with Gram-negative bacteremia and candidemia but not Gram-positive bacteremia. *J Perinatol* 2004; 24: 175–180.
 75. Ricardo Negroni. Micosis en pacientes inmunocomprometidos Infecciones fúngicas nosocomiales. Maestría en Micología medica, 2013.
 76. Kiraz N, Oz Y. Species distribution and in vitro antifungal susceptibility of clinical *Candida* isolates from a university hospital in Turkey over a 5-year period. *Med Mycol* 2011; 49: 126–131.
 77. Warris A. The European Paediatric Mycology Network (EPMYN): Towards a Better Understanding and Management of Fungal Infections in Children. *Curr Fungal Infect Rep* 2016; 10: 7–9.
 78. Giusiano GE, Mangiaterra M, Rojas F, Gómez V. Yeasts species distribution in Neonatal Intensive Care Units in northeast Argentina. *Mycoses* 2004; 47: 300–303.
 79. Hajjeh RA, Sofair AN, Harrison LH, Lyon GM, Arthington-Skaggs BA, Mirza SA, et al. Incidence of Bloodstream Infections Due to *Candida* Species and In Vitro Susceptibilities of Isolates Collected from 1998 to 2000 in a Population-Based Active Surveillance Program. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 1519–1527.
 80. Zepelin MB Von, Kunz L, Rüchel R, Reichard U, Weig M, Groß U. Epidemiology and antifungal susceptibilities of *Candida* spp. to six antifungal agents: Results from a surveillance study on fungaemia in Germany from July 2004 to August 2005. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60: 424–428.
 81. Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ, et al. Epidemiology and Outcomes of Candidemia in 2019 Patients: Data from the Prospective Antifungal Therapy Alliance Registry. *Clin Infect Dis* 2009; 48: 1695–1703.
 82. Cattana ME, Dudiuk C, Fernández M, Rojas F, Alegre L, Córdoba S, et al. Identification of *Candida parapsilosis* Sensu Lato in Pediatric Patients and Antifungal Susceptibility Testing. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61: e02754-16.
 83. Ruiz L da S, Khouri S, Hahn RC, Silva EG da, Oliveira VKP de, Gandra RF, et al. Candidemia by Species of the *Candida parapsilosis* Complex in Children's Hospital: Prevalence, Biofilm Production and Antifungal Susceptibility. *Mycopathologia* 2013; 175: 231–239.
 84. Milici ME, Maida CM, Spreghini E, Ravazzolo B, Oliveri S, Scalise G, et al. Comparison between disk diffusion and microdilution methods for determining susceptibility of clinical fungal isolates to caspofungin. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 3529–33.
 85. Trofa D, Gácsér A, Nosanchuk JD. *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen.

