



Revista Iberoamericana de Micología

www.elsevier.es/reviberoammicol



Original

Colonización por levaduras en recién nacidos y personal de salud en la unidad de cuidados intensivos neonatales de un hospital universitario en Bogotá, Colombia

Paula Andrea Orozco^a, Jorge Alberto Cortés^b y Claudia Marcela Parra^{a,*}

^aGrupo de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

^bGrupo de Investigación en Enfermedades Infecciosas y Departamento de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 10 de septiembre de 2007

Aceptado el 2 de octubre de 2008

Palabras clave:

Recién nacido

Candida spp.

Candida albicans

Colonización

Keywords:

Newborn

Candida spp.

Candida albicans

Colonization

RESUMEN

Las infecciones micóticas por especies del género *Candida* se asocian a una gran morbilidad y mortalidad en las unidades de cuidados intensivos neonatales (UCIN). El objetivo de este trabajo fue determinar los factores de riesgo de infección o colonización por *Candida* en recién nacidos de alto riesgo en una UCIN de un hospital de referencia en Bogotá, Colombia, y evaluar la colonización en los dispositivos intravasculares de los pacientes y el personal de salud. Se siguió prospectivamente a 50 neonatos de alto riesgo (bajo peso al nacer, edad gestacional inferior a 35 semanas, uso previo de antibióticos y 8 días de estancia en la UCIN), de los cuales se realizaron cultivos a partir de muestras clínicas procedentes de diferentes áreas anatómicas: conjuntivas, cavidad nasal, cavidad bucal, ingle y recto, así como de los dispositivos intravasculares. También se cultivó la solución acuosa, producto del lavado de las manos del personal. Las muestras se procesaron y se sembraron en agar Sabouraud con cloranfenicol (50 ppm) y las levaduras que se desarrollaron se identificaron mediante pruebas fenotípicas y bioquímicas por auxanograma. Se realizó un análisis multivariado de los factores asociados con la colonización en los neonatos. Las muestras procedentes de un 38% de los neonatos investigados presentaron diferentes especies de *Candida*. No se encontraron levaduras en los dispositivos intravasculares. Un 32% de las muestras procedentes del lavado de las manos del personal, que incluía a pediatras, estudiantes de pre y posgrado, enfermeras y auxiliares de enfermería, presentaron levaduras. En el análisis de regresión logística multivariado se identificó el tiempo de estancia en la UCIN como el único factor de riesgo para la colonización.

© 2007 Revista Iberoamericana de Micología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Colonization by yeasts in newborns and healthcare personnel in a neonatal intensive care unit at a university hospital in Bogotá, Colombia

ABSTRACT

Candida infections in the neonatal intensive care unit (NICU) are associated with high morbidity and mortality rates. The main objective of this work was to determine the risk factors for colonization by *Candida* species in the newborns in a hospital NICU in Bogotá, Colombia, and to evaluate the colonization of intravascular devices and healthcare personnel. Fifty newborns at high risk (low birth-weight, gestational age under 35 weeks, previous exposure to antibiotics and eight days of stay in the NICU) were followed prospectively. Clinical specimens from conjunctiva, nasal orifices, oral cavity, inguinal skin, rectum, intravascular devices, and the resulting watery solution of the washing of hands of healthcare personnel were cultured. Samples were cultured on Sabouraud agar with chloramphenicol (50 ppm). Identification of yeasts was performed using phenotypic and biochemical tests. A multivariate analysis of the risk factors for colonization in the newborns was performed. Growth of different *Candida* spp. was found in samples recovered from 38% of the newborns tested. However, no yeasts were obtained in cultures from intravascular devices. About 32% of the samples from healthcare personnel (paediatricians, undergraduate and postgraduate students, professional nurses and nurse assistants), showed presence of yeasts. In the multivariate regression analysis length of stay in the NICU was the only identified risk factor for colonization.

© 2007 Revista Iberoamericana de Micología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: claudia.parra@javeriana.edu.co (C.M. Parra).

