

Distribución de especies de Candida asociadas a fungemias desde enero 2014 a diciembre de 2015; Hospital del Niño José Renán Esquivel, Ciudad de Panamá

Dr. (c) Julio Nieto Ramos

Universidad Especializada de las Américas / Hospital del Niño

E-mail: charter22@hotmail.com

Resumen

El género *Candida* pertenece a la familia *Cryptococcaceae*, filum, *Deuteromycota*. *Candida spp.* es un patógeno oportunista y la colonización e infección depende de su habilidad de adherirse a la piel, mucosas, y superficies de catéteres. Las fungemias son causa de mortalidad en pacientes con cáncer, neutropenia prolongada, trasplantes de médula ósea y neonatos prematuros con bajo peso al nacer. Desde 1979 la incidencia anual de sepsis fúngica ha aumentado sobre 200% en los EUA.

Es un estudio transversal descriptivo, con el objetivo de evaluar las características microbiológicas, epidemiológicas y clínicas de pacientes con fungemia hospitalizados en el Hospital del Niño Dr. José Renán Esquivel. El propósito del estudio es recomendar medidas preventivas para disminuir la incidencia de candidemia. Se incluyó a todos los episodios de candidemia desde enero de 2014 hasta diciembre de 2015. Se usó métodos fenotípicos para identificar los aislados de *Candida* y realizar las pruebas de susceptibilidad antifúngica. Se revisó los registros de laboratorio y los datos estadísticos de 2014 a 2015.

Redes, Revista Científica de la Universidad Especializada de las Américas (2016) 1, (8): 39-49

En el 2014 se reportó 105 episodios de fungemia en 62 pacientes, mientras que el 2015 el número de episodios fue de 178 en 103 pacientes. En ambos períodos más del 60% de los casos fueron reportados en la sala de UCIN. La tasa de incidencia de fungemia 2014 en la sala de UCIN fue de 1.45% versus 3.36% en el 2015. Las diferencias encontradas fueron estadísticamente significativas. En ambos períodos la especie de *Candida* más aislada fue *C. parapsilosis*, seguido de *C. albicans* y *C. tropicalis*. En la mayoría de los casos los antifúngicos probados presentaron un porcentaje de susceptibilidad igual o mayor del 95%, excepto la anfotericina B. El presente artículo es un reporte preliminar que sólo describe una evaluación diagnóstica con respecto a la existencia e incremento de la incidencia de fungemia en pacientes hospitalizados.

Palabras clave: Fungemia, Candidemia, *Candida*, Antifúngicos, Hemocultivos.

Abstract

Candida species belongs to the Cryptococcaceae, phylum, and Deuteromycota family. *Candida* spp is an opportunistic pathogen colonization and infection depends on its ability to adhere to the skin, mucous membranes, and surfaces of catheters. Fungemias are the leading cause of death in cancer patients, prolonged neutropenia, bone marrow transplants and premature infants with low birth weight. Since 1979 the annual incidence of fungal sepsis has increased over 200% in the USA.

It is a descriptive cross-sectional study in order to assess the microbiological, epidemiological and clinical characteristics of patients with fungaemia hospitalized at the Children's Hospital Dr. José Renán Esquivel. The purpose of the study is to recommend preventive measures to reduce the incidence of candidemia. All incidents of candidemia were included from January 2014 to December 2015. Phenotypic methods were used to identify isolates of *Candida* and they were tested for antifungal susceptibility. Laboratory records and statistical data from 2014 to 2015 was reviewed.

In 2014, 105 incidents of fungaemia were reported in 62 patients, while in 2015 the number was 178 in 103 patients. In both periods more than 60% of cases were reported in the NICU room. The incidence rate of fungaemia room 2014 in the NICU was 1.45% versus 3.36% in 2015. The differences were statistically significant. In both periods the most isolated *Candida* species *C. parapsilosis* was followed by *C. albicans* and *C. tropicalis*. In most cases tested antifungal susceptibility presented a percentage equal to or greater than 95% except amphotericin B. This article is only a preliminary report describes a diagnostic evaluation regarding the existence and increased incidents of fungaemia in hospitalized patients.