- Clin Microbiol Rev* 2008; 21: 606–625.
86. Singh N. Changing spectrum of invasive candidiasis and its therapeutic implications. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7: 1–7.
 87. Neu N, Malik M, Lunding A, Whittier S, Alba L, Kubin C, et al. Epidemiology of candidemia at a childrens hospital, 2002 to 2006. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28: 806–809.
 88. Colombo AL, Guimarães T, Silva LRBF, Monfardini LP de A, Cunha AKB, Rady P, et al. Prospective Observational Study of Candidemia in São Paulo, Brazil: Incidence Rate, Epidemiology, and Predictors of Mortality. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007; 28: 570–576.
 89. Asbeck EC Van, Clemons K V., Stevens DA. Candida parapsilosis: A review of its epidemiology, pathogenesis, clinical aspects, typing and antimicrobial susceptibility Candida parapsilosis: A review van Asbeck et al. *Crit Rev Microbiol* 2009; 35: 283–309.
 90. Huang YC, Lin T-Y, Leu HS, Peng HL, Wu J-H, Chang HY. Outbreak of *Candida parapsilosis* fungemia in neonatal intensive care units: Clinical implications and genotyping analysis. *Infection* 1999; 27: 97–102.
 91. Bonassoli LA, Bertoli M, Svidzinski TIE. High frequency of *Candida parapsilosis* on the hands of healthy hosts. *J Hosp Infect* 2005; 59: 159–162.
 92. Cassone A, Bernardis F De, Pontieri E, Carruba G, Girmenia C, Martino P, et al. Biotype diversity of *Candida parapsilosis* and its relationship to the clinical source and experimental pathogenicity. *J Infect Dis* 1995; 171: 967–975.
 93. Shin JH, Kee SJ, Shin MG, Kim SH, Shin DH, Lee SK, et al. Biofilm production by isolates of *Candida* species recovered from nonneutropenic patients: Comparison of bloodstream isolates with isolates from other sources. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1244–1248.
 94. Pemán J, Cantón E, Gobernado M. Epidemiology and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from blood: Results of a 2-year multicentre study in Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24: 23–30.
 95. Pfaller M, Neofytos D, Diekema D, Azie N, Meier-Kriesche HU, Quan SP, et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 3648 patients: Data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH Alliance®) registry, 2004–2008. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012; 74: 323–331.
 96. Sobel JD, Fisher JF, Kauffman CA, Newman CA. *Candida* Urinary Tract Infections—Epidemiology. *Clin Infect Dis* 2011; 52: S433–S436.
 97. Kauffman CA. Candiduria. *Clin Infect Dis* 2005; 41: S371–S376.
 98. Alvarez C. Candiduria en una UCI pediátrica. Agentes etiológicos, perfil de sensibilidad y capacidad de formación de biopelícula, Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Medicina, 2018; .
 99. Nucci M, Colombo AL. Candidemia due to *Candida tropicalis*: clinical, epidemiologic, and microbiologic characteristics of 188 episodes occurring in tertiary care hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 58: 77–82.
 100. Kontoyannis DP, Vaziri I, Hanna HA, Boktour M, Thornby J, Hachem R, et al. Risk Factors for *Candida tropicalis* Fungemia in Patients with Cancer. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 1676–1681.
 101. Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 685–702.
 102. Singhi SC, Reddy TCS, Chakrabarti A. Candidemia in a pediatric intensive care unit. *Pediatr Crit Care Med* 2004; 5: 369–74.
 103. Costa SF, Marinho I, Araújo EAP, Manrique AEI, Medeiros EAS, Levin AS. Nosocomial fungaemia: A 2-year prospective study. *J Hosp Infect* 2000; 45: 69–72.
 104. Fidel PL, Vazquez JA, Sobel JD. *Candida glabrata*: Review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 80–96.
 105. Odds F. Ecology and epidemiology of candidiasis, in: In *Candida and Candidosis*, 1988; : p. 89.
 106. Vazquez JA, Dembry LM, Sanchez V, Vazquez MA, Sobel JD, Dmuchowski C, et al. Nosocomial *Candida glabrata* colonization: An epidemiologic study. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 421–426.
 107. Sobel JD, Kauffman CA, McKinsey D, Zervos M, Vazquez JA, Karchmer AW, et al. Candiduria: A Randomized, Double-Blind Study of Treatment with Fluconazole and Placebo. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 19–24.

