



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Facultad de Medicina



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD  
HOSPITAL DE PEDIATRÍA  
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

**COLONIZACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE ESPECIES POR  
*CANDIDA SPP* EN PACIENTES, MANOS DEL PERSONAL DE  
SALUD Y DISPOSITIVOS MEDICOS EN UNA UNIDAD DE  
CUIDADOS INTENSIVOS NEONATALES.**

Tesis para obtener el título de:

**Infectólogo Pediatra**

Presenta

**Dr. Amilcar Caballero Trejo**

**Tutor: Dra. María Guadalupe Miranda Novales.**

Cotutores: Dr. Humberto Díaz Ponce.  
Dra. Gloria M. González Glez.



FEBRERO 2009



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**Colaboradores:**

Dr. Raúl Villegas Silva.  
Jefe de la División de Pediatría Médica

Dra. Daniella Jurado López.  
Residente de Neonatología.

QBP. César Jiménez Galicia.  
Laboratorio Clínico. Sección de Microbiología.  
UMAE, Hospital de Pediatría, CMN Siglo XXI.

Pasante QBP. Dzoara Cortés Palma.  
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas.

**JURADO**



---

**Dr. Fortino Solórzano Santos**  
Presidente



---

**Dra. Carolina Sepúlveda Vildósola**  
Secretario



---

**Dra. Gloria Huerta García.**  
Sinodal



---

**Dr. Guillermo Vázquez Rosales.**  
Sinodal



---

**Dr. Eric Moisés Flores Ruiz.**  
Sinodal

## INDICE.

ÍNDICE.....	4
RESÚMEN.....	5
ABSTRACT .....	6
ANTECEDENTES .....	7
JUSTIFICACIÓN.....	10
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	11
OBJETIVOS .....	12
MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
DEFINICIÓN OPERACIONAL DE LAS VARIABLES .....	14
DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO .....	15
RESULTADOS .....	18
DISCUSIÓN.....	21
CONCLUSIONES .....	25
CUADRO 1 .....	26
CUADRO 2 .....	27
CUADRO 3 .....	28
GRÁFICO 1 .....	29
GRÁFICO 2 .....	30
GRÁFICO 3 .....	31
GRAFICO 4.....	32
ANEXO 1 .....	33
REFERENCIAS .....	35

## RESUMEN:

Las infecciones por *Candida spp* han incrementado en las últimas décadas, principalmente por especies *no-albicans*. La colonización es un factor de riesgo para el desarrollo de infección sistémica. **Objetivo:** Establecer la frecuencia de colonización por especies de *Candida* en pacientes que ingresan a la UCIN, personal de salud y dispositivos médicos de la UMAE Hospital de Pediatría. **Métodos:** Estudio de cohorte prospectiva. Se tomaron cultivos de pliegues de cuello, axilas, ingles, boca y recto mediante técnica de hisopo húmedo, a todos los pacientes a su ingreso a UCIN y cada 7 días mientras permanecieran hospitalizados. Del ambiente se cultivaron cunas térmicas, estetoscopios, termómetros y cintas métricas utilizadas en los pacientes. Se tomaron cultivos de las manos del personal de salud mediante técnica de bolsa con 20 ml de caldo infusión cerebro corazón (BHI). Para la recuperación de levaduras de los pacientes y superficies se utilizó caldo BHI suplementado con Vancomicina 5mg/dl y Gentamicina 5mg/dl incubado 10 días y gelosa sabouraud suplementada con antibiótico. Para la identificación de especie se utilizó la prueba de tubo germinativo y la utilización de carbohidratos API ID32C (BioMérieux, Marcy l'Etoile Francia). **Análisis estadístico:** Descriptivo con frecuencias simples y porcentajes **Resultados:** Se incluyeron 98 pacientes, se documentó colonización por especies de *Candida* en 39.8% de los pacientes, 24.5% colonizados al momento del ingreso, 5.1% durante la 1ª semana, 3.06% durante la segunda, y 7.1% posteriormente. La mitad de los pacientes que permanecieron al menos 2 semanas hospitalizados estaban colonizados en al menos un sitio y aumentó progresivamente hasta llegar al 100% a la sexta semana. Grado de colonización: un solo sitio en 58.9%, 17.9% en dos sitios y 23.07% más de dos sitios. Los sitios con mayor frecuencia de cultivos positivos fueron recto 58.9% y axilas 51.3%. *Candida parapsilosis* n=25 (64%) fue la especie más comúnmente aislada, seguida por *albicans* en 11(28.2%), *Candida lusitanae* 4 (10.2%) y otras en 2 (5.1%). Ningún paciente desarrollo infección micótica sistémica. Se tomaron 89 cultivos de manos, encontrando colonización por *Candida spp* en 49 (55%); en residentes, enfermeras y médicos adscritos en proporción similar. Solo 3 fueron *Candida albicans*, de los cuales 2 también tenían *Candida no-albicans*. Se encontró colonización en 5 barandales de cuna, 7 cintas métricas y 1 estetoscopio (todas *no-albicans*). **Conclusiones:** la tercera parte de los pacientes en UCIN ingresan colonizados o se colonizan por especies de *Candida* durante su estancia. El porcentaje de colonización en manos del personal de salud es del 55%, por lo que es necesario enfatizar el apego al lavado de manos. Existe un predominio de *Candida parapsilosis* en los pacientes y personal de salud.

## ABSTRACT.

*Candida spp.* are increasingly important hospital-acquired pathogens in neonatal intensive care unit (NICU). Colonization of the newborn is the first step in the pathogenesis of invasive candidiasis. **Objectives:** The purpose of this study was to assess the frequency of fungal colonization in patients, health-care workers and hospital environment in a tertiary-care NICU in Mexico City. **Methods:** Prospective cohort study. Oral, rectal and skin (neck, axillae and groin) samples were obtained by using cotton-tipped swabs that had been pre-moistened with sterile normal saline solution by sterile technique and placed in brain heart infusion (BHI) culture broth supplemented with vancomycin 5mg/dl and gentamicin 5mg/dl tubes. Environment samples were obtained from stethoscopes, thermometers, metric tapes and railings of thermal cribs using the same technique. All cultures were taken at admission and every week until colonization was documented or until discharge of the patient. Samples of health-care workers hands were obtained by bag wash cultures using 20 ml of antibiotic supplemented BHI broth. All samples were incubated for 10 days or until turbidity of the broth was observed and then 125 µl of the sample was inoculated in Sabouraud dextrose agar with vancomycin 5mg/dl and gentamicin 5mg/dl and incubated at 37°C for 72 h. Fungal isolates were identified to the species level by their ability for germ tube formation and API 32 C (BioMérieux, Marcy l’Etoile France). **Statistical analysis:** Descriptive with simple frequencies and percentages. **Results:** 98 patients were included. Colonization was documented in 39.8%. Acquisition of yeast occurred in 24.5% at admission, 5.1% at 1<sup>st</sup> week, 3.06% at 2<sup>nd</sup> week and 7.1% thereafter. Half of patients were colonized if they were in UCIN at 2<sup>nd</sup> week and increase progressively until 100% by 6<sup>th</sup> week. Site of colonization: colonization of one site was seen in 58.9%, two sites 17.9% and three or more in 23.07%. Colonization was maximum in the rectum (58.9%) followed by axillae (51.3%). *Candida parapsilosis* 25(64%) was the most common species isolated followed by *C. albicans* 11(28.2%), *C. lusitaniae* 4(10.2%) and other species in 2 (5.1%). None patient presented systemic candidiasis during the study period. From 89 hand cultures of health-care workers we found 49(55%) of *Candida spp* colonization. 3 had *Candida albicans* colonization, and two were also colonized by a non-*albicans* species. Environmental positive samples with non-*albicans* species were: 5 railings of thermal cribs, 7 metric tapes and 1 stethoscope. **Conclusion:** one third of NICU patients are or get colonized by *Candida spp* during their hospital stay. High (55%) percentage of hand colonization among health-care workers remarks the necessity to emphasize the adherence to hand-washing hygiene. There was a clear predominance of *Candida parapsilosis* in all the samples obtained in the study.

