

39
26



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

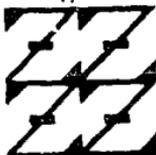
AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE HONGOS
OPORTUNISTAS CAUSANTES DE INFECCION EN PACIENTES
DEL HOSPITAL DE ONCOLOGIA DEL CENTRO MEDICO
NACIONAL SIGLO XXI I.M.S.S.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

MARISELA CAROLINA MALDONADO ARELLANO



LO NUMERO 532
DE NUESTRA REFLEXION

MEXICO, D. F.,

1993

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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 está 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.

INDICE

	Paginas
Introducción	III
I. ANTECEDENTES TEORICOS.....	1
1. Infecciones en pacientes con cáncer.....	1
1.1. Infecciones bacterianas.....	1
1.2. Infecciones parasitarias.....	2
1.3. Infecciones virales.....	3
1.4. Infecciones fúngicas.....	3
2. Micosis oportunistas en pacientes con cáncer.....	4
2.1. Definición.....	4
2.2. Relación huésped-parásito.....	5
A. Factores del huésped (Factores predisponentes).....	6
B. Factores del hongo.....	8
3. Principales micosis oportunistas.....	9
3.1. Candidosis.....	9
3.2. Trichosporonosis.....	12
3.3. Aspergilosis.....	14
3.4. Zigomicosis.....	18
3.5. Otras micosis.....	21
4. Prevención.....	23
5. Diagnóstico del laboratorio.....	25
II. Fundamentación de la elección del tema.....	34
III. Planteamiento del problema.....	37
IV. Objetivos.....	38
V. Hipótesis.....	39

VI. Parte experimental.....	40
1. Material y equipo.....	40
2. Método.....	43
3. Diagrama de flujo.....	44
4. Procedimiento.....	45
VII. Resultados.....	54
VIII. Discusión de resultados.....	67
IX. Conclusiones.....	78
Apéndice.....	79
Sugerencias.....	81
Bibliografía.....	82

INTRODUCCION

Las infecciones fúngicas oportunistas han surgido como la principal causa de muerte en los pacientes con cáncer. La frecuencia de estas infecciones es más alta en los pacientes con enfermedades hematológicas que en los pacientes con tumores sólidos. Múltiples factores son responsables del incremento de este tipo de infecciones en los pacientes cancerosos. Para prolongar la vida de estos pacientes se emplean combinaciones quimioterapéuticas para su tratamiento, sin embargo esto provoca gran debilidad en el paciente, dañando los mecanismos de defensa celular, causado por la misma enfermedad y la terapia; además del empleo de catéteres intravenosos e intraarteriales, así como otros. Las especies de *Candida*, *Aspergillus*, *Zigomicetos*, *Trichosporon* y *Cryptococcus neoformans* son los hongos más comunmente aislados, aunque existen otros que han sido encontrados como patógenos. Con excepción de *Cryptococcus neoformans*, la mayoría de las infecciones fúngicas son difíciles de diagnosticar; con frecuencia son sospechadas, no obstante el diagnóstico exacto es extremadamente difícil, y en un 50% de los pacientes es establecido por autopsia.

El presente trabajo de investigación tuvo como finalidad el aislamiento y la identificación de hongos oportunistas causantes de infección en pacientes con cáncer; así como determinar la frecuencia de las infecciones fúngicas en este grupo de pacientes en particular; y contribuir a establecer

un diagnóstico temprano de la infección, lo que permitirá tomar las medidas profilácticas adecuadas en el combate de la infección.

El estudio fue realizado en un grupo de pacientes adultos del Hospital de Oncología del C.M.N. siglo XXI, encontrándose una alta frecuencia de infecciones fúngicas, causadas por diferentes hongos oportunistas, encabezados por levaduras del género *Candida* principalmente por *C.albicans*.

I. ANTECEDENTES TEORICOS

1. INFECCIONES EN PACIENTES CON CANCER

Avances importantes en la terapéutica anticáncer y supresiva durante los 80 s mejoró significativamente las perspectivas de vida de los pacientes con cáncer; desafortunadamente estos logros han presentado su lado oscuro, mostrando efectos supresivos sobre el sistema inmune del huésped, predisponiéndolo a serias y posteriormente fatales infecciones [2]. El 60% de los pacientes con leucemia, 65% con linfoma y el 40% con tumores sólidos mueren a consecuencia de infecciones agregadas [18]. Estas infecciones son generalmente oportunistas, aunque algunas veces son adquiridas por otros mecanismos [1]. Las infecciones bacterianas son las más frecuentes, sin embargo el problema de las infecciones fúngicas se ha visto incrementado en los últimos años, siguiéndoles en importancia las virales y las parasitarias que también se presentan con frecuencia en este tipo de pacientes [12,28,31].