108. Mujica MT, Finquelievich JL, Jewtuchowicz V, Iovannitti CA. Prevalencia de *Candida albicans* y *Candida no albicans* en diferentes muestras clínicas. Período 1999-2001. *Rev Argent Microbiol* 2004; 36: 107–112.
109. Cornistein W, Mora A, Orellana N, Capparelli FJ, Castillo M del. *Candida*: epidemiología y factores de riesgo para especies no albicans. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2013; 31: 380–384.
110. Kauffman CA, Vazquez JA, Sobel JD, Gallis HA, McKinsey DS, Karchmer AW, et al. Prospective Multicenter Surveillance Study of Funguria in Hospitalized Patients. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 14–18.
111. Tortorano AM, Rigoni AL, Biraghi E, Prigitano A, Viviani MA. The European Confederation of Medical Mycology (ECMM) survey of candidaemia in Italy: Antifungal susceptibility patterns of 261 non-*albicans Candida* isolates from blood. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52: 679–682.
112. Hawkins JL, Baddour LM. *Candida lusitanae* Infections in the Era of Fluconazole Availability. *Clin Infect Dis* 2003; 36: e14–e18.
113. Tapia C. *Candida lusitanae*. *Rev Chil Infectol* 2010; 27: 153–154.
114. Hadfield TL, Smith MB, Winn RE, Rinaldi MG, Guerra C. Mycoses Caused by *Candida lusitanae*. *Clin Infect Dis* 1987; 9: 1006–1012.
115. Pfaller M., Messer S., Bolmström A. Evaluation of etest for determining in vitro susceptibility of yeast isolates to amphotericin B. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998; 32: 223–227.
116. Masala L, Luzzati R, Maccacaro L, Antozzi L, Concia E, Fontana R. Nosocomial Cluster of *Candida guilliermondii* Fungemia in Surgical Patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003; 22: 686–688.
117. Pfaller MA, Diekema DJ, Mendez M, Kibbler C, Erzsebet P, Chang S-C, et al. *Candida guilliermondii*, an opportunistic fungal pathogen with decreased susceptibility to fluconazole: geographic and temporal trends from the artemis disk antifungal surveillance program. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 3551–3556.
118. Medeiros EAS, Lott TJ, Colombo AL, Godoy P, Coutinho AP, Braga MS, et al. Evidence for a Pseudo-Outbreak of *Candida guilliermondii* Fungemia in a University Hospital in Brazil. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 942–947.
119. Yagupsky P, Dagan R, Chipman M, Goldschmied-Reouven A, Zmora E, Karplus M. Pseudooutbreak of *Candida guilliermondii* fungemia in a neonatal intensive care unit. *Pediatr Infect Dis* 1991; 10: 928–932.
120. Tietz HJ, Czaika V, Sterry W. Case report. Osteomyelitis caused by high resistant *Candida guilliermondii*. *Mycoses* 1999; 42: 577–580.
121. Iatta R, Cafarchia C, Cuna T, Montagna O, Laforgia N, Gentile O, et al. Bloodstream infections by *Malassezia* and *Candida* species in critical care patients. *Med Mycol* 2013; 52: 264–269.
122. Wingard JR, Saral R, Merz WG, Wingard JR, Johnson TR, Rinaldi MG, et al. Increase in *Candida krusei* infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treated prophylactically with fluconazole. *N Engl J Med* 1991; 325: 1274–1277.
123. Kanafani ZA, Perfect JR. Resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 120–128.
124. Lamping E, Ranchod A, Nakamura K, Tyndall JDA, Niimi K, Holmes AR, et al. Abc1p Is a Multidrug Efflux Transporter That Tips the Balance in Favor of Innate Azole Resistance in *Candida krusei*. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 354–369.
125. Pfaller MA, Diekema DJ, Colombo AL, Kibbler C, Ng KP, Gibbs DL, et al. *Candida rugosa*, an emerging fungal pathogen with resistance to azoles: Geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 3578–3582.
126. Dufresne SF, Marr KA, Sydnor E, Staab JF, Karp JE, Lu K, et al. Epidemiology of *Candida kefyr* in Patients with Hematologic Malignancies. *J Clin Microbiol* 2014; 52: 1830–1837.
127. Azie N, Neofytos D, Pfaller M, Meier-Kriesche HU, Quan SP, Horn D. The PATH (Prospective Antifungal Therapy) Alliance® registry and invasive fungal infections: Update 2012. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012; 73: 293–300.
128. Dalle F, Lafon I, L'Ollivier C, Ferrant E, Sicard P, Labruere C, et al. A prospective analysis of the genotypic diversity and dynamics of the *Candida albicans* colonizing flora in neutropenic patients with de novo acute leukemia. *Haematologica* 2008; 93: 581–587.
129. Wirth F, Goldani LZ. Epidemiology of *Rhodotorula*: An Emerging Pathogen. *Interdiscip Perspect*

Infect Dis 2012; 2012: 1–7.