## ANTECEDENTES.

Las infecciones por levaduras del género *Candida* han incrementado en las últimas décadas. Uno de los grupos más afectados son los recién nacidos prematuros que permanecen hospitalizados por tiempo prolongado en las unidades de cuidado intensivo neonatal (UCIN). Se considera que la infección por *Candida* es la principal causa de sepsis tardía que se asocia a una mayor morbilidad y letalidad. La frecuencia registrada de infecciones micóticas invasivas es de 1.6–9% en recién nacidos de muy bajo peso y de 10 -16% en recién nacidos de peso extremadamente bajo, con una letalidad de 30–75%, a pesar de un tratamiento adecuado, pero mayor al 80% cuando el diagnóstico no se realiza oportunamente.<sup>1-2</sup> Debido a la dificultad para el diagnóstico mediante métodos microbiológicos, y la baja sensibilidad del hemocultivo la incidencia de estas infecciones no se reporta en todas las UCIN de nuestro medio.

En las últimas 2 décadas destaca la transición de especies de *Candida* como causantes de infecciones invasivas. Hasta la década de los 80's *Candida albicans* predominaba en más del 90% de los casos. Sin embargo, a partir de la década de los 90's aparecen los reportes que señalan un cambio a favor de las especies diferentes a *C. albicans*.<sup>3-5</sup> En el hospital, se tiene registrado que durante 1998, el 66% de las especies aisladas en pacientes con candidemia correspondían a *Candida albicans*, y para 2003, la frecuencia era similar para especies no-*albicans* y *albicans* (51% vs 49%).<sup>7</sup> Este cambio se ha atribuido principalmente al uso cada vez más frecuente de terapia empírica y la utilización de profilaxis antimicótica en pacientes de riesgo.<sup>8-10</sup>

Además de los factores de riesgo que predisponen al desarrollo de enfermedad micótica invasiva (prematurez, bajo peso al nacer, estancia hospitalaria prolongada, uso de esteroides, antimicrobianos, nutrición parenteral total, intubación endotraqueal), la colonización se ha destacado como uno de los eventos más importantes y una condición previa necesaria para la presencia de infección. En un estudio reciente, Farmaki y cols. encontraron que el riesgo para presentar candidemia en neonatos colonizados fue de 4.4 veces más en



comparación con los no colonizados, y esta diferencia resultó estadísticamente significativa (IC95% 2.59-9.06,  $p=0.002$ ).<sup>11</sup>

El neonato adquiere las levaduras desde su nacimiento. Inicialmente de la microbiota vaginal, ya que, en estudios genéticos se ha documentado que los pacientes que están colonizados hasta un 40% tienen una cepa genéticamente idéntica a la de su madre (en el caso de *Candida albicans*)<sup>12-13</sup> y posteriormente la van adquiriendo en las salas de hospitalización, en donde múltiples factores intervienen. Los sitios de mayor colonización en general son tubo digestivo y piel, principalmente axilas, ingle, y cicatriz umbilical. Gracias a los métodos de biología molecular ha sido posible demostrar que la misma clona identificada inicialmente en un sitio no estéril es la que da origen a la infección sistémica, y en otros casos ha permitido establecer la diseminación a través del personal de salud de especies que habitualmente no se identifican en los recién nacidos.<sup>14-17</sup> Algunos autores no han podido demostrar colonización en el personal de salud, o el ambiente hospitalario a pesar de frecuencias elevadas de cultivos positivos de los pacientes en unidades de cuidado intensivo (más del 70%).<sup>18</sup>

La información publicada de aislamientos de levaduras en México es escasa. En un estudio retrospectivo en el Instituto Nacional de Perinatología en el periodo del 2002 al 2006 se analizaron los registros microbiológicos en infecciones micóticas invasivas en neonatos, encontrando predominio de *Candida albicans* en un 40%, seguida de *Candida parapsilosis* en 22%, en conjunto las especies *no-albicans* correspondieron a un 60%.<sup>19</sup> En el reporte SENTRY 2003,<sup>10</sup> se incluyeron 336 cepas de varios países de América Latina, de las cuales 36.5% correspondieron a *C.albicans*, seguido de *C. parapsilopsis* (26.4%). Durante el periodo de estudio de dos años.

El predominio de especies denominadas como *no-albicans* alerta la necesidad de tener información epidemiológica local, sobre todo en pacientes que requieren de atención en unidades de alta especialidad, con mayor susceptibilidad para el desarrollo de infecciones micóticas invasivas. En estas unidades, el número de pacientes en riesgo ha ido en aumento.<sup>20</sup> Si bien la anfotericina B continúa siendo el antimicótico de primera elección en infecciones sistémicas por *Candida* en la mayoría de los casos, otras opciones

terapéuticas más seguras podrían ser evaluadas. La experiencia en recién nacidos con los nuevos antimicóticos (equinocandinas, voriconazol, posaconazol, ravuconazol) es muy limitada, y para algunos de ellos aún no existen recomendaciones establecidas. La terapia empírica inicial puede ser inadecuada para un paciente que tiene una infección por una especie con susceptibilidad disminuida a los antifúngicos convencionales, incrementando el riesgo de complicaciones, prolongando la estancia hospitalaria e incrementando los costos en la atención integral del paciente.

De acuerdo a los estudios publicados,<sup>2,11,15,16,18</sup> se ha podido establecer que la colonización por *Candida spp* se presenta en más del 50-70% de los recién nacidos en UCIN e incrementa hasta 90% en aquellos que permanecen hospitalizados más de 3 semanas. *Candida no-albicans* se encuentra en 40-50%. La colonización es mayor en pacientes pretérmino y de menor peso. Los sitios más frecuentemente colonizados son tracto gastrointestinal y piel (zonas húmedas como axilas, cuello, ingles).<sup>21</sup> En un estudio realizado por Manzonii y cols en el que evaluaron los distintos patrones de colonización por *Candida spp*, y la progresión a infección fúngica invasiva, se encontró que a mayor número de sitios anatómicos de colonización, el riesgo calculado para candidiasis sistémica incrementaba cuando se documentaba en más de dos sitios.<sup>22</sup>

Ya que la colonización es la condición previa para la infección de mayor peso en estas unidades, y que se ha demostrado que la transmisión horizontal también influye en la diseminación de las especies de *Candida no-albicans* es necesario conocer la distribución por especies más frecuentes que colonizan a los pacientes y si se recuperan del ambiente hospitalario y del personal de salud.

## **JUSTIFICACIÓN.**

Más de la mitad de los pacientes que son referidos a la UCIN del Hospital de Pediatría tienen estancias hospitalarias superiores a 7 días. En la unidad, el riesgo para adquirir una infección nosocomial es elevado (DI de 25-35 casos x 1000 días/pac). Una tercera parte de estos pacientes tienen factores de riesgo para el desarrollo de una infección micótica invasiva y hasta el momento desconocemos la frecuencia de colonización por levaduras del género *Candida spp.* Al conocer las especies y la densidad de colonización se puede anticipar el riesgo de cada paciente, de acuerdo a los factores que presente. Es importante también establecer la diseminación horizontal de estas especies. Estos resultados podrán fundamentar el futuro estrategias encaminadas al uso profiláctico y terapéutico de antimicóticos.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

Durante los últimos años, se ha registrado un cambio significativo en las proporciones de especies de *Candida* diferente a *albicans* en los aislamientos de pacientes hospitalizados, posiblemente esto se encuentra relacionado a un mayor uso de tratamientos antimicóticos en pacientes con factores de riesgo así como con un cambio probable en los patrones de colonización de estos a su ingreso y durante su estancia en las unidades de cuidados intensivos neonatales.

La colonización previa, el número de sitios anatómicos involucrados y las especies involucradas son un factor de riesgo para el desarrollo de infecciones micóticas invasivas que hasta el momento no ha sido estudiado en las unidades de cuidados intensivos de nuestro país.

### **Por lo tanto se plantean las siguientes preguntas de investigación:**

1. ¿Cuál es la frecuencia de colonización y la distribución por especies de *Candida* en recién nacidos que ingresan a la UCIN de la UMAE Hospital de Pediatría?
2. ¿Cuál es la frecuencia de colonización y la distribución por especies de *Candida* en las manos del personal de salud y dispositivos médicos en contacto frecuente con los pacientes de la UCIN de la UMAE Hospital de Pediatría?