La infección hospitalaria representa un desafío creciente en neonatología, debido al aumento de la supervivencia de los recién nacidos de bajo peso, a los cambios en los procedimientos, tanto diagnósticos como terapéuticos, y a la falta de madurez inmunológica del neonato. Dichos factores facilitan la entrada potencial de los microorganismos, los cuales pueden ocasionar una colonización y posterior infección^{5,11,15}. Las unidades de cuidados intensivos neonatales (UCIN) son propicias a la aparición de factores, tanto intrínsecos del neonato como ambientales, que favorecen el crecimiento de levaduras². Los mecanismos de transmisión pueden ser de tipo vertical (de la madre al neonato por el canal de parto) u horizontal; endógenos, a partir de la microbiota colonizante, o exógenos, a través de la piel, por medio de fómites o de las manos del personal de salud^{16,17}. Teniendo en cuenta esto, es importante evaluar la frecuencia de colonización por levaduras en los neonatos, las especies implicadas en estos procesos, los sitios anatómicos más colonizados y la presencia o no de levaduras en los diferentes dispositivos conectados al neonato. Ello nos va a permitir localizar el posible origen de la colonización y así poder disminuir el riesgo de infecciones hospitalarias que originan elevadas tasas de morbilidad y mortalidad en pacientes de las UCIN². El objetivo de este trabajo fue evaluar la colonización por levaduras tanto en neonatos de alto riesgo como en el personal de la salud en la UCIN de una entidad hospitalaria de referencia en Bogotá, Colombia.

Material y métodos

El Hospital Universitario San Ignacio es un hospital de tercer nivel de Bogotá que sirve de centro de referencia en unidades de cuidados intensivos incluyendo UCIN. La unidad cuenta con 29 incubadoras, 9 en cuidados intensivos y 20 en cuidados intermedios.

De octubre de 2005 a febrero de 2006 se realizó un estudio prospectivo para evaluar la colonización por levaduras e intentar identificar las especies más frecuentes, tanto en pacientes neonatos de alto riesgo y los dispositivos conectados a ellos, como en las manos del personal de salud que opera en la unidad. Los criterios de inclusión para seleccionar a la población de neonatos muestreada fueron la edad gestacional (inferior a 35 semanas), bajo peso (inferior a 2.200 g), uso de antibióticos previos y estancia superior a 8 días en la UCIN.

Recolección de muestras de neonatos. Se tomaron muestras de 50 neonatos que cumplieron los criterios de inclusión. Se tomaron frotis a partir de conjuntivas, cavidad nasal, cavidad bucal, ingle y recto con escobillones estériles, con los que se realizaron frotis masivos en la superficie de placas de Petri con agar Sabouraud, suplementado con 50 ppm de cloranfenicol.

Recolección de muestras de dispositivos intravasculares conectados a los neonatos. En los dispositivos (catéteres arteriales, catéteres venosos de inserción central y periférica, y catéteres de venas periféricas) las muestras se tomaron de la superficie comprendida entre la inserción del dispositivo y 2 cm de éste. Se realizaron frotis masivos en la superficie de placas de Petri con agar Sabouraud, suplementado con 50 ppm de cloranfenicol.

Recolección de muestras del personal. La población participante estuvo constituida por 56 individuos pertenecientes a 4 grupos: pediatras, estudiantes (pregrado de medicina y posgrado de pediatría), enfermeras y auxiliares de enfermería. Las muestras procedían de las manos y se tomaron en bolsas de plástico autosellables nuevas que contenían 100 ml de NaCl al 0,85% suplementado con cloranfenicol (100 ppm). El procedimiento incluyó una simulación de lavado de manos en un tiempo aproximado de 30 s. Las muestras se transfirieron a tubos falcon de 50 ml nuevos, los cuales se centrifugaron a 5.000 g a 22 °C durante 30 min. Posteriormente, se realizaron siem-