Keywords: Fungemia, Candidemia, *Candida*, Antifungals, Blood cultures.

Introducción

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

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

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

En el Hospital de Niño la tasa global promedio de infecciones intrahospitalario (IIH) en el 2014 fue de 6.71%. En salas críticas como la UCIN, unidad de quemados y unidad de terapia intensiva (UTI) las tasas alcanzaron cifras de 19.7%, 19.6% y 14.0%, respectivamente. En el análisis por grupo de edades se encontró, que el grupo etario más afectado correspondió a los menores de 1 mes. Las defunciones por IACS representan el 13.5% de todas las defunciones, siendo las causas más frecuentes la letalidad por sepsis (bacteriemias y fungemias). Las infecciones del torrente sanguíneo representan el 45.8% de todas IACS (Informe de vigilancia epidemiológica de IACS, H. Niño 2014). Cerca del 8% de todas las infecciones del torrente sanguíneo fueron producidas por especies de *Candida* (Nieto *et al.*, 2012). Las especies *C. albicans* y *C. parapsilosis* son los patógenos fúngicos más frecuentes en la UCIN (Stockmann *et al.*, 2014; Nieto *et al.*, 2014). Las especies de *Candida no albicans* (CNA) fueron más frecuentes en pacientes neutropénicos y una tendencia ha sido observada en pacientes recibiendo terapia con azoles (Fortun *et al.*, 2012).

Pocos trabajos han sido realizados en el Hospital del Niño referente a las infecciones por *Candida*. En el 2006 se encontró que *C. albicans*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* fueron las especies más aisladas procedentes de distintas fuentes corporales (Cisternas, 2006). En otro estudio se utilizó la caspofungina para el tratamiento de candidemia con el propósito de evaluar su eficacia y tolerabilidad en pacientes neonatos, obteniendo resultados favorables (Sáez-Llorens *et al.*, 2009).

Un estudio para medir el impacto de la profilaxis de fluconazol en la reducción de la candidiasis neonatal fue realizado en el Hospital del Niño. En conclusión, se encontró que la profilaxis con fluconazol disminuyó la frecuencia de infección por *Candida* de 7.7% a 1.2%. El 50% de los pacientes con infección por *Candida* desarrollaron bolas fúngicas renales y la mortalidad fue del 67% (Rueda *et al.*, 2010). Se debe considerar que el incremento del uso de fluconazol ha sido significativamente asociado con un incremento de la candidemia por especies de *CNA* (Fortun *et al.*, 2012). Un fenómeno semejante ha ocurrido en nuestro hospital, donde *C. parapsilosis* es la principal causa de candidemia en neonatos (Nieto *et al.*, 2014).

Publicaciones recientes indican que las especies de *Candida* en el Hospital del Niño son la segunda causa de infección del torrente sanguíneo (Nieto *et al.*, 2012). Otro estudio evaluó 55 cepas, la distribución final fue la siguiente: complejo *C. parapsilosis* (40%), *C. tropicalis* (29.1%), *C. albicans* (20%), *C. guilliermondii* (3.64%), *Sporobolomyces salmonicolor* (1.81%), *Saccharomyces cerevisiae* (1.81%), y complejo *C. haemulonii* (3.64%). Las especies del complejo *C. parapsilosis* presentaron 77.3% de resistencia a caspofungina (Nieto *et al.*, 2014). La mayoría de las fungemias son infecciones asociadas al cuidado de la salud (IACS).