## **OBJETIVOS.**

1. Establecer la frecuencia de colonización y la distribución por especies de *Candida* en recién nacidos que ingresan a la UCIN de la UMAE Hospital de Pediatría.
2. Establecer la frecuencia de colonización y la distribución por especies de *Candida* en las manos del personal de salud y dispositivos médicos en contacto frecuente con los pacientes de la UCIN de la UMAE Hospital de Pediatría.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

**Diseño del estudio:** Cohorte prospectiva.

**Lugar donde se realizó el estudio:**

UCIN de la UMAE, Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional, Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social. El estudio fue aprobado por el Comité Local de Investigación y registrado con el número R-2007-3603-36.

**Universo de trabajo:**

Recién nacidos que ingresaron a la UCIN, personal de salud ubicado en el área de UCIN y dispositivos médicos que se encuentran en contacto frecuente con los pacientes (estetoscopios, termómetros, cintas métricas y barandales de cunas térmicas).

**Criterios de inclusión:**

- Pacientes que ingresen a la UCIN.
- Personal de salud (enfermeras, médicos de base, médicos residentes, y personal de laboratorio, radiología e inhaloterapia que se encontraron en la unidad al momento de la toma de muestras y que tuvieran contacto con los pacientes).

**Criterios de exclusión:**

- Pacientes en los cuáles los padres o tutores negaron su consentimiento para participar en el estudio.
- Personal de salud que no dio su consentimiento para la toma de muestras (cultivo de manos).

**Criterios de eliminación:**

- Pacientes en los que por su condición clínica, egreso inmediato de la UCIN o defunción no sea posible la toma de cultivos en al menos una ocasión.

## DEFINICIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición operativa	Clasificación
Edad gestacional	Tiempo transcurrido desde la concepción hasta el nacimiento	Cuantitativa continua Unidad de medición: semanas
Vía de nacimiento	Vía mediante la cual se obtiene el producto de la concepción.	Nominal dicotómica Categoría: vaginal/ abdominal
Estancia hospitalaria	Tiempo transcurrido desde el ingreso del paciente hasta el momento actual.	Cuantitativa discreta Unidad de medición: Días
Uso previo de antimicrobianos de amplio espectro	Administración de antimicrobianos de uso sistémico, con espectro que incluye gram-negativos y gram positivos	Nominal dicotómica Categoría: si/ no.
Uso previo de antimicótico	Administración de antimicrobiano con espectro contra levaduras, local o sistémico	Cualitativa nominal. Categorías: nistatina, miconazol, fluconazol, anfotericina B.
Personal de salud	Trabajador que se encuentre realizando sus actividades dentro del área de UCIN, asignado por un periodo mínimo de un mes.	Cualitativa nominal. Categorías: enfermeras, médicos, personal técnico (laboratorio, rayos X e inhaloterapia), personal de servicios básicos.
Dispositivos médicos clase I (de acuerdo a COFEPRIS)	Aquellos insumos utilizados en la práctica médica y que generalmente no se introducen en el organismo.	Cualitativa nominal. Categorías: termómetros, estetoscopios, cintas métricas, barandales de la cuna,
<i>Candida no- albicans</i>	Levadura del género <i>Candida</i> que se diferencia de <i>albicans</i> por su incapacidad para formar tubo germinativo cuando se incuba en medio líquido (suero).	Cualitativa nominal. Categorías: <i>C.tropicalis</i> , <i>C. parapsilopsis</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C.glabrata</i> , <i>C.guillermundii</i> , <i>C.famata</i> , <i>C. rugosa</i> , <i>C.lusitaniae</i> ,
Colonización por especies de <i>Candida</i>	Aislamiento mediante cultivo de <i>Candida spp</i> obtenida de un sitio habitualmente no estéril, y que no se encuentra causando enfermedad en el neonato.	Nominal dicotómica Categorías: Colonizado, no colonizado.
Colonización de las manos del personal de salud por especies de <i>Candida</i> .	Aislamiento mediante cultivo de una levadura que se identifique como <i>Candida spp</i> obtenida de cultivo de manos mediante técnica de bolsa con 20 ml de caldo BHI suplementada con antibióticos.	Nominal dicotómica Categorías: colonizado/no colonizado
Colonización de objetos inanimados de uso frecuente por especies de <i>Candida</i> .	Aislamiento mediante cultivo de una levadura que se identifique como <i>Candida</i> obtenida de dispositivos médicos clase I ( estetoscopio, termómetro, cintas métricas y barandales de cunas térmicas).	Nominal dicotómica Categorías: Colonizado/ No colonizado.

## **TAMAÑO DE MUESTRA.**

Por ser un estudio descriptivo, no se realizó cálculo de tamaño de muestra. La principal finalidad fue obtener al menos 50 cepas de *Candida* spp. de los pacientes, tomando en cuenta el número de pacientes que ingresan por mes (30) y un porcentaje mínimo de colonización de un 40%. De acuerdo a resultados de estudios previos, se esperaba coleccionar al menos 30 cepas del personal de salud y dispositivos médicos clase I (termómetros, estetoscopios, cintas métricas y barandales de cunas térmicas).

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**

Se utilizó estadística descriptiva (frecuencias simples y porcentajes).

## **DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO**

A su ingreso al estudio, el tesista solicitó el consentimiento verbal de los padres o tutores, al ser afirmativo se le tomaron al paciente cultivos de piel (pliegues de cuello, ingles y axilas) cultivo de mucosa oral y recto mediante un hisopo húmedo estéril el cual se inoculó en un tubo que contenía 3 ml de caldo infusión cerebro corazón (BHI) suplementado con vancomicina (5 mg/dl) y gentamicina (5mg/dl). En el laboratorio se agitó por 5 segundos (Vortex) y posteriormente se retiró el hisopo. El tubo se incubó a 37 C° por 10 días y se revisó cada 24 h en busca de turbidez.

Los cultivos se repitieron cada semana mientras el paciente permaneció internado en la sala o hasta que se documentó colonización de al menos un sitio. Si el paciente tenía un cultivo positivo desde la primera toma se consideró colonizado y no se tomaron los subsiguientes cultivos. Todos los pacientes fueron evaluados diariamente hasta su egreso.

Se tomaron cultivos de los barandales de la cuna térmica y de los dispositivos médicos clase I (barandales de cunas térmicas, termómetro, estetoscopio y cinta métrica) al momento del ingreso del paciente y cada 7 días mientras permaneció internado en la unidad o se documentó colonización en al menos un sitio. Al igual que los cultivos de los pacientes El hisopo se introdujo dentro



del tubo con BHI suplementado con antibiótico y se transportó al laboratorio donde se agitó por 5 segundos (Vortex) y posteriormente se retiró el hisopo. El tubo se incubó por 10 días a 37 C° y se revisó cada 24 h en busca de turbidez.

Los cultivos de las manos del personal, se tomaron mediante técnica de bolsa la cuál consistió en una bolsa de plástico estéril que contenía 20 mL de caldo de infusión cerebro-corazón (BHI) suplementado con vancomicina 5mg/dl y gentamicina 5mg/dl en la cual la persona introdujo y agitó su mano dominante por un periodo de 15 segundos. Este caldo fue posteriormente vertido en un tubo estéril e incubado por 10 días a 37°C y revisado cada 24 h en busca de turbidez. Los cultivos se realizaron en varias ocasiones y al azar incluyendo al personal de los 3 turnos.