1.1. Infecciones bacterianas

Las infecciones bacterianas ocurren principalmente en pacientes con cáncer de piel y en pacientes con tumores pulmonares obstructivos; las bacterias Gram-positivas involucradas son *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus*

pyogenes [12] y enterobacterias principalmente por *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.* además de *Pseudomona sp.* bacterias que frecuentemente se aislan en pacientes con neoplasias hemáticas. Los bacilos Gramnegativos causan más de la mitad de las infecciones demostradas en los pacientes y es frecuente que los pacientes neutropénicos y febriles presenten septicemia por microorganismos gramnegativos sin un origen clínico definido. La sepsis por anaerobios pocas veces constituye un problema para los pacientes con neoplasias hemáticas, pero se presenta en enfermos con tumores gastrointestinales o genitourinarios con necrosis tumoral [18,59].

1.2. Infecciones parasitarias

Las parasitosis que se reportan en la bibliografía en pacientes cancerosos son la neumonia por *Pneumocystis carinii* [59] y la toxoplasmosis causada por *Toxoplasma gondii*, aunque también se han descrito casos de estrongiloidiasis y ascaridiosis. La toxoplasmosis no es frecuente pero es encontrada en ocasiones en pacientes con linfoma. La parasitosis causada por el protozoario *Pneumocystis carinii* afecta exclusivamente los pulmones y generalmente se presenta después de inmunosupresión intensa y prolongada, sobre todo en pacientes que han recibido glucocorticoides, pacientes con linfoma y con leucemia linfocítica aguda [18].

1.3. Infecciones virales

Las infecciones virales son un problema importante en la mayor parte de las enfermedades malignas, por ejemplo la frecuencia de hepatitis por virus en quienes reciben cantidades elevadas de productos hemáticos, y el aumento de la frecuencia de infecciones por virus del grupo Herpes en pacientes con linfoma especialmente en enfermedad de Hodgkin [59]. La frecuencia de Herpes zooster localizado, es de 25% en los pacientes de Hodgkin que han recibido radioterapia, además alrededor de un tercio de estos pacientes evolucionan hacia un Herpes zooster diseminado [18]. La infección por Cytomegalovirus se encuentra más a menudo en los receptores de trasplante de órganos que en los cancerosos inmunodeprimidos [28]; sin embargo este virus puede producir fiebre y neumonía intersticial en los pacientes con cáncer, particularmente en los de linfoma [18].

1.4. Infecciones fúngicas

Las infecciones fúngicas, de particular interés en este trabajo, son en su mayoría infecciones oportunistas. Se han visto incrementadas en pacientes con enfermedades hematológicas y tumores sólidos, convirtiéndose en causa importante de enfermedad y muerte [3,21]. Estas infecciones son particularmente difíciles de manejar en huéspedes comprometidos porque los cultivos de los sitios de donde se sospecha la infección y los cultivos de vigilancia de las

muestras son engañosos. El tiempo requerido para aislar los hongos a partir de las muestras puede ser prolongado, el diagnóstico dilatado y por consiguiente el tratamiento demorado [31]. La mayoría de las infecciones son causadas por *Candida* y *Aspergillus*, ocasionalmente son causadas por *Torulopsis glabrata*, *Trichosporon beigelli*, *Fusarium* sp. y los Zigomicetos [3,21,27]. La Criptococosis es frecuente en los pacientes con inmunidad celular dañada tal como ocurre en la enfermedad de Hodgkin y otros linfomas; en pacientes con Leucemia esta infección no es común [9].

Las infecciones fúngicas en los pacientes con cáncer, son de interés en este trabajo de investigación, por lo que a continuación se profundiza sobre estas infecciones oportunistas.

2. MICOSIS OPORTUNISTAS EN PACIENTES CON CANCER

2.1. Definición

Las micosis oportunistas son producidas por hongos saprofiticos inócuos, que en condiciones normales no generan enfermedades al hombre, unicamente aquellos que pueden adaptarse a la temperatura del cuerpo humano y sobrevivir en los tejidos del huésped [47]. Los hongos dimórficos como *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis* y *Sporothrix schenckii* habitan normalmente en

el suelo o se asocian con la vegetación, ellos son ejemplo de organismos que se adaptan a las condiciones del huésped [10,47].