130. Arendrup MC, Dzajic E, Jensen RH, Johansen HK, Kjældgaard P, Knudsen JD, et al. Epidemiological changes with potential implication for antifungal prescription recommendations for fungaemia: Data from a nationwide fungaemia surveillance programme. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19:.
131. Miceli MH, Díaz JA, Lee SA. Emerging opportunistic yeast infections. *Lancet Infect Dis* 2011; 11: 142–151.
132. Lunardi LW, Aquino VR, Zimmerman RA, Goldani LZ. Epidemiology and Outcome of *Rhodotorula* Fungemia in a Tertiary Care Hospital. *Clin Infect Dis* 2006; .
133. Forés R, Ramos A, Orden B, Laiglesia A de, Bautista G, Cabero M, et al. *Rhodotorula* species fungaemia causes low mortality in haematopoietic stem-cell transplantation. A case report and review. *Mycoses* 2012; 55: e158–e162.
134. García-Suárez J, Gómez-Herruz P, Cuadros JA, Burgaleta C. Epidemiology and outcome of *Rhodotorula* infection in haematological patients. *Mycoses* 2011; 54: 318–324.
135. Mori T, Nakamura Y, Kato J, Sugita K, Murata M, Kamei K, et al. Fungemia due to *Rhodotorula* mucilaginosa after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis* 2012; 14: 91–94.
136. Nettles RE, Nichols LS, Bell-McGuinn K, Pipeling MR, Scheel, Jr. PJ, Merz WG. Successful Treatment of *Trichosporon mucoides* Infection with Fluconazole in a Heart and Kidney Transplant Recipient. *Clin Infect Dis* 2003; 36: e63–e66.
137. Singhi S, Deep A. Invasive candidiasis in pediatric intensive care units. *Indian J Pediatr* 2009; 76: 1033–1044.
138. Tragiannidis A, Tsoulas C, Groll AH. Invasive candidiasis and candidaemia in neonates and children: Update on current guidelines. *Mycoses* 2015; 58: 10–21.
139. Mantadakis E, Pana ZD, Zaoutis T. Candidemia in children: Epidemiology, prevention and management. *Mycoses* 2018; 61: 614–622.
140. Rodero L, Davel G, Soria M, Vivot W, Córdoba S, Canteros C, et al. Estudio multicéntrico de fungemias por levaduras en la República Argentina. *Rev Argent Microbiol* 2005; 37: 189–195.
141. Almirante B, Rodriguez D, Cuenca-Estrella M, Almela M, Sanchez F, Ayats J, et al. Epidemiology, Risk Factors, and Prognosis of *Candida parapsilosis* Bloodstream Infections: Case-Control Population-Based Surveillance Study of Patients in Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 1681–1685.
142. Almirante B, Rodriguez D, Park BJ, Cuenca-Estrella M, Planes AM, Almela M, et al. Epidemiology and Predictors of Mortality in Cases of *Candida* Bloodstream Infection: Results from Population-Based Surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 1829–1835.
143. Neofytos D, Horn D, Anaissie E, Steinbach W, Olyaei A, Fishman J, et al. Epidemiology and Outcome of Invasive Fungal Infection in Adult Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients: Analysis of Multicenter Prospective Antifungal Therapy (PATH) Alliance Registry. *Clin Infect Dis* 2009; 48: 265–273.
144. Nguyen MH, Peacock JE, Morris AJ, Tanner DC, Nguyen ML, Snyderman DR, et al. The changing face of candidemia: Emergence of non-*Candida albicans* species and antifungal resistance. *Am J Med* 1996; 100: 617–623.
145. Pfaller MA, Jones RN, Doern G V., Sader HS, Messer SA, Houston A, et al. Bloodstream infections due to *Candida* species: SENTRY Antimicrobial Surveillance Program in north America and Latin America, 1997-1998. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 747–751.
146. Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, Sader HS, Fluit AC, Hollis RJ, et al. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: Frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial surv. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 3254–3259.
147. Bouza E, Liñares J, Pascual A. Diagnóstico microbiológico de las infecciones asociadas a catéteres intravasculares. *SEIMC* 2004; 15:.
148. García C. P, Payá G. E, Olivares C. R, Cotera F. A, Rodríguez T. J, Sanz R. M. Diagnóstico de las infecciones asociadas a catéteres vasculares centrales. *Rev Chil Infectología* 2003; 20:.
149. Álvarez-Lerma F, Nolla-Salas J, León C, Palomar M, Jordá R, Carrasco N, et al. Candiduria in critically ill patients admitted to intensive care medical units. *Intensive Care Med* 2003; 29: 1069–

1076.