Tabla 1

Distribución de las especies de *Candida* spp. aisladas en neonatos

Localización	<i>C. albicans</i> , n (%)	<i>C. parapsilosis</i> , n (%)	<i>C. krusei</i> , n (%)	Total, n (%)
Conjuntiva	1 (2,56)	0 (0)	0 (0)	1 (2,56)
Nasal	3 (7,7)	1 (2,5)	0 (0)	4 (10,2)
Bucal	6 (15,3)	1 (2,5)	0 (0)	7 (17,8)
Inguinal	7 (18)	7 (18)	1 (2,5)	15 (38,5)
Rectal	7 (18)	5 (12,8)	0 (0)	12 (30,8)
Dispositivos	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Total	24 (61,5)	14 (36)	1 (2,5)	39 (100)

bras masivas del sedimento en la superficie de placas de Petri con agar Sabouraud suplementado con 50 ppm de cloranfenicol. Todas las muestras se incubaron a 30 °C con lecturas a las 24, 48 y 72 h. Si no se observaba crecimiento el tiempo de incubación se ampliaba a 7 días.

Interpretación del cultivo. Se tomaron como cultivos positivos aquellos en los que se observó la presencia de colonias y cuando al microscopio se observaron levaduras. Se realizaron subcultivos en agar Sabouraud de todas las colonias obtenidas.

Identificación de especies. Los hongos que crecieron en los cultivos se identificaron teniendo en cuenta básicamente la morfología de las colonias, la formación de tubo germinal, de clamidoconidios y pseudohifas, la asimilación de hidratos de carbono (glucosa, arabinosa, manosa, sorbitol, manitol, fructosa, galactosa, lactosa, maltosa, rafinosa, xilosa y trehalosa) y el color de las colonias en CHROMagar (Becton Dickinson, Colombia). Las levaduras que no se identificaron con esta metodología se agruparon en "otras levaduras".

Análisis estadístico. Se realizó un análisis de regresión logística multivariable tomando como desenlace la presencia de colonización. Se escogieron las variables que tuvieran una $p < 0,05$ en el análisis univariado y se introdujeron en un modelo hacia delante en SPSS (versión 11.5).

Resultados

De los 50 neonatos estudiados, se recuperaron levaduras en 19 (38%), que presentaron colonización en uno o más sitios anatómicos. Las muestras de ingle (38,5%) y de recto (30,8%) fueron las que proporcionaron mayor cantidad de cultivos positivos para levaduras, todas pertenecientes al género *Candida*, siendo *Candida albicans* la especie más frecuente al superar el 60% de los aislamientos. No se aislaron levaduras de ningún dispositivo intravascular. La tabla 1 muestra la distribución de especies de *Candida* aisladas en los sitios anatómicos muestreados.

De los 56 trabajadores en los que se investigaron sus manos, en 18 (32%) se obtuvieron cultivos positivos, aislándose 21 levaduras. La mayor frecuencia de aislamiento correspondió a las manos del personal de salud. El grupo de auxiliares de enfermería (37,9%) fue el más colonizado por levaduras en manos, seguido de los pediatras y enfermeras con una frecuencia similar, y a nivel global la especie predominante fue *Candida parapsilosis*. Por otro lado, hay que destacar la presencia de *Candida krusei* (4%) en todos los grupos de trabajadores, ya que presentó una frecuencia similar a *C. albicans* (3%), especie aislada sólo en auxiliares de enfermería. La tabla 2 muestra la distribución de individuos colonizados y de especies de levaduras según los grupos de personal estudiados.