Algunos de estos hongos patógenos pueden causar enfermedades serias en individuos aparentemente normales, y son considerados patógenos primarios; sin embargo la mayoría de los agentes micóticos que infectan a los humanos son oportunistas que poseen virulencia muy baja y sólo infectan a individuos inmunológicamente comprometidos o debilitados por otras condiciones [2].

Al hablar de oportunismo siempre se relaciona directamente con los factores predisponentes asociados al huésped, sin embargo los agentes infecciosos, en este caso los hongos, también juegan un papel de importancia para que la enfermedad se establezca, ya que no todos los hongos son capaces de comportarse como oportunista. Por lo tanto para que se presente una micosis oportunista, se deben dar condiciones tanto del huésped como del hongo [10,44].

2.2. Relación huésped-parásito en las enfermedades fúngicas.

Típicamente los factores que afectan la interacción huésped-parásito en muchas de las infecciones pueden ser divididas en dos categorías importantes. La primera es el compromiso de aquellas características del humano que permiten la entrada del microorganismo a los tejidos para causar enfermedad; la otra categoría incluye los factores del huésped que limitan al agente infectante o permiten que

penetre y se multiplique en él. Tales factores que favorecen la infección incluyen la falta de infiltración de células del huésped que lo puedan destruir y la presencia de tejidos específicos con nutrientes esenciales o factores de crecimiento [35].

A. Factores del huésped (Factores predisponentes)

Muchos factores incrementan la susceptibilidad hacia las infecciones fúngicas; algunos de ellos son:

- Defectos en la inmunidad celular
- Neutropenia
- Debilitación crónica y malnutrición
- Terapia con corticosteroides
- Terapia con antibióticos
- Alimentación parenteral
- Inmunosupresión
- Cirugías prolongadas
- Catéteres intravenosos residentes [9,34,52].

El proceso maligno por sí mismo puede ser responsable del aumento de la susceptibilidad a la infección; algunos tumores, en especial los procesos hematológicos malignos pueden ocasionar alteraciones importantes en los mecanismos de defensa del huésped pero también muchas de las complicaciones infecciosas son resultado de las medidas terapéuticas [37]. Algunos agentes quimioterapéuticos pueden afectar el sistema inmune; estos agentes y los corticosteroides inducen defectos en la función de los neutrófilos [2,9,50]. Los corticosteroides son agentes

predisponentes en el desarrollo de la Aspergilosis y la Candidosis; la cortisona directamente inhibe la destrucción de las conidias de *Aspergillus* por los macrófagos in vivo e in vitro, y reduce la movilización de los neutrófilos. Los esteroides impiden tanto las reacciones tardías cutáneas de hipersensibilidad como la capacidad leucocitaria in vitro [9,18].

Las lesiones gastrointestinales pueden resultar de una variedad de factores. Probablemente la causa más común de la ulceración es el uso de agentes antineoplásicos, tales como antitumorales los cuales destruyen las células epiteliales en proliferación de la mucosa gastrointestinal. La administración de antibióticos de amplio espectro han sido asociados con el incremento en el grado y frecuencia de colonización del tracto gastrointestinal por *Candida* [2,8].

La neutropenia es probablemente una de las condiciones más importantes responsables en la frecuencia de las infecciones fúngicas [2]. Los neutrófilos ingieren y destruyen una amplia variedad de microorganismos y son la defensa celular más importante contra una infección diseminada [8,9]. Cuando la cuenta de neutrófilos cae por debajo de 1500 X mm de sangre, la frecuencia de infección aumenta en forma sostenida. Cuando la cuenta de neutrófilos es de 500 X mm el 35% del tiempo de vida del paciente transcurre con infección y cuando la neutropenia es menor de 100 mm , se presenta infección hasta en un 50% de los

días [18]. El cáncer diseminado puede producir neutropenia por invasión tumoral de la médula ósea, así como la radioterapia y la quimioterapia complicando aún más el problema de estos pacientes [9,13].

Por último la piel y las mucosas constituyen la primera línea de defensa contra las infecciones y a menudo son alteradas en los pacientes con cáncer por las repetidas punciones venosas, el uso de agujas y catéteres intravenosos y la hiperalimentación [2,9]. La mayoría de las infecciones son causadas por levaduras del género *Candida*, principalmente *C.tropicalis* y *Candida glabrata* o *Torulopsis glabrata* [8,13].