Todas las muestras tomadas se procesaron en los siguientes 30 minutos. En caso de que el tubo se observara turbio se inoculó una cantidad de 125 µl en placas de gelosa sabouraud dextrosa con antimicrobiano (vancomicina 5mg/dL y gentamicina 5mg/dL). Si no hubo turbidez, o sospecha de crecimiento, se sembró a los 7 días de incubación, si no había desarrollo en la placa de gelosa, el tubo se descartó a los 10 días. A todas las colonias que se observaron en las placas se les hizo tinción de gram y las que correspondieron a levaduras, se les realizó prueba fisiológica de formación de tubo germinativo. Las que fueron negativas, se identificaron mediante patrón de utilización de carbohidratos ID 32C de BioMerioux ( Marcy l'Etoile, France). Todas las cepas se conservaron en BHI y glicerol al 20% a -20°C para realizar posteriormente los ensayos de susceptibilidad a antimicóticos. Se anotaron todos los datos demográficos al ingreso de los pacientes así como su evolución, procedimientos y resultados de los cultivos realizados en la hoja de recolección correspondiente para su análisis posterior. (Anexo 1)

## **ASPECTOS ÉTICOS.**

El estudio fue aprobado por el Comité Local de Investigación y Ética. La toma de cultivos de piel y materia fecal no representa un riesgo para los pacientes y por sus características, de acuerdo a la Ley General de Salud, se clasifican como parte de los procedimientos incluidos en la categoría de riesgo mínimo, por lo cual se le solicitó el consentimiento verbal a los padres de los pacientes antes de la toma de los cultivos.

Al personal de salud se le hizo una invitación explicando los objetivos del estudio, y sobre todo, destacando la importancia del ambiente hospitalario en la transmisión de infecciones nosocomiales. Se reforzó que la participación era voluntaria y solamente se registraron con un número de folio. Los resultados se mantendrán en forma confidencial y no se identificará al personal en las presentaciones del trabajo ni las publicaciones.

## RESULTADOS.

El estudio se efectuó de julio de 2008 a febrero del 2009. La toma de muestras a pacientes se realizó durante cuatro meses. Se reclutaron 102 pacientes de los cuales 3 se eliminaron (2 egresaron antes de la toma de los cultivos iniciales, uno falleció a las pocas horas de su ingreso) y uno se excluyó ya que los padres no aceptaron participar en el estudio analizando un total de 98 pacientes. La mediana de edad al ingreso fue de 9 días (rango 0 a 63 días), con una estancia hospitalaria de 10 días (rango 1-90 días), la mediana del peso al nacimiento fue de 2250g, con una edad gestacional de 35 semanas (media 33.5). (Cuadro 1).

De los 98 pacientes con cultivos en las primeras 24h de ingreso, se cultivaron 52 (53%) a los 7 días, 22 (22.4%) a los 14 días, 9 (9.1%) a los 21 días, 3 (3%) a los 28 días y solo uno 1 (1%) a los 35 días.

Se documentó colonización por especies de *Candida* en 39 (39.8%) de los 98 pacientes, de ellos, 24 (24.5%) estaban colonizados al momento de su ingreso; De estos 24 pacientes 11 (45.3%) provenían del Hospital HGO No 4, cuatro (16.6%) del HGZ 1A Venados, dos (8.3%) del HGZ Acapulco y ocho (33.3%) de otras unidades. (cuadro 2) La especie predominante fue *Candida parapsilosis* en 15 (62.5%).

De los 74 pacientes en quienes no se demostró colonización a su ingreso se documentó en 15 (20.2%) durante su internamiento de los cuales cinco (6.75%) se colonizaron durante la primera semana, tres (4%) en la segunda, seis (8.1%) en la tercera y cuatro (5.4%) en la cuarta semana de internamiento.

En la segunda semana de internamiento en la mitad de los pacientes que permanecían en la sala se había documentado colonización en al menos un sitio, incrementando progresivamente hasta el 100% posterior a la quinta semana (Gráfico 1).

Sitio de Colonización.

De los 39 pacientes en quienes se documentó colonización El sitio de mayor recuperación de levaduras en general fue el recto en 58.9%, seguido por axilas 51.3%, ingles 30.7%, y por ultimo mucosa oral 10%. (cuadro 3).

*Candida parapsilosis* fue la especie más comúnmente aislada correspondiendo a 25 pacientes (64%), seguida por *Candida albicans* en 11 (28.2%), *Candida lusitanae* 4 (10.2%) y otras en 2 (5.1%). (Gráfica 2).

De los 24 pacientes colonizados por levaduras a su ingreso el 50% tuvieron solo un sitio anatómico, 25% dos sitios y el 25% más de dos sitios anatómicos.

En los 15 pacientes que se colonizaron durante su estancia en la UCIN se documentó en un solo sitio anatómico en 11(73%), en uno (6.7%) dos sitios y en 3 (20%) más de dos sitios.

Colonización de dispositivos médicos de uso frecuente.

Se tomaron un total de 738 cultivos de dispositivos médicos. Al momento del ingreso de cada paciente, se tomaron cultivos de cunas térmicas, cintas métricas, termómetros y estetoscopio del paciente, lo cual se repitió cada vez que se cultivo al paciente.

En total se tomaron 182 de los barandales de las cunas térmicas, 182 de cintas métricas, 182 de termómetros 182 de los estetoscopios asignados a los pacientes, se tomaron adicionalmente 10 cultivos de los estetoscopios de los residentes o médicos adscritos al servicio de la unidad (en diferentes ocasiones y al azar). De los barandales 5 (3.9%) fueron positivos (4 con *Candida parapsilosis*, en dos casos, se recuperó la misma especie de levadura en el paciente [1.5%] y 1 con *Candida famata*).

De las cintas métricas 7 (5.4%) fueron positivas, 5 (3.9%) para *Candida parapsilosis*, 1 (0.78%) para *Candida albicans* y 1 (0.78%) para *Candida famata*. En 4 casos de colonización por *Candida parapsilosis* y uno de *Candida albicans* la especie coincidió con la del paciente.

Solo un estetoscopio resultó positivo para *Candida parapsilosis* coincidiendo con la especie documentada en el paciente. No se documentó colonización en los estetoscopios de los médicos. No se documentó colonización en los termómetros en ningún momento (Gráfico 3).

Colonización de las manos del personal.

Se tomaron 89 cultivos de las manos del personal los cuales fueron 23 de residentes, 54 de enfermeras, 11 de médicos adscritos y 1 de personal técnico. Se encontró colonización por *Candida spp* en 49 (55%) de las manos del personal de los cuales correspondieron a 10 (43%) de los residentes, 34 (62%) de las enfermeras, 4 (36%) de los médicos adscritos y uno del personal técnico.

De los 10 residentes colonizados, 4 fueron de segundo año, uno de tercero, uno de cuarto, 2 de quinto y 2 de sexto.

La especie más frecuentemente aislada de las manos del personal fue *Candida parapsilosis* en un 62.9%, seguida por *Candida albicans* en 11.1%, *Candida tropicalis* 7.4%, *Candida famata* 7.4%, y *Rhodotorula spp* 3.7%, *Candida guilliermondii* 3.7% y *Candida lusitaniae* 3.7%. 2 personas colonizadas por *Candida albicans* también se encontraban colonizadas por *Candida no-albicans* (Gráfico 4).

## DISCUSIÓN.

La candidiasis diseminada es una causa importante de morbimortalidad en los recién nacidos, la colonización es un factor inicial plenamente reconocido en el desarrollo de la enfermedad. Esta colonización puede ser vertical (a través del canal del parto) u horizontal (por medio de los objetos utilizados en la atención del paciente y las manos del personal de salud)<sup>12-14</sup>.

En este estudio encontramos que un 24.5% de los pacientes ya estaban colonizados al momento de su ingreso. En mayor proporción son los que se refieren del HGO 4, sin embargo, esto se debe al número de pacientes que se reciben de esa unidad, ya que en conjunto, el resto de los hospitales contribuyen con el 55% de los colonizados. En lo que respecta a los pacientes que se colonizaron en la UCIN del hospital, durante las primeras semanas se van agregando un número similar (5, 3 y 6 respectivamente), pero el número de estos pacientes que permanecen hospitalizados es sustancialmente menor. Para el final de la cuarta semana se suma un paciente más, que nos da el total de los 15 que se colonizaron durante su estancia. Así el total de pacientes que permanecen hospitalizados más de un mes (cinco a seis semanas) se podría considerar que siguen colonizados, sin embargo, ya que el paciente no vuelve a cultivarse una vez demostrada la colonización, esta aseveración es un supuesto. Llama la atención que los pacientes que estuvieron colonizados, tanto a su ingreso, o posteriormente, tienen peso menor y menor edad gestacional. No se realizó una comparación estadística para estas variables ya que el estudio no fue diseñado para establecer o corroborar los factores de riesgo ya descritos ampliamente en la literatura.<sup>11,22,23</sup>

El sitio más colonizado fue el recto y solo 41% de los pacientes estaban colonizados en más de un sitio anatómico. Esto contrasta con los estudios realizados en otros países en donde la colonización es más rápida (90% a las tres semanas) y el número de sitios anatómicos colonizados es mayor (76% de colonizados en más de un sitio anatómico)<sup>11-18,23</sup>.