En cuanto a los métodos usados en el Hospital del Niño para la identificación de especies de *Candida*, se comparó la utilidad del sistema Vitek2, versus el método de PCR fingerprinter. Se concluyó que los métodos fenotípicos amplían el enfoque de identificación, pero pueden verse limitados para discriminar entre especies menos comunes (Nieto *et al.*, 2015). Errores en la identificación fenotípica conducen al reporte de especies de *Candida* inexistente, afectando la frecuencia de aislamiento (Nieto *et al.*, 2015; Hata *et al.*, 2007). El uso de métodos moleculares es vital porque permite la oportunidad de distinguir cepas entre las especies de *Candida*, sobre todo cuando se trata de especies poco comunes o especies crípticas (Eddouzi *et al.*, 2013; Paredes *et al.*, 2012; Pfaller *et al.*, 2006; Taverna *et al.*, 2012; Warren *et al.*, 2010.). Los métodos moleculares han sido aplicados para delinear la identidad genética de cepas en pacientes infectados y ayudan a la investigación epidemiológica de las IACS (van Asbeck *et al.*, 2007).

Los estudios indican que *C. parapsilosis* es una causa frecuente de fungemia en neonatos (Nieto *et al.*, 2014). Sin embargo, la posible fuente y ruta de transmisión con *C. parapsilosis* no siempre es fácil de identificar, y en algunas instancias la epidemiología de

la infección permanece obscura. Los neonatos tienen una permeabilidad incrementada de su piel y de sus membranas mucosas a organismos exógenos. La inmadurez de los mecanismos inmunológicos de los neonatos con bajo peso incrementa el riesgo de candidiasis sistémica, cuando son colonizados durante la primera semana de vida (van Asbeck *et al.*, 2007). Los autores especulan que la transmisión horizontal del organismo, ocurre subsecuentemente de un caso a otro por la directa interacción entre los trabajadores de salud y los infantes. Fuentes ambientales como el uso de algodón no estéril, hacinamiento en la UCIN, bolsas plásticas para el transporte de medicamentos intravenosos, pudieran jugar un rol vital en la transmisión de la infección (Juyal *et al.*, 2015).

Se podría especular que los proveedores de salud en nuestro hospital están involucrados en la transmisión directa de este agente a los neonatos. Sin embargo, es necesario realizar estudios para tener certeza sobre estas consideraciones. Los antecedentes planteados nos obligan a formular la siguiente pregunta: ¿Cuáles son los cambios clínicos, epidemiológicos y microbiológicos de las fungemias durante los últimos años en el Hospital del Niño Dr. José Renán Esquivel?

El objetivo general de la investigación es: Determinar las características clínicas, microbiológicas e epidemiológicas de las fungemias en pacientes pediátricos hospitalizados en el Hospital del Niño “Dr. José Renán Esquivel”, en el periodo 2014 al 2016.

Hasta el momento se ha realizado una primera fase en al cual se contesta a la siguiente **hipótesis:**

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

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

Marco metodológico

El diseño metodológico incluye un grupo de estudio de pacientes con fungemia hospitalizados en el Hospital del Niño Dr. José Renán Esquivel y su relación con diferentes factores de riesgo clínicos. El tipo de estudio es no experimental- transversal-descriptivo-correlacional. El universo incluye los pacientes con IIH desde enero de 2014 hasta diciembre de 2016. Se realizó un muestreo no probabilístico a juicio y sólo se incluyó un episodio de fungemia por paciente. Las variables son la fungemia y los factores de riesgo asociados. En esta etapa se utilizó como fuente de recolección de datos los registros de laboratorio y datos estadísticos anuales del hospital, usando una base de datos de Excel-2010.

La identificación fenotípica y pruebas de susceptibilidad iniciales se realizó usando tarjetas YST y AST-YBC en el sistema Vitek2 (Biomeriux, Francia). Se hizo un análisis estadístico que incluyó: cálculo de indicadores epidemiológicos como la tasa de incidencia de fungemia, tasa defunción bruta, gráficos de frecuencia y un antifunograma para cada especie de *Candida*. Se comparó la tasa de incidencia de fungemia entre cada periodo, usando la prueba Z con un nivel de significancia estadística de 5% (valor Z crítico de 1.64) y un intervalo de confianza del 95% (“Software” estadístico de Excel).

Resultados

Hasta el momento se han realizado los análisis del 2014 y el 2015; los resultados obtenidos exponen la situación actual con respecto a los casos de fungemia en pacientes hospitalizados en el Hospital del Niño Dr. José Renán Esquivel.