B. Factores del hongo

-Patogenicidad y Virulencia

Los mecanismos de agresión de los hongos son muy amplios y van desde simple irritación local hasta la formación de granulomas y grados variables de hipersensibilidad del huésped en las llamadas micosis profundas, en las que el daño parece producirse por la proliferación de los hongos [10]. El mecanismo básico de patogenicidad de los hongos es su habilidad para adaptarse al medio ambiente tisular y la temperatura, y su capacidad para resistir la actividad lítica de las defensas celulares del huésped. En particular, el grupo de los agentes infecciosos que afecta al huésped, los "oportunistas" requieren de un defecto importante en las defensas normales para llegar a establecerse. No muestran dimorfismo, pero

son tolerantes a la temperatura, y las cepas aisladas a partir de infecciones humanas, son metabólicamente más activas a 37 C y en el potencial oxido-reducción del tejido humano, que las mismas especies aisladas del suelo [44].

3. PRINCIPALES MICOSIS OPORTUNISTAS

3.1. Candidosis

Es una micosis producida por levaduras oportunistas del género *Candida*. Las especies más reportadas son *C.albicans*, *C.tropicalis*, *Candida(Torulopsis)glabrata* y *C.parapsilosis*. Otras especies como *C.lusitaniae*, *C.maltosa* y *C.paratropicalis* han surgido recientemente como oportunistas importantes [2,5,7,26,36].

La Candidosis es una enfermedad cosmopolita y es la micosis oportunista que con mayor frecuencia se presenta en todo el mundo. El hábitat de las diversas especies de este género es el ser humano pero bajo ciertas condiciones se presenta colonización y multiplicación de las levaduras [10,26]. Las infecciones por *Candida* pueden ser divididas en cuatro categorías [2]:

- a) superficial y/o localizada
- b) infección en órganos importantes
- c) diseminada
- d) candidemia

Las infecciones superficiales se presentan en

orofarínge, laringe, esófago, tracto gastrointestinal, vagina y piel [2,8,9].

La candidosis orofaríngea u oral (algodoncillo) es común en pacientes con cáncer sometidos a quimioterapia y radioterapia [30,32]; debido a que por un lado, los agentes quimioterapéuticos causan ulceración de la mucosa [9], y la radiación altera la flora oral, favoreciendo el sobrecrecimiento de las especies de *Candida* además de alteración en la cantidad y composición de la saliva [39]. Generalmente los pacientes que usan dentadura postiza completa u obturador maxilar, son altamente propensos a contraer infección fúngica si las prácticas de higiene oral no son las adecuadas [39,40]. El algodoncillo se ha observado en 35% de los pacientes con tumores sólidos y es más frecuente en los pacientes con enfermedades hematológicas como Leucemias, Linfomas y trasplantes de órganos [9].

La esofagitis actualmente es común en pacientes con Leucemia aguda [8]; las lesiones posteriores a la infección es la aparición de placas y/o ulceraciones. Esta infección es más seria que el algodoncillo porque fácilmente se disemina por vía hematógena. Ocasionalmente los pacientes desarrollan lesiones nodulares en el esófago, como una manifestación de Candidosis diseminada [26,36].

Las especies de *Candida* también pueden producir lesiones en el tracto gastrointestinal, produciendo placas o ulceraciones en el estómago, parte del intestino o el

colon. Muchas de estas infecciones son asintomáticas, aunque la infección en el intestino puede ser asociada con diarrea, dolor abdominal y sangrado rectal [36,39]. En autopsia se ha observado en un 10% de los pacientes con Linfoma, 15% en pacientes con Leucemia y en un 2% en pacientes con carcinoma. El tracto gastrointestinal es el sitio más común donde se origina la Candidosis diseminada [8].

Otra de las infecciones por *Candida* incluyen el tracto genitourinario (cistitis y pielonefritis, particularmente en pacientes con catéteres urinarios), la vagina (vaginosis) y las áreas extragenitales. Estas infecciones pueden ser tratadas fácilmente por la administración de anfotericina-B además de otros antifúngicos como Ketoconazol y Nistatina, por mencionar algunos [36].