En la tabla 3 se observa la frecuencia de diversos factores entre los pacientes con o sin colonización por levaduras y su significación estadística. En el análisis multivariado, en el que se incluyeron el tiempo de estancia, el uso de soluciones parenterales y el uso de nutrición parenteral, solamente se identificó el tiempo como la variable que

Tabla 2

Distribución de géneros y especies aisladas de manos del personal de salud

Personal (n)	Individuos colonizados, n (%)	<i>C. parapsilosis</i> , n (%)	<i>C. albicans</i> , n (%)	<i>C. krusei</i> , n (%)	Levadura roja, n (%)	Levadura negra, n (%)
Pediatras (7)	2 (28,5)	0 (0)	0 (0)	1 (4,8)	1 (4,8)	0 (0)
Estudiantes (9)	2 (22)	1 (4,8)	0 (0)	1 (4,8)	0 (0)	1 (4,8)
Enfermeras profesionales (11)	3 (27)	2 (9,52)	0 (0)	1 (4,8)	2 (9,5)	0 (0)
Auxiliares de enfermería (29)	11 (37,9)	6 (28,6)	3 (14,3)	1 (4,8)	1 (4,8)	0 (0)
Total (56)	18 (32)	9 (43)	3 (14,3)	4 (19)	4 (19)	1 (4,8)

representa el factor de riesgo para la colonización en la UCIN. En la tabla 4 se muestran los resultados de la razón de probabilidades de los factores de riesgo incluidos en el modelo.

Discusión

En la UCIN, la especie de *Candida* más aislada fue *C. albicans*, con cerca de dos terceras partes de los pacientes colonizados. Diversos estudios en el mundo han demostrado que *C. albicans* es la especie más frecuente en las muestras clínicas^{6,14}. En Argentina, ésta fue la especie más aislada con una incidencia aproximada del 60-80%, mientras que *C. krusei* y *C. parapsilosis* fueron menos comunes, con una incidencia inferior al 10%¹³. En el estudio de Giusiano et al, también realizado en Argentina, *C. albicans* fue, asimismo, la más frecuente, aunque en un porcentaje menor (35,5%), seguida de *Candida tropicalis*, con el 33,3%, y *C. parapsilosis* con el 26,3%⁷. En nuestra serie no se identificó ningún aislamiento de *C. tropicalis*. Estudios que evalúan la frecuencia de las especies de *Candida* realizados en Europa, Estados Unidos y Latinoamérica, muestran diferencias en esta distribución; sin embargo, nuestro estudio arroja resultados similares a los estudios en Latinoamérica^{7,14}. La razón de la aparición de estas especies no está dilucidada; sin embargo, su presencia en medios hospitalarios podría estar relacionada con el uso de fluconazol (como profilaxis o tratamiento empírico, que es escasamente utilizado en nuestra unidad), el uso de catéteres y la probabilidad de sobrevivir en estos medios.

Nuestro estudio identificó una alta tasa de colonización entre el personal sanitario. El valor más alto correspondió a los auxiliares de enfermería. Estos hallazgos se correlacionan con anteriores estudios que fluctúan entre el 20% para el personal médico y el 80% para el de enfermería¹⁸. Esto, probablemente, se relaciona con la frecuencia de contacto que cada uno de estos grupos tiene con los pacientes, o con la oportunidad para el lavado de manos del personal, en las que se encuentra con mayor frecuencia *C. parapsilosis* y otras levaduras con menor importancia en clínica^{2,16,18}. En Brasil se ha descrito a *C. parapsilosis* como una de las especies con mayor posibilidad de colonización en manos, tanto en personal del cuidado de la salud como en población normal¹. El papel que juega *C. parapsilosis* no es totalmente conocido y es posible que en la mayoría de los casos no tenga relevancia clínica. En otros estudios, el hallazgo de *C. parapsilosis* en manos del personal podría sugerir un manejo inapropiado de catéteres centrales o periféricos^{4,17}, que junto con la afinidad que tiene *C. parapsilosis* por los materiales sintéticos, contribuyen a explicar su asociación a infecciones relacionadas a los catéteres y la candidemia. Las especies implicadas en colonizaciones de dispositivos vasculares son *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *Candida glabrata* y *C. tropicalis*.