150. Maldonado I, Arechavala A, Guelfand L, Relloso S, Garbasz C. Infecciones urinarias nosocomiales por levaduras. Estudio multicéntrico de 14 hospitales de la red de micología de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. *Rev Iberoam Micol* 2016; 33: 104–109.
151. Passos XS, Sales WS, Maciel PJ, Costa CR, Miranda KC, Lemos J de A, et al. *Candida* colonization in intensive care unit patients' urine. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005; 100: 925–928.
152. Heras-Cañas V, Ros L, Sorlózano A, Gutiérrez-Soto B, Navarro-Marí JM, Gutiérrez-Fernández J. Especies de levaduras aisladas en muestras de orina en un hospital regional de España. *Rev Argent Microbiol* 2015; 47: 331–334.
153. Robinson JL, Davies HD, Barton M, O'Brien K, Simpson K, Asztalos E, et al. Characteristics and outcome of infants with candiduria in neonatal intensive care - a Paediatric Investigators Collaborative Network on Infections in Canada (PICNIC) study. *BMC Infect Dis* 2009; 9: 183.
154. Silva EH Da, Ruiz LDS, Matsumoto FE, Auler ME, Giudice MC, Moreira D, et al. Candiduria in a public hospital of São Paulo (1999-2004): Characteristics of the yeast isolates. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2007; .
155. Saiman L, Ludington E, Pfaller M, Rangel-Frausto S, Wiblin RT, Dawson J, et al. Risk factors for candidemia in neonatal intensive care unit patients. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19: 319–324.
156. Arsenault AB, Bliss JM. Neonatal Candidiasis: New Insights into an Old Problem at a Unique Host-Pathogen Interface. *Curr Fungal Infect Rep* 2015; 9: 246–252.
157. Pfaller MA. Epidemiology and control of fungal infections. *Clin Infect Dis* 1994; 19: S8–S13.
158. Mora-Duarte J, Betts R, Rotstein C, Lopes Colombo A, Thompson-Moya L, Smietana J, et al. Comparison of caspofungin and amphotericin B for invasive candidiasis. *N Engl J Med* 2002; 347: 2020–2029.
159. Park BJ, Arthington-Skaggs BA, Hajjeh RA, Iqbal N, Ciblak MA, Lee-Yang W, et al. Evaluation of amphotericin B interpretive breakpoints for *Candida* bloodstream isolates by correlation with therapeutic outcome. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 1287–1292.
160. Rex JH, Pfaller MA, Barry AL, Nelson PW, Webb CD. Antifungal susceptibility testing of isolates from a randomized, multicenter trial of fluconazole versus amphotericin B as treatment of nonneutropenic patients with candidemia. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 40–44.

ANEXO

MEDIOS DE CULTIVO

Agar urea de Christensen

Peptona 1 g

Cloruro de sodio 5 g

Glucosa 5 g

Fosfato diácido de potasio 2 g

Urea 20 g

Rojo de fenol 12 mg*

Agua destilada 100 ml

Disolver todos los componentes en los 100 ml de agua destilada y esterilizar por filtración.

Disolver 20 gramos de agar en 900 ml de agua destilada y esterilizar a 121°C 15 minutos. Enfriar a 55-60°C el agar y agregarle la primera solución. Mezclar y distribuir estérilmente a razón de 3 ml por tubo de 13 x 100 mm con tapa a rosca.

*Se puede preparar 1:500 de Rojo de Fenol y agregar 6 ml (disolver el colorante en alcohol 50%)

Agar semillas de girasol

Este medio es equivalente al de ácido caféico o al de semillas de Niger (Staib).

Glucosa 10 g

Creatinina 780 mg

Cloranfenicol 50 mg

Difenilo 100 mg

Extracto de semillas de girasol* 200 ml

Agar 20 g

Agua destilada 1000 ml

Glucosa 10 g

Creatinina 780 mg

Cloranfenicol 50 mg

Difenilo 100 mg

Extracto de semillas de girasol* 200 ml

Agar 20 g

AD c.s.p. 1000 ml

Disolver el agar en 800 ml de agua destilada a BM, una vez fundido agregar el resto de los componentes y homogeneizar. Autoclavar a 121 °C 15 minutos y distribuir en placas de Petri a razón de 20 ml.

Extracto de semillas de girasol: Pulverizar 140 gramos de semillas de girasol en mortero y agregar 350 ml de AD, autoclavar 10 minutos a 121 °C y filtrar a través de gasas.

Agar Leche:

Tween 80 1:1 = 1ml

Agar 2%= 20gr

Agua destilada 100ml

Esterilizar a 1 atm, enfriar a 50°C y agregar la leche entera estéril.

100 ul de leche en 10 ml del medio.

Medio Saboureaud Glucosado

Glucosa o destroza 20gr

Peptona de Carne 10 gr

Agar-Agar 20gr

Agua destilada 1 litro

Con antibiótico