La infección en órganos importantes y la Candidosis diseminada han sido consideradas al mismo tiempo como Candidosis sistémica, y ésta representa la forma más seria [2]. La Candidosis sistémica puede involucrar cualquier órgano del cuerpo, en algunos casos es adquirida vía tracto gastrointestinal y los órganos posteriormente infectados son hígado, bazo y pulmón. En otros casos el microorganismo invade el torrente sanguíneo directamente por vía de catéteres residentes, los sitios predominantemente infectados son los riñones, el corazón y los pulmones [9]. El sistema nervioso central está involucrado en aproximadamente el 10% de los casos de Candidosis

diseminada; se puede presentar una meningitis asociada con signos focales y aún más frecuentemente una encefalitis. En muchos de los pacientes los abscesos por *Candida* son observados en la autopsia como una infección incidental, sin embargo, algunos pacientes desarrollan síntomas previos a estas infecciones, generalmente manifestándose como confusión y letargía [8].

La oftalmitis, endocarditis y Candidemia también se han visto aumentadas en los pacientes cancerosos asociados con el uso de catéteres intravenosos [8,36], reportándose la última hasta en un 0.8-16% en pacientes que reciben alimentación parenteral [2]. El índice de mortalidad por colonización generalizada es alrededor de 56% aún con tratamiento [31]. Generalmente el diagnóstico de la Candidosis diseminada es difícil porque los pacientes no desarrollan ningún signo característico o síntoma, lo más frecuente es fiebre persistente; *C.albicans* es la especie implicada en la mayor parte de los casos, además de *C.tropicalis* que se aísla en un 25% [8,31].

3.2. Trichosporonosis

La Trichosporonosis es una infección que actualmente es reconocida como oportunista en pacientes altamente susceptibles y/o inmunocomprometidos. Los hongos del género *Trichosporon* son miembros de la subfamilia Trichosporideae en la familia Cryptococcaceae; las principales especies involucradas en estas infecciones son: *T.beigelii*(cutaneum)

y *T.capitatum* [25,60].

T.beigelli, principalmente predomina en zonas templadas y tropicales, y es un habitante de la flora normal de la piel humana. Este microorganismo es el responsable de la piedra blanca, una infección superficial caracterizada por nódulos blandos, blanquesinos de la barba, bigote, axilas y pubis; se observa comunmente en el Sur de América, Asia y esporádicamente en los E.U. y Europa [25,38,60]. *T.beigelli* es un hongo levaduriforme que se caracteriza por la producción de hifas, artrosporas y blastosporas tanto en el cultivo como en los tejidos del huésped [10]. En el cultivo, éste produce colonias cremas que se convierten en gris pardo y después de aproximadamente 14 días se arrugan, y su identificación puede ser confirmada por pruebas de asimilación de carbohidratos [36,38,60].

La Trichosporonosis diseminada en pacientes granulocitopénicos comunmente se manifiesta en ataque de fiebre, fungemia, fungoria, infiltrados pulmonares y lesiones cutáneas, invasión de los riñones, además de otros tejidos. El suero de tales pacientes puede dar positiva la prueba de aglutinación de partículas de latex para detección de antígeno de *C.neoformans* [36,58].

T.beigelli se ha aislado de sangre, biopsias de piel, expectoración, orina, excremento y de muestras del tracto respiratorio en cultivos de vigilancia cuando se sospecha de infección diseminada o en casos de infección sistémica [58]. Algunos autores han reportado lesiones en piel en

casos de infecciones sistémicas causadas por *T.beigelli* y *T.capitatum*. Estas lesiones consisten de pápulas múltiples color púrpura, las cuales en biopsia y/o en cultivos pueden revelar la presencia de *Trichosporon* [60].

Recientemente, Thomas J. Walsh y colaboradores, han reportado resistencia por parte de *T.beigelli* a la anfotericina-B, sin embargo la causa de este fenómeno aún no es conocida. El hecho de que *T.beigelli* sea resistente a la anfotericina-B puede ser el origen de la *Trichosporonosis* diseminada. En su reporte indican que *T.beigelli* es inhibido pero no destruido a dosis usuales de anfotericina-B en suero; sin embargo un incremento en la dosis, puede producir otro tipo de micosis incluyendo *Aspergilosis* pulmonar y *Hialohifomicosis* causada por *Fusarium sp.* [58].