En nuestro estudio no se aislaron levaduras de ninguno de los dispositivos muestreados utilizados por los neonatos de la UCIN. El hecho de que estos microorganismos no se encontraran entre los neonatos o los dispositivos disminuye la posibilidad de *C. tropicalis* como causa de infección cruzada. Debido a que sólo se midió la presencia de levaduras en el agua tras el lavado de las manos, y no se pusieron en contacto las manos con el medio de cultivo durante el estudio, no es posible saber si la ausencia de infección cruzada se debe a un buen lavado de manos o al uso apropiado de técnicas de

Tabla 3

Análisis univariado de las variables sobre la colonización

Variable	Colonizado	No colonizado	p
Edad gestacional (media semanas)	33,4	35,4	ns
Peso (media gramos)	1.846	2.139	ns
Tiempo estancia unidad (media días)	21,6	12,5	0,006
Catéter periférico (%)	94,7	96,8	ns
Catéter epicutáneo (%)	47	29	ns
Solución parenteral (%)	79	38	0,006
Nutrición parenteral (%)	47,4	84	0,006
Antibioticoterapia (%)	68,4	71	ns

ns: no significativo.

Tabla 4

Análisis multivariado de las variables estadísticamente significativas en el análisis univariado sobre la colonización

Variable	p	RP	RP IC del 95%	
			Inferior	Superior
Solución parenteral	0,72	4,011	0,885	18,179
Nutrición parenteral	0,168	0,347	0,77	1,564
Estancia unidad	0,032	4,971	1,152	21,458

IC: intervalo de confianza; RP: razón de probabilidades.

asepsia y desinfección a la hora de manipular a los neonatos o los dispositivos intravasculares.

Entre los criterios de inclusión de los pacientes en el estudio, se encontraban el bajo peso al nacer (entre 600 y 2.160 g), el nacimiento prematuro, los procedimientos invasivos (tanto diagnósticos como terapéuticos) y el uso de antibióticos de amplio espectro^{2,4,6,11,12,16}. Con estos criterios se clasificaron nuestros neonatos de alto riesgo, y se encontró que el único factor independiente relacionado con la colonización fue la estancia prolongada en la unidad. De acuerdo a del Palacio et al³, el riesgo se incrementa a partir de la tercera semana, lo que coincide con el tiempo medio de estancia (21,6 días) de los pacientes colonizados por *Candida* spp. Otros factores que no alcanzaron significación estadística incluyeron el uso de soluciones parenterales y nutrición parenteral. En los prematuros de más bajo peso, esta última variable parece ser un factor determinante para la aparición de candidemia⁸. Consideramos que en el neonato el tiempo es un factor fundamental para la adquisición de *Candida* spp., mientras que el uso de nutrición parenteral, el uso de antibióticos y la cirugía probablemente enriquezcan la colonización y faciliten la translocación del hongo a partir de un tracto gastrointestinal alterado por la falta de nutrición enteral, la manipulación quirúrgica y la ruptura de otras barreras. Este estudio muestra que la identificación de individuos de alto riesgo debe llevar a extremar las medidas de aislamiento y lavado de manos entre el personal de salud al manipular o estar en contacto con los neonatos de mayor riesgo, y quizás implementar de forma habitual estrategias de vigilancia para la identificación de los recién nacidos colonizados.

En general, la colonización de los pacientes en las UCIN podría darse por la transmisión horizontal por parte del personal de salud que opera en la unidad^{9,17}. Una limitación del presente estudio es que no se

utilizaron herramientas moleculares para identificar un origen clonal de los aislamientos de los pacientes y el personal, por lo cual no fue posible señalar la relación genética entre las cepas de una misma especie aisladas de los neonatos y del personal de salud. En una situación de vigilancia de las infecciones hospitalarias en la UCIN, como aquella en la que se realizó este estudio, las posibilidades de colonización podrían verse retardadas por la aplicación de las medidas de control de infecciones (lavado de manos y aislamiento) y la observación continua de los neonatos contribuiría a tener una baja tasa de infección a pesar de que se observe la colonización. Durante el período de estudio no se observó ningún caso de candidiasis.