En el año 2014 se registraron 105 episodios de fungemia en 62 pacientes, el 65.7% de los episodios se dieron en la sala de UCIN. Mientras que en el año 2015 se reportaron 178 episodios de fungemias en 103 pacientes, 125 (70.2%) de estos episodios también ocurrieron en la sala de UCIN. La distribución de pacientes; con fungemias por sala de hospitalización en el periodo 2014 y 2015 se presenta en la Tabla 1, donde se observa que 87.1% y 84.5% de los pacientes proceden de salas críticas en ambos periodos respectivamente. El grupo etario más afectado fue el de menores de un mes con cifras de 64.5% en año 2014 y 75.5% en 2015. La tasa de incidencia de fungemia calculada para el año 2014 en la sala de UCIN fue de 1.45% (40/2,766) versus 3.36% (71/2,110) en el 2015. Se aplicó una prueba Z para determinar si el incremento de la tasa de incidencia de 3.36% calculada en el 2015 es estadísticamente significativa con respecto a la calculada en el 2014. El valor Z calculado fue de 4.24, que es significamente mayor que el valor Z crítico de 1.64 para un nivel de significancia estadístico del 5%. Se puede concluir con el 95% de confianza que la diferencia entre la tasa de incidencia de 2014 y 2015 es significativa desde punto de vista estadístico. La tasa de defunciones bruta en la sala UCIN en el año 2014 fue de 10.84% y de 11.04% en el 2015. La prueba Z calculada de 0.22, indica que no existe diferencia significativa entre las tasas de defunciones.

Tabla 1: Distribución por sala de pacientes con fungemia de pacientes hospitalizados en el Hospital del Niño en los años 2014-15.

Salas	% de casos (n) 2014	% de casos (n) 2015
UCIN	64.5 (40/62)	69.0 (71/103)
UTI	22.6 (14/62)	15.5 (16/103)
Otras (*)	12.9 (8/62)	15.5 (16/103)
(*) Salas de Medicina (1, 3, 4, 5), Quemados, Recobro.		

La distribución de cepas de *Candida* asociadas a fungemias reportada en el año 2014 y 2015 se presenta en la Tabla 2. En ambos periodos la especie de *Candida* más

aislada fue *C. parapsilosis* seguido de *C. albicans* y *C. tropicalis*. Estas tres especies de *Candida* fueron reportadas en estudios previos (Nieto *et al.*, 2014). En ambos periodos estas tres especies de *Candida* representaron más del 85% de todos los aislados. En el periodo 2015 se logró aislar especies de *Candida* que no fueron reportadas en el 2014, incluyendo una cepa de *C. lusitaniae* y dos cepas de *Slephanosus ciferrii* (previamente *C. ciferrii*). En el periodo 2015 no se reportó ningún caso de fungemia por *C. dubliniensis*, que si fue reportada en el periodo 2014. En ambos periodos el sistema de la identificación fenotípica Vitek2 no logró identificar a nivel de especie el 3.2% y 5.7% de los aislados para el año 2014 y 2015 respectivamente, las limitaciones con este método ya han sido reportadas (Nieto *et al.*, 2015).

Tabla 2: Distribución de especies de *Candida* asociadas a fungemias en pacientes hospitalizados en el Hospital del Niño en año 2014 y 2015.

Especies de <i>Candida</i>	Porcentaje (n), 2014	Porcentaje (n), 2015
Complejo <i>C. parapsilosis</i>	40.4 (25/62)	41.5 (43/103)
<i>C. albicans</i>	32.3 (20/62)	38.7 (40/103)
<i>C. tropicalis</i>	14.5 (9/62)	5.7 (6/103)
<i>C. guilliermondii</i>	3.2 (2/62)	0.9 (1/103)
Complejo <i>C. haemulonii</i>	3.2 (2/62)	4.7 (5/103)
<i>Slephanosus ciferrii</i>	-	1.9 (2/103)
<i>C. famata</i>	1.6 (1/62)	-
<i>C. dubliniensis</i>	1.6 (1/62)	-
<i>C. lusitaniae</i>	-	0.9 (1/103)
<i>Candida spp.</i>	3.2 (2/62)	5.7 (6/103)