3.3. *Aspergilosis*

La *Aspergilosis* es definida como cualquier infección o colonización de tejidos o cavidades por hongos del género *Aspergillus*. Esto incluye proliferación en bronquios normales o dilatados, necrosis, neumonitis granulomatosa, algunas veces con diseminación hematógica, endocarditis, sinocitis, infecciones de los tegumentos y en ocasiones micetoma. En general las esporas de estos hongos pueden actuar en el hombre como alérgenos, que cuando son inhalados producen una reacción de hipersensibilidad similar al broncoespasmo [41]. La *Aspergilosis* es una

enfermedad cosmopolita, reportada prácticamente en todos los países del mundo. Las diversas especies oportunistas son ampliamente ubicuas, ocupan el primero o segundo lugar dentro de los hongos contaminantes del medio ambiente; se aislan con frecuencia del aire, tierra, plantas y en especial, contaminan alimentos, sobre todo los que contienen carbohidratos y fibras (pan dulce, alimento de aves, granos, etc.) [10,26].

En ocasiones algunas especies de *Aspergillus*, sobre todo las relacionadas con enfermedad en humanos, han sido implicadas en infecciones nosocomiales. Se han descrito epidemias de *Aspergilosis* pulmonar en pacientes susceptibles en asociación con hospitales en remodelación, construcción y con sistemas de ventilación de los mismos [36,49].

Aunque los *Aspergillus* son habitantes normales del medio, sólo ocho especies han sido implicadas con enfermedad en el hombre. *A.fumigatus* es la especie principal responsable de enfermedades tanto alérgicas como profundas, no obstante existen otras como *A.flavus*, *A.deflectus*, *A.nidulans*, *A.niger*, *A.terreus* y *A.clavatus* que también se encuentran reportados en la bibliografía [44,48]. Actualmente la especie *A.flavus* ha sustituido a *A.fumigatus* como el agente que encabeza las infecciones de los huéspedes con inmunosupresión en muchos hospitales [44].

Las especies de *Aspergillus* son hongos filamentosos de

micelio hialino septado que mide $4\ \mu\text{m}$ de diámetro caracterizado por formar estructuras complejas (conodióforos) con longitud aproximada de $400\ \mu\text{m}$, y una vesícula terminal de forma globosa de aproximadamente $20\ \mu\text{m}$ de diámetro, cubierta por 1 ó 2 hileras de esterígmata ordenadas radialmente sobre su superficie, las cuales sostienen conidias pequeñas ovales o esféricas [29]. Algunas especies de *Aspergillus* son productores de toxinas, las de *A.fumigatus* no parecen tener ningún efecto tóxico para el hombre; en cambio la aflatoxina producida por *A.flavus* presenta una notable actividad carcinogénica [26].

La Aspergilosis pulmonar invasiva es la forma más común de las infecciones por *Aspergillus* en pacientes inmunocomprometidos [16,19,56], particularmente los de Leucemia que están sometidos a quimioterapia [2]. Los microorganismos presentan afinidad por invadir los vasos sanguíneos, causando trombosis e infartación de los tejidos vecinos. Los pacientes presentan fiebre, seguida de infiltrados pulmonares con áreas de consolidación visibles o detectables por rayos X del tórax [9,41]. Con el tiempo los pulmones se ven más afectados por el incremento de los infiltrados; algunos autores han observado un "halo señal" (un halo de leve atenuación que aparece alrededor de los infiltrados) [36]. La Aspergilosis pulmonar puede ser causada por *A.fumigatus*, *A.terreus*, *A.flavus*, *A.niger* y *A.niveus* [44].

La forma rinocerebral ocurre posterior a la infección

pulmonar. Esta se origina en las fosas, progresando a través de tejidos blandos, cartílago y hueso, causando lesiones en la palatina, nariz y cerebro [2]. La infección puede extenderse cutáneamente y producir una desfiguración del rostro debido a la necrosis de la piel y tejidos subcutáneos. Las órbitas pueden estar involucradas en el proceso infeccioso, aunque los ojos generalmente no lo están [9]. *A.flavus* es el causante de infecciones primarias de las fosas nasales, *A.fumigatus* y *A.terreus* son agentes etiológicos raros de la Aspergilosis cerebral primaria [44].