En nuestra unidad la frecuencia de infección fúngica invasiva ha disminuido importantemente en la última década lo que suponemos está en relación con medidas más estrictas en el control de antimicrobianos de amplio espectro, a la vigilancia activa en el lavado de manos y a la menor densidad de colonización observada en nuestro estudio.

Históricamente las especies de *Candida* predominante corresponden a *Candida albicans* y, en el caso de los estudios en los que predominan las especies de no-*albicans*, a *Candida tropicalis*<sup>11,23</sup> Nosotros encontramos principalmente especies que correspondieron a *Candida no albicans* (79%) y de éstas el 64% correspondió a *Candida parapsilosis*. Solo el 28% de las colonizaciones correspondieron a *Candida albicans* y su mayor frecuencia de colonización ocurrió en la primera semana de internamiento.

La frecuencia de especies de *Candida* diferentes a *albicans* varía considerablemente entre los distintos países y el periodo de tiempo. Actualmente *Candida glabrata* es la segunda especie aislada en América del norte, mientras que *Candida parapsilosis* lo es en Europa y algunos países de América latina y en otros (Argentina) corresponde a *Candida tropicalis*.<sup>10,24,25,26</sup>

No se había documentado previamente la distribución de las especies que colonizan a los recién nacidos en la UCIN de nuestro hospital, es posible que el predominio de *Candida parapsilosis* haya ocurrido desde años atrás, cuando se estableció la transición epidemiológica en infecciones fúngicas invasivas donde el predominio fueron especies *no-albicans*.

Para la recuperación de levaduras en las manos del personal de salud se han utilizado distintos métodos (desde la aplicación directa de un dedo sobre una placa de agar, el frote de las manos con hisopos húmedos hasta la inmersión de la mano en caldo de cultivo suplementada con antimicrobianos)<sup>27-30</sup> con resultados que varían desde un 0% a un 75% de recuperación microbiológica lo que dificulta la comparación de los mismos. Strausbaugh y cols. analizaron los diversos métodos descritos y encontraron que la bolsa con caldo de cultivo suplementada con antibióticos tuvo el mayor porcentaje de recuperación de

levaduras (80%) comparada con bolsas con caldo sin antibióticos (62%) y aplicación directa sobre placa de agar (29%)<sup>31</sup> Esta fue la razón por lo que elegimos esta técnica para la realización de nuestro estudio.

Destacamos el alto porcentaje de colonización encontrada en las manos del personal y el predominio de *Candida parapsilosis* en los aislamientos (62.9%), comportamiento que ha sido descrito en otros países donde se han llevado a cabo estudios de colonización con una técnica similar y que se considera factor fundamental en la transmisión horizontal y susceptible de modificarse con medidas estrictas y concientización en la importancia del lavado de manos antes y después del contacto con los pacientes<sup>27-30</sup>. La transmisión horizontal de levaduras mediante las manos de voluntarios se ha estimado hasta en un 69% en estudios experimentales. La recuperación de levaduras de objetos inanimados como cunas térmicas, estetoscopios, termómetros y cintas métricas, a pesar de ser un evento poco frecuente, no disminuye la posibilidad de que estos objetos sean parte de la cadena necesaria para mantener una transmisión horizontal eficiente,<sup>18</sup> ya que también se demostró en modelos experimentales que las levaduras son capaces de permanecer viables en objetos inanimados e inorgánicos hasta por cuatro meses si no se realizan medidas de higiene adecuadas, y que la transmisión de levaduras de un objeto inanimado a las manos y viceversa es hasta de 90%.<sup>32-33</sup>, En la UCIN la limpieza de estos dispositivos médicos se realiza diariamente y la recuperación microbiológica puede estar en relación al tipo de material de los dispositivos ya que los que son principalmente de vidrio y materiales no porosos (estetoscopios, termómetros) tuvieron menor colonización en nuestro estudio comparados con aquellos compuestos de material poroso y con dificultad para la limpieza adecuada (en el caso de las cintas métricas).

No se ha podido establecer con precisión el predominio de *C. parapsilosis* como colonizante, sin embargo, su importancia como patógeno es que esta especie en particular es capaz de crecer en altas concentraciones de glucosa y formar biopelículas en materiales sintéticos como acrílicos. La mayor capacidad de formación de biopelículas de *C. parapsilosis* comparada con otras especies como *C. albicans* se asocia a la capacidad de colonizar



catéteres intravasculares (los cuales actúan como reservorios) en pacientes que se encuentran con soluciones con altas concentraciones de glucosa como nutrición parenteral<sup>34,35</sup> Esto nos pone en alerta, ya que en cualquier momento puede pasar de los sitios colonizadores a causar enfermedad.

Este estudio tiene la limitante de haberse realizado en un hospital de tercer nivel sin unidad de obstetricia por lo que los pacientes ingresados son referidos de diversas unidades, esto dificulta el conocimiento en los patrones de colonización desde el nacimiento y la situación epidemiológica de cada una de las unidades que refieren a los pacientes afectando directamente los resultados de los cultivos iniciales. Para establecer la relación clonal de las levaduras aisladas de los pacientes con las de las manos del personal y ambiente hospitalario se requieren de métodos de biología molecular (genotipificación, ribotipificación) y así precisar mejor cómo se establece la diseminación. Muy pocos estudios han llevado a cabo este tipo de análisis.

Si bien ningún paciente desarrolló infección sistémica, hasta no tener los resultados de los perfiles de susceptibilidad a antimicóticos se podrán hacer las recomendaciones para el uso empírico y específico en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales.

## CONCLUSIONES:

- 1.- Más de la tercera parte de los pacientes de la Unidad de cuidados intensivos neonatales se encuentra colonizada o se coloniza durante su permanencia en la unidad.
- 2.- El sitio de mayor colonización es el recto.
- 4.- 64% de los aislamientos en pacientes correspondió a *Candida parapsilosis*.
- 5.- Hay una alta frecuencia de colonización en las manos del personal de salud (55%) con un claro predominio de *Candida parapsilosis*.
- 6.- La colonización en objetos inanimados es baja.

**CUADRO 1. Características generales de los pacientes**

	<b>Todos los pacientes</b>	<b>Colonizados En general</b>	<b>Colonizados En UCIN</b>	<b>No colonizados</b>
<b>Número al ingreso</b>	98	39	15	59
<b>Género M/F</b>	54/44	23/16	10/15	31/28
<b>Peso al nacimiento g mediana (Intervalo)</b>	2250 (700- 3970)	1500 (755-3920)	1830 (830-3920)	2465 (700-3970)
<b>Edad gestacional semanas Md (Intervalo)</b>	35 (26-40)	32 (25-40)	33 (27-39)	35 (26-40)
<b>Estancia en la UCIN (días) Md (Intervalo)</b>	10 (1-90)	20 (4-90)	26 (4-90)	9 (1-31)
<b>Tipo de Parto Cesárea/ vaginal*</b>	48/29	20/10	3/10	28/19
<b>Defunciones£</b>	15/98 (15.3%)	8/39 (20.5%)	3/12 (25%)	7/59 (11.8%)