Agradecimientos

A la UCIN, la Unidad de Infectología, al Laboratorio Clínico del Hospital Universitario San Ignacio y a la Facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana por su apoyo y colaboración.

Bibliografía

- Bonassoli LA, Bertoli M, Svidzinski TI. High frequency of *Candida parapsilosis* on the hands of healthy hosts. *J Hosp Infect.* 2005;59:159-162.
- Cantón E, Viudes A, Pemán J. Infección sistémica nosocomial. *Rev Iberoam Micol.* 2001;18:51-55.
- del Palacio A, Alhambra A, Cuétara M. Factores de riesgo de la candidiasis invasora: estratificación. *Rev Iberoam Micol.* 2006;23:29-31.
- Durán E, Ramírez I, Ventura P, Gil J. Candidemia: *Candida parapsilosis* en una unidad de neonatología. *Rev Iberoam Micol.* 2005;22:1-15.
- Fridkin SK, Kaufman D, Edwards JR, Shetty S, Horan T. Changing incidence of *Candida* bloodstream infections among NICU patients in the United States: 1995-2004. *Pediatrics.* 2006;117:1680-1687.
- Galván B, Mariscal F. Epidemiología de la candidemia en UCI. *Rev Iberoam Micol.* 2006;23:12-15.
- Giusiano GE, Mangiaterra M, Rojas F, Gómez V. Yeasts species distribution in Neonatal Intensive Care Units in northeast Argentina. *Mycoses.* 2004;47:300-303.
- Guzman JM, Jaraba MP, de la Torre MJ, Ruiz-González MD, Huertas MD, Álvarez R, Zapatero M. Parenteral nutrition and immature neonates. Comparative study of neonates weighing under 1000 and 1000-1250 g at birth. *Early Hum Dev.* 2001;65: S133-S144.
- Huang YC, Lin TY, Leu HS, Peng HL, Wu JH, Chang HY. Outbreak of *Candida parapsilosis* fungemia in neonatal intensive care units: clinical implications and genotyping analysis. *Infection.* 1999;27:97-102.
- Leibovitz E. Neonatal candidosis: clinical picture, management controversies and consensus, and new therapeutic options. *J Antimicrob Chemother.* 2002;49: 69-73.
- Mendivil C, Egüés J, Polo P. Infección nosocomial, vigilancia y control de la infección en neonatología. *Anales Sis San Navarra.* 2000;23:177-184.
- Montejo JC, del Palacio A. Importancia de la candidiasis invasora en el enfermo crítico no neutropénico. *Rev Iberoam Micol.* 2006;23:2-3.
- Mújica MT, Finquelievich J, Jewtuchowicz V, Iovannitti CA. Prevalencia de *Candida albicans* y no *albicans* en diferentes muestras clínicas: período 1999-2001. *Rev Argent Microbiol.* 2004;36:107-112.
- Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Fluit AC, Verhoef J, Sader HS, Messer SA, Houston A, Coffman S, Hollis RJ. International surveillance of blood stream infections due to *Candida* species in the European SENTRY program: species distribution and antifungal susceptibility including the investigational triazole and echinocandin agents. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2000;35:19-25.
- Pittet D, Monod M, Suter PM, Frenk E, Auckenthaler R. *Candida* colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. *Ann Surg.* 1994;220:751-758.
- Saiman L, Ludington E, Dawson JD, Patterson JE, Rangel-Frausto S, Wiblin RT, Blumberg HM, Pfaller M, Rinaldi M, Edwards JE, Wenzel RP, Jarvis W. Risk factors for *Candida* species colonization of neonatal intensive care unit patients. *Pediatr Infect Dis J.* 2001;20:1119-1124.
- Senet J. Risk factors and physiopathology of candidiasis. *Rev Iberoam Micol.* 1997;14:6-13.
- Silva V, Zepeda G, Rybak E, Febré N. Portación de levaduras en manos de estudiantes de Medicina. *Rev Iberoam Micol.* 2003;20:41-45.