La distribución de especies de *Candida* asociadas a fungemia en la sala de UCIN en el periodo 2014 y 2015 se presenta en los Gráficos 1 y 2. En ambos periodos el 50% de todos los aislados pertenecen al complejo *C. parapsilosis*, seguido de *C. albicans* y *C. tropicalis*. Estos datos concuerdan con los reportado en años anteriores (Nieto *et al.*, 2014). En la sala de UCIN, estas tres especies *Candida* representan más del 90% de todos los aislados. Se observó que especies menos comunes como *C. guilliermondii* y *C. dubliniensis* representaron el 7.5% de todos los aislados en el 2014. En el 2015 el porcentaje de especies menos comunes alcanzó un 7% incluyendo *C. guilliermondii*, *C. famata*, complejo *C. haemulonii* y *Slephanosus ciferrii*. No obstante, el 4.2% de las especies de *Candida* no fueron identificadas.

En la Tabla 3, se presenta los datos acumulativos de las pruebas de susceptibilidad para seis antifúngicos de uso sistémico. En la primera sección de esta tabla se compara el porcentaje de susceptibilidad de los aislados de *Candida* en ambos periodos. También en ambos periodos todos los agentes antifúngicos probados presentaron un porcentaje de susceptibilidad igual o mayor del 95%, excepto la anfotericina B que sólo alcanzó

el 89% de susceptibilidad en el periodo 2014. En la segunda sección de la tabla se presenta el porcentaje de susceptibilidad global para todas las cepas del complejo *C. parapsilosis* y *C. albicans* aisladas en ambos periodos en todas las salas y en la sala de UCIN. En un estudio previo se reportó 72% de resistencia de *C. parapsilosis* a caspofungina (Nieto *et al.*, 2014), los resultados actuales usando un método distinto que el previo estudio muestra una susceptibilidad del 98%.

Gráfico 1: Distribución de especies de *Candida* aisladas (n=40) en la sala de UCIN, Hospital del Niño José Renán Esquivel 2014.

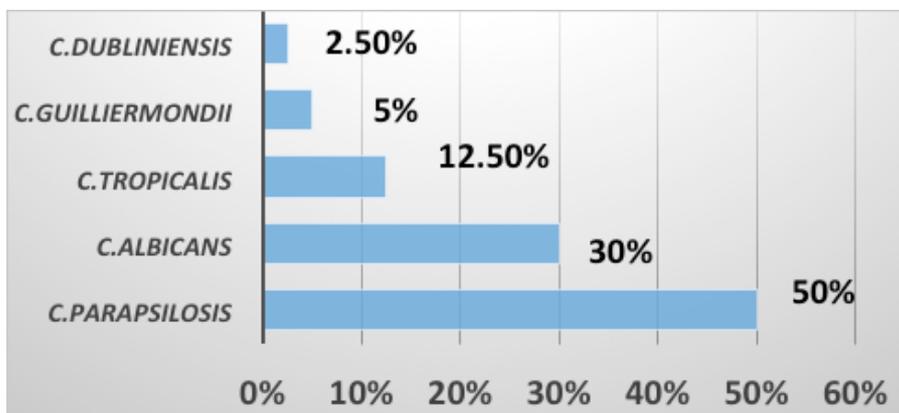


Gráfico 2: Distribución de especies de *Candida* aisladas (n=40) en la sala de UCIN, Hospital del Niño José Renán Esquivel 2015.



Tabla 3: Datos acumulativos de las pruebas de susceptibilidad de cepas de *Candida* asociadas a fungemia; Hospital del Niño José Renán Esquivel periodo 2014-15.