\*. Faltan los datos del tipo de nacimiento de 21 pacientes

£ No hubo defunciones relacionadas a infecciones fúngicas

**CUADRO 2. Principales Hospitales de referencia de los pacientes y porcentaje de colonización al ingreso**

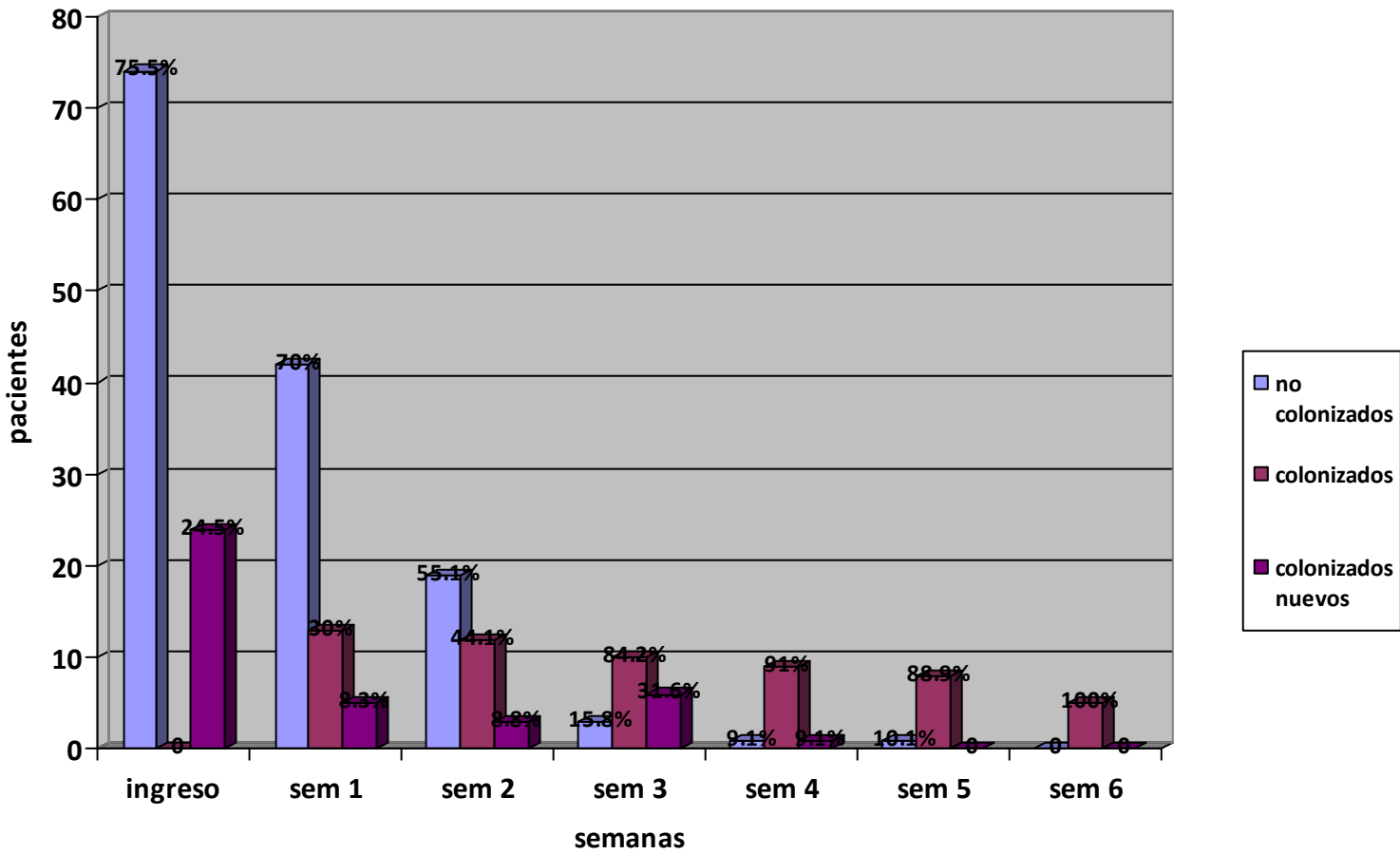
<b>Lugar de Referencia</b>	<b>Total de referidos</b>	<b>Colonizados n (%)<sup>*</sup></b>
HGO4	37	11 (45)
HGZ 1A Venados	13	4 (16.6)
HGZ Cuernavaca	5	1 (20)
HGZ 32	5	0
Hospital privado	5	1 (20)
HGZ Querétaro	4	1 (25)
HGZ 1 Mancera	3	0
HGZ Chiapas	3	1 (33.3)
HGZ 8	3	0
HGZ2A Troncoso	2	1 (50)
HGZ Acapulco	2	2 (100)
HGZ Tijuana	1	1 (100)
Lactantes UMAE Pediatría	1	1 (100)
Otras unidades	14	0

\*El (%) se refiere al porcentaje de colonizados del total referidos únicamente por la unidad correspondiente.

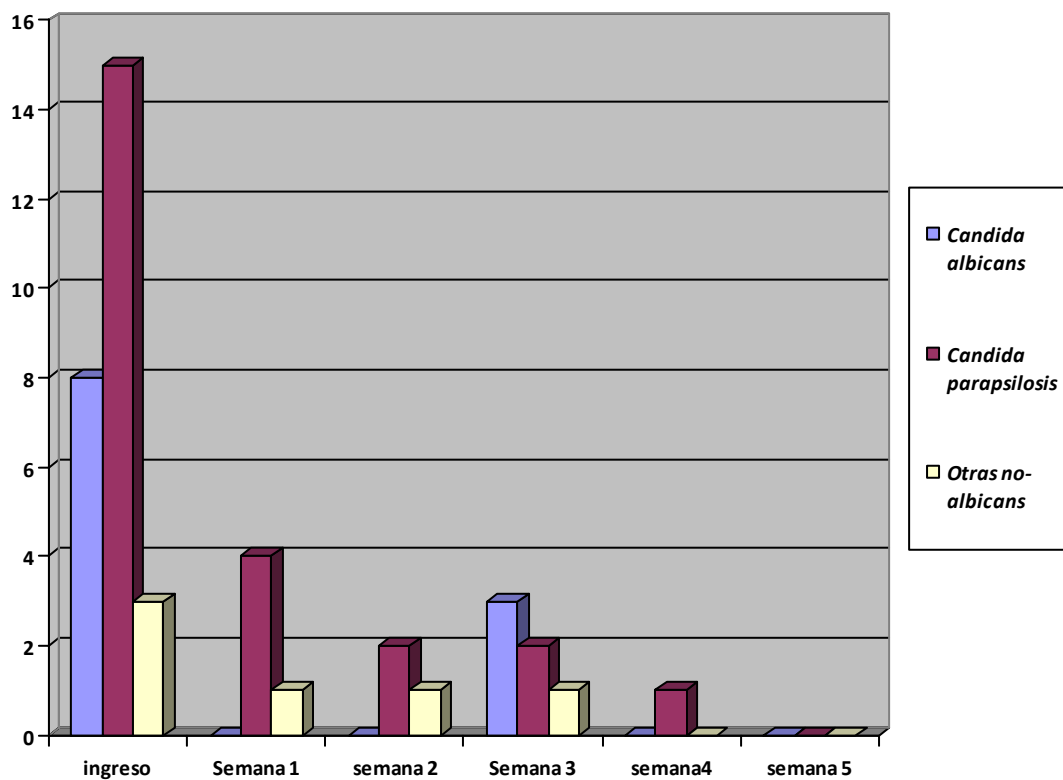
**CUADRO 3. Colonización de pacientes con respecto al tiempo y sitio.**

Sitio de colonización	Tiempo						
	Ingreso	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6
<b>No colonizados</b>	74	42	19	3	1	1	0
<b>Colonización acumulada (N)</b>	-	29	32	38	39	39	39
<b>Colonizados nuevos</b>		5	3	6	1	0	0
<b>Oral</b>	4	0	0	0	0		
<b>Rectal</b>	14	2	2	5	0		
<b>Cuello</b>	6	1	0	0	0		
<b>Axilas</b>	11	5	1	2	1		
<b>Ingles</b>	8	1	0	1	0		