La Aspergilosis diseminada que ocurre con frecuencia en pacientes con granulocitopenia constituye un proceso que es generalmente agudo y mortal [36,48]. Aproximadamente el 30% de las infecciones se diseminan por torrente sanguíneo llegando a involucrar cualquier órgano del cuerpo [9]. En dos terceras partes de los casos se afecta el cerebro y el riñón; es frecuente que exista hematuria y obstrucción del tracto urinario. La afección del S.N.C. se caracteriza por cefalea, convulsiones y signos focales. Generalmente la autopsia revela endocarditis, la que pudo haber provocado signos y síntomas como fiebre, soplos cardíacos, embolias periféricas, esplenomegalia e insuficiencia cardíaca [9,48]. *A.flavus* es el agente más común de enfermedad diseminada, aunque también se pueden aislar *A.fumigatus*, *A.nidulans*, *A.niger* y *A.terreus*, entre otros [44].

3.4. Zigomicosis

La zigomicosis (antes denominada mucormicosis o ficomicosis) es el nombre de un grupo de enfermedades provocadas por diversas especies de hongos clasificados en la clase Zigomicetes, subdivisión Zigomicotina, división Amastigomycota del reino Fungi. En ciertos pacientes inmunocomprometidos estos hongos considerados saprófitos, producen una enfermedad infecciosa aguda y muchas veces mortal. Recientemente se han descrito casos de zigomicosis con mayor frecuencia en pacientes con enfermedades hematológicas malignas, trastornos del tejido conectivo y trasplante de órganos. Con cierta frecuencia estos pacientes habían ingerido glucocorticoides y otros agentes inmunosupresores antes del desarrollo de la infección [26,41].

Los zigomicetos tienen una distribución geográfica cosmopolita, principalmente en los climas cálidos y húmedos. Normalmente se detectan sobre materia orgánica en descomposición, en el suelo y como contaminante en los laboratorios [10]. Los géneros *Rhizopus*, *Absidia* y *Mucor* pertenecientes al orden Mucorales, son con frecuencia los que provocan enfermedad en el hombre [26]. Las colonias que forman son indistinguibles a simple vista, se desarrollan entre 48 y 72 hrs.; al inicio forman micelios hialinos aéreos algodonosos y tienden a llenar los tubos y cajas de Petri, posteriormente se tornan café oscuro o grisáceo, al reverso no presentan pigmentación. Los mucorales poseen

hifas macrosifonadas, cenocíticas de 10-20 μ m de diámetro. Las estructuras fructíferas incluyen una vesícula semejante a un saco llamado esporangio, dentro del cual se producen las esporas, de forma esférica, amarillas o doradas, denominadas esporangiosporas. Cada esporangio esta soportado por una hifa denominada esporangióforo; el esporangióforo termina en una protuberancia globosa llamada columnella la cual está encerrada dentro del esporangio y da origen a las esporangiosporas. Algunas especies producen estructuras semejantes a raíces denominadas rizoides. Los esporangióforos que surgen a partir del estolón opuesto a los rizoides son denominados nodal y los que surgen entre los rizoides son denominados internodal. *Rhizopus* forma rizoides y el esporangio está derivado nodalmente; *Absidia* también produce rizoides, sin embargo los esporangioforos son derivados internodalmente; *Mucor* no produce rizoides [29]. No se consideran patógenos y no existe demostración alguna de que la enfermedad en el hombre se origine en forma endógena o por reactivación de una infección latente. La infección se adquiere por la inhalación de las esporas del aire, y algunas veces la inoculación traumática del microorganismo dentro de la piel, generando los casos rinocerebrales y pulmonares; así como cuadros de hipersensibilidad alérgica (rinitis, alveolitis y asma) [10,26,36].

Los pacientes con Leucemia, Linfoma y neutropenia son susceptibles a la infección por los mucorales. Los

pacientes con Linfoma asociada con una diabetes no controlada, con cetosis o acidosis, así como pacientes que estan bajo tratamiento o sometidos a trasplante de órganos son susceptibles de infectarse por estos microorganismos. Se desconoce en que forma las alteraciones metabólicas del equilibrio acidobásico, la diabetes mellitus, las enfermedades hematológicas malignas, linforreticulares o la terapéutica con glucocorticoides disminuyen las defensas del huésped e incitan a los zigomicetos intrínsecamente no patógenos a que se vuelvan altamente invasivos [26,36].

El signo patológico de la zigomicosis es la invasión directa de los canales vasculares por hifas; como resultado se produce una trombosis e infarto hemorrágico de los tejidos; el microorganismo invade las paredes de los vasos, sobre todo de las arteriolas y sigue a través de la luz. El hongo invasor también utiliza los troncos nerviosos para extenderse con rapidez al sistema nervioso central y causar enfermedad