Especie	No. Cepas		FLCZ		5FC		AFB		CASP		MICA		VORI	
	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015
<i>Candida spp</i> *	61	101	95	98	98	98	88	96	96	96	98	100	98	100
<i>Candida spp</i> **	39	69	95	99	100	100	89	97	94	97	96	100	100	100
Datos acumulativos de las pruebas de susceptibilidad por especie de <i>Candida</i> global y en la sala de UCIN.														
Especie	No. Cepas		FLCZ		5FC		AFB		CASP		MICA		VORI	
<i>C.parapsilosis</i>	66*		97		100		95		96		100		100	
<i>C.albicans</i>	59*		98		100		97		98		100		100	
<i>C.parapsilosis</i>	53**		96		100		94		94		98		100	
<i>C.albicans</i>	35**		98		100		95		97		100		100	
Nota: Fluconazol (FLCZ), fluorocitosina (5FC), anfotericina B (AFB), caspofungina (CASP), micafungina (MICA) y voriconazol (VORI). (*) El análisis incluye las cepas de todas las salas, (**) el análisis incluye las cepas de la sala de UCIN.														

Los casos de fungemia en el año 2015 incrementaron con respecto al número de casos reportados en el 2014. Este incremento fue significativo estadísticamente. Sin embargo, la tasa de defunción para ambos periodos no incrementó.

En cuanto a la distribución de especies de *Candida* asociadas a fungemia, *C. parapsilosis* sigue siendo el agente fúngico más aislado. El hecho de que *C. parapsilosis* siga siendo el principal agente asociado a fungemia, y el incremento de los episodios fúngicos debe ser motivo de preocupación.

Si se considera que la única forma de colonización de neonatos por *C. parapsilosis* ocurre después del nacimiento, vía transmisión horizontal por parte del personal de salud y material, utilizado en el cuidado del paciente (van Asbeck *et al.*, 2007). Esto demuestra la necesidad de conocer los factores clínicos e epidemiología de este fenómeno.

Muchos esfuerzos se han hecho en los últimos años para disminuir la incidencia de fungemia por medio de la profilaxis con fluconazol entre otras medidas. Los resultados de las pruebas de susceptibilidad indican que más del 90% de todas las cepas son sensibles a los distintos antifúngicos. A pesar de este hecho y la profilaxis con fluconazol los casos de fungemia han aumentado. No obstante, reiteramos que la mejor forma de controlar la fungemia es prevenirla. Por esta razón es necesario conocer a fondo las características clínicas y epidemiológicas que permitan hacer un diagnóstico temprano. Un análisis completo que incluya realizar pruebas de virulencia, confirmación de las actuales pruebas de susceptibilidad y un análisis filogenético con vigilancia epidemiológica molecular. Esto permitirá establecer una relación entre los distintos

episodios de fungemias con fuentes ambientales y prácticas de los proveedores de salud. De esta forma se podría recomendar medidas preventivas con el propósito de disminuir la incidencia de fungemias en el futuro.

Para lograr estos objetivos se pretende realizar la identificación molecular y análisis filogenético de todos los aislados. Para este propósito se utilizará la base de datos de *Candida Genome Database* (disponible en: <http://www.candidagenome.org>), para realizar el análisis filogenético y elaboración de dendogramas de los aislados con el software Sequencher. Se confirmará los resultados de las pruebas de susceptibilidad con el método de E-Test. Además se propone realizar dos pruebas de virulencia: la capacidad de formación de biopelículas (Iraqi *et al.*, 2005) y un ensayo de adherencia (De La Peña *et al.*, 2015) para cada aislado.

Referencias bibliográficas

Cisternas O. (2006). **Patrones de resistencia de las levaduras y su importancia clínica.** Revista del Hospital del Niño, 22(2): 12-19.

Fortun J, Martin P, Gomez E, Pintado V, Cobo J, Fresco G, Meije y, Ros L, Alvares M, Luengo J, Agundez M, Belso A, Sanchez A, Loza E and Moreno S, (2012). **Emerging trends in candidemia: A higher incidence but a similar outcome.** Journal Infection, 65(1): 64-70.

Eddouzi J, Hofstetter V, Groenewald M, Manai M and Sanglard D. (2013). **Characterization of new clinical yeast species, *Candida tunisiensis* sp. nov, isolated from a strain collection of Tunisian hospitals.** J. Clin. Microbiol, 51(1): 31-39.