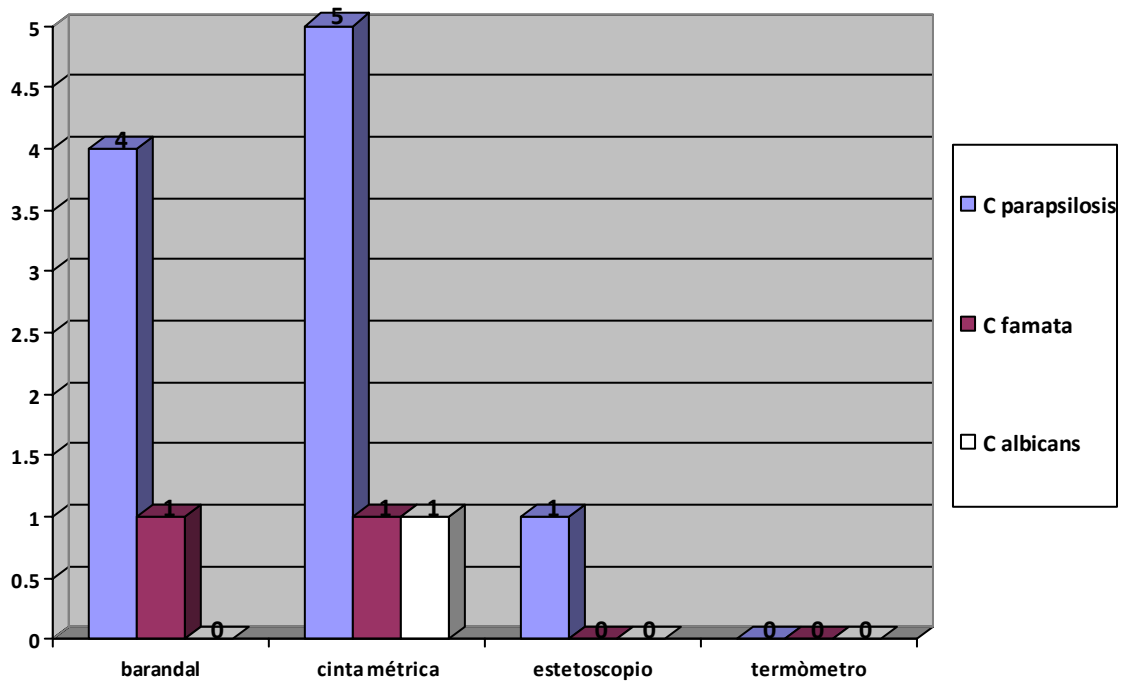
**Gráfico 1.** Colonización de los pacientes según el tiempo de internamiento en UCIN



**Gráfico 2.** Relación de la colonización por distintas especies de *Candida* a lo largo del tiempo de internamiento



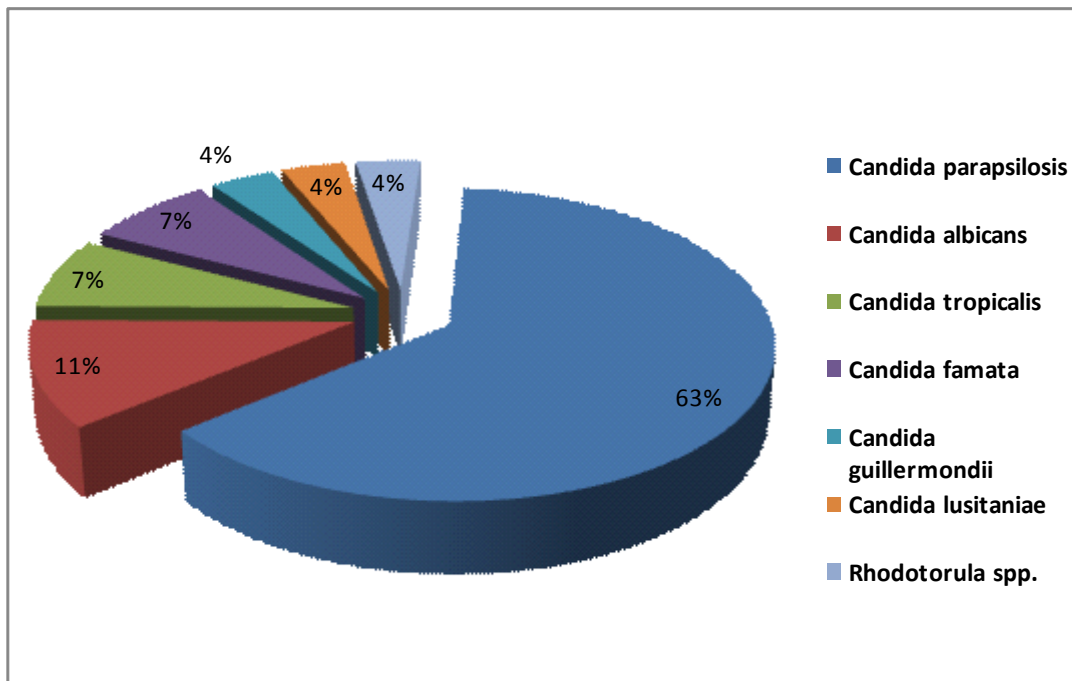
**GRAFICO3. Especies de *Candida* recuperadas de dispositivos médicos reutilizables.**



- El número sobre la columna indica el total de cultivos positivos de cada dispositivo.



**Gráfico 4.** Especies recuperadas de las manos del personal de salud (n=49)



# ANEXO 1

## HOJA DE COLECCIÓN DE DATOS DE PACIENTES Y RESULTADOS DE CULTIVOS

<b>Ficha de Identificación</b>		Número secuencial _____	
Nombre _____		Fecha de Nacimiento: _____	
NSS: _____			
1.1 Edad en días al ingreso _____		1.2 Edad Gestacional corregida: _____	1.1 <input type="text"/> 1.2 <input type="text"/>
1.3.- Genero 1) Masculino                      2) Femenino		1.4 Peso actual : _____	1.3 <input type="text"/> 1.4 <input type="text"/>
1.5. A. Maternos: Embarazo normoevolutivo _____ complicaciones _____			1.5.1 <input type="text"/>
15.1 Tipo de parto _____		1.5.2 Semanas de gestación _____	15.2 <input type="text"/>
1.5.3. APGAR _____		15.4. Peso al Nacimiento _____ Talla: _____	15.3 <input type="text"/> 15.4 <input type="text"/>
1.6. Servicio de ingreso al nacimiento _____			
Diagnóstico: _____			
1.7.- Hospital de procedencia: _____ 0) Gabriel Mancera 1) Querétaro 2) Privado ¿Cuál? _____ 3) Troncoso 4) HGO No 4 5) Otro: Especificar: _____			1.7 <input type="text"/>
1.8.- Días de estancia en hospital de procedencia _____			1.8 <input type="text"/>
1.8.1 Servicio previo _____			
1.9.- Antibióticos administrados en hospital de procedencia y tiempo de administración			
Esquema: _____ Fecha inicio: _____ Fecha término: _____			1.9 <input type="text"/>
Esquema: _____ Fecha inicio: _____ Fecha término: _____			
2.0.- Uso de bloqueadores H2. _____			2.0 <input type="text"/>
2.1 Tipo de alimentación: _____			2.1 <input type="text"/>
2.1.1- Fecha de ingreso a UCIN _____			2.1.1 <input type="text"/>
2.2.- Motivo de ingreso a UCIN _____			2.2 <input type="text"/>
2.3. Infecciones previas a su ingreso a UCIN. _____			2.3 <input type="text"/>
Uso de antimicótico _____ cuál _____ Fecha de inicio _____			
2.3.1 esquemas antibióticos actuaes:			
Esquema: _____ Fecha inicio: _____ Fecha término: _____			
Esquema: _____ Fecha inicio: _____ Fecha término: _____			
Esquema: _____ Fecha inicio: _____ Fecha término: _____			
2.4.- Uso de catéter venoso central			2.4 <input type="text"/>
Tipo: _____ Fecha de instalación: _____ Fecha de retiro: _____ Cultivo: _____			
Tipo: _____ Fecha de instalación: _____ Fecha de retiro: _____ Cultivo: _____			
2.5.- Procedimientos realizados:			2.5 <input type="text"/>
Fecha: _____ Procedimiento: _____			
Fecha: _____ Procedimiento: _____			
Fecha: _____ Procedimiento: _____			
Fecha: _____ Procedimiento: _____			
2.6 NPT			2.6 <input type="text"/>

Fecha de inicio \_\_\_\_\_

Fecha de término: \_\_\_\_\_

TOMA DE MUESTRAS Y RESULTADOS:

	FECHA	RESUL TADO	FECHA	RESUL TADO	FECHA	RESUL TADO	FECHA	RESUL TADO	FECHA	RESUL TADO
1.- AXILA										
2.- BOCA										
3.- INGLE										
4.- CUELL O										
5.- ASPIRA DO BRON.										
6.- COPRO CULTIV O										
7.- OTRO:										
8.- OTRO:										

2.8.- Resultado de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana en los aislamientos.

2.8

## REFERENCIAS.

1. Rodríguez D, Almirante B, Park B. Candidemia in neonatal intensive care units. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25:224-9.
2. Saiman L, Ludington E, Pfaller M and the National Epidemiology of Mycosis Survey Study Group. Risk factors for candidemia in neonatal intensive care unit patients. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19: 319-24.
3. Abi-Said D, Anaissie E, Uzun Omrum. The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida* species. *C I D* 1997;24:1122-8.
4. Beck-Sague CM, Jarvis WR, and the National Nosocomial Infections Surveillance System. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980–1990. *J Infect Dis* 1993;167:1247–51.
5. Rangel-Frausto MS, Wiblin T, Blumberg HM, et al. National Epidemiology of Mycoses Survey (NEMIS): variations in rates of bloodstream infections due to *Candida* species in seven surgical intensive care units and six neonatal intensive care units. *C ID* 1999: 29:253-8.
6. Eggimann P, Francioli P, Bille J, et al. Fluconazole prophylaxis prevents intra-abdominal candidiasis in high-risk surgical patients. *Crit Care Med* 1999;27:1066-72.
7. Sánchez-Huerta G, Diaz-Ponce H, Diaz-Ramos R, Solórzano-Santos F, Miranda-Novales G. Epidemiología de las infecciones sistémicas por *Candida* en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2004;61: 289-96.
8. Winston DJ, Paksari A, Bussutti RW. Prophylactic fluconazole in liver transplant patients: a randomized double-blind placebo control trial. *Ann Intern Med* 1999;131:727-39.

9. Nguyen MH, Peacock JE Jr, Morris AJ, et al. The changing face of candidemia: emergence of non-*Candida albicans* species and antifungal resistance. *Am J Med* 1996; 100:617-23.
10. Messer S, Jones R, Fritche T. International surveillance of *Candida* spp. And *Aspergillus* spp. Report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (2003). *J Clin Microbiol*, 2006; 44(5): 1782-7.
11. Farmaki E, Evdoridou J, Pouliou T et al. Fungal colonization in the neonatal intensive care unit: risk factors, drug susceptibility and association with invasive fungal infections. *Am J Perinatol* 2007;24:127-35.
12. Alcará D, Da Silva L, Matuura C, Goldenberg E, Duarte M, Hahn R, Rodrigues C. *Candida* isolated from vaginal mucosa of mothers and oral mucosa of neonates. *Pediatr Infect Dis*. 2007; 26: 553-557.
13. Bliss J, Basavegowda P, Watson W, Sheik A, Ryan R. Vertical and horizontal transmission of *Candida albicans* in Very low weight infants using DNA fingerprint techniques. *Pediatr Infect Dis*. 2008; 27: 231-235.
14. Roilides E, Farmaki E, Evdoridou J, Francesconi A, Kasai M, Filioti J, Tsvitanidou M, Sofianou D, Kremenopoulos G, Walsh TJ. *Candida tropicalis* in a neonatal intensive care unit: epidemiologic and molecular analysis of an outbreak of infection with an uncommon neonatal pathogen. *J Clin Microbiol* 2003; 41:735-41.
15. Almirante B, Rodríguez D, Cuenca-Estrella M, Almela M, Sanchez F, Ayats J, Alonso-Tarres D, Rodríguez-Tudela JL, Pahissa A and the Barcelona Candidemia Project Study Group. 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 May; 44:1681–85.

16. Lupetti A, Tavanti A, Davini P, Ghelardi E, Corsini V, Merusi I, Boldrini A, Campa M, Senesi S. Horizontal transmission of *Candida parapsilosis* candidemia in a neonatal intensive care unit. J Clin Microbiol 2002; 40:1363- 9.
17. Azbeck V, Huang Y, Markham A, Clemons K, Stevens D. *Candida parapsilosis* fungemia in neonates: genotyping results suggest healthcare workers hands as source, and review of published studies. Mycopathologia. 2007;164(6): 287-293.
18. Mendiratta D, Rawat V, Thamke D. *Candida* colonization in preterm babies admitted to neonatal intensive care unit in the rural setting. Ind J Med Microb 2006;24(4):263-7.
- 19.-Reyna J, Fragoso A, Ortiz F, Soriano D, Bermúdez G, Plazola N. Epidemiología hospitalaria de candidiasis en el Instituto Nacional de Perinatología en un periodo de 5 años. Enf Inf Microbiol. 2007; 27(4): 110-113.
20. Abelson JA, Moore T, Bruckner D, Deville J, Nielsen K. Frequency of fungemia in hospitalized pediatric inpatients over 11 years at a tertiary care institution. Pediatrics. 2005 Jul;116:61-7.
- 21.- Saiman L, Ludington E, Pfaller M et al. Risk factors for candidemia in neonatal intensive care unit patients The National Epidemiology of Mycosis Survey study group. Pediatr Infect Dis J 2000;19:319-24.
- 22.- Manzoni P, Farina D, Galletto P. Type and number of sites colonized by fungi and risk of progression to invasive fungal infection in preterm neonates in intensive care unit. J Perinat Med. 2007; 35: 220-226.
- 23.- Singhi S, Rao R, Chakrabarti A. *Candida* colonization and candidemia in a pediatric intensive care unit. Pediatr Crit Care Med. 2008; 9(1): 91-95

- 24.- Geirman G, Laverdiere M, Bourgault A. Prevalence and antifungal susceptibility of 442 *Candida* isolates from blood and Other normally sterile Sites: Results of a 2-Year (1996-1998) Multicenter Surveillance Study in Quebec, Canada. *J Clin Microbiol.* 2001;39(3): 949-953.
- 25.- Silva V, Díaz M, Febré N. Invasive fungal infections in Chile: a multicenter study of fungal prevalence and susceptibility during 1-year period. *Med Mycol.* 2004; 42(4): 333-9.
- 26.- Pooli L, Nocetti M, Pereda R. Candidemia en una unidad de cuidados intensivos neonatales: Identificación de factores de riesgo. *Arch Argent Pediatr.* 2006;104(5): 393-398.
- 27.- Mustafa Y, Sahin S, Kucukbayarac A. Hand carriage of *Candida* species and risk factors in hospital hospital personnel. *Mycoses.*2007; 50:189-192
- 28.- Strausbaugh L, Sewell D, Ward T, Pfaller M, HeitzmanT. High frequency of yeast carriage on hands of hospital personnel. *J Clin Microbiol.* 1994; 32(9):2299-2300
- 29.- Bonassoli L, Bertoli M, Svidzinski T. High frequency of *Candida parapsilosis* on the hands of healthy hosts. *J Hosp Infect* 2005; 59: 159-162.
- 30.- Silva V, Zepeda G, Rybak M. Portación de levaduras en manos de estudiantes de medicina. *Rev Iberoam Micol.* 2003;20: 41-45.
- 31.- Strausbaugh L, Sewell D, Tjoelker R. Comparison of three methods for recovery of yeast from Hands of Health-care workers. *J Clin Microbiol* . 1996; 34(2): 471-473.
- 32.- Traoré O, Springthorphe V, Sattar S. A quantitative study of the survival of two species of *Candida* on porous and non-porous environmental surfaces and hands. *J Appl Microbiol.* 2002; 92(3): 549-555.

33.- Rangel M, Houston A, Bale M, Fu C. An experimental model for study of Candida survival and transmission in human volunteers. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1994; 13(7): 590-595.

34.- Hee J, Seung K, Geung M, Hyung S, Ku S. 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.

35.- Branchini M, Pfaller M, Rhine J. Genotypic Variation and Slime production among Blood and Catheter Isolates of *Candida parapsilosis*. *J Clin Microbiol.* 1994; 32: 452-456.