Pfaller M, Diekema D, Colombo A-L, Kibbler C, Ng K, Gibbs D, Newell V, and the Global Antifungal Surveillance Group (2006). ***Candida rugosa*, emerging fungal pathogen with resistant to azoles: geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK antifungal surveillance program.** J. Clin. Microbiol, 44(10): 3578-82. .

Juyal F (2013). **An outbreak of neonatal candidemia due to non-albicans *Candida* species in a resource constrained setting of Uttarakhand State, India.** Journal of Clinical Neonatology, 4(4):183-85.

Kelly M, Benjamin M and Smith B, (2015). **The epidemiology of diagnosis invasive candidiasis among premature infants.** Clinperinatol, 42: 105-117.

Nieto J, Meléndez R, Vaca I, Pinzón R, De León D, Cisternas O, (2012). **Frecuencia de microorganismos aislados de muestras de hemocultivos en pacientes hospitalizados en el Hospital del Niño.** Revista panameña de Laboratorio Clínico e Investigación, 3: 43-46.

Nieto J, Moreno N, Quiroz E, Espino C(2014). **Distribución y Susceptibilidad Antifúngica de especies de *Candida* aisladas de Hemocultivos en el Hospital del Niño del 2009 al 2010.** *Pediatr Panamá*, 43(3): 8-17.

Nieto J, Moreno N, Quiroz E, Espino C (2015). **Comparación de métodos para la identificación de especies de *Candida*: Sistema Vitek2 versus el Método de PCR fingerprinter.** *Revista panameña de Laboratorio Clínico e Investigación*, 6:11-17.

Paredes K, Sutton D, Cano J, Fothergill A, Lawhon S, Zhang S, Watkins J and Guarroa J (2012). **Molecular identification and antifungal susceptibility testing of clinical isolates of the *Candida rugosa* species complex and proposal of the new species *Candida neorugosa*.** *J. Clin. Microbiol*, 50(7):2397-2403.

Pouymiró Y, Pouymiró Iy Pouymiró O, (2011). **Infeción sistémica por *Candida* en unidades de cuidados intensivos neonatales.** *Median*, 15(8):1141-50.

Sáez-Llorens X, Macias M, Maiya P, Pineros J, Jafri H, Chatterjee A, Ruiz G, Raghavan J, Bradshaw S, Kartsonis N, Sun P, Strohmaier K, Fallon M, Bi S, Stone J, and Chow J, (2009). **Pharmacokinetics and Safety of Caspofungin in Neonates and Infants Less than 3 months of Age.** *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Mar 53(3), 869-875.

Solís-Ayala E, García A, Vicente B, Rodríguez F, y Díaz E, (2014). **Tratamiento profiláctico anti-fúngico en pacientes críticos y en alto riesgo.** *Med Int Méx*, 30:425-34.

Stockmann C, Spigarelli MG, Campbell SC, Constance JE, Courter JD, Thorell EA, Olson J, Sherwin CM, (2014). **Considerations in the pharmacologic treatment and prevention of neonatal sepsis.** *Pediatr Drugs*, 16: 67-81.

Taverna C, Córdoba S, Isla G, Fernández N, García S, Mazza M, Murisengo O, Vivot W, Szusz W, Davel G, Tiraboschi I, and Bosco-Borgeat M, (2012). **First case report of bloodstream infection due to a *Candida* species closely related to the novel species *Candida pseudorugosa*.** *J. Clin. Microbiol*, 50(6): 2165-69.

vanAsbeck EC, Huang YC, Markham AN, Clemons KV, Stevens DA, (2007). ***Candida parapsilosis* fungemia in neonates: genotyping results suggest healthcare workers hands as source, and review of published studies.** *Mycopathologia*, 164: 287-93.

Warren T, McTaggart L, Richardson S, and Zhang S (2010). ***Candida bracarensis* bloodstream infection in an immunocompromised patient.** *J. Clin. Microbiol*, 48(12): 4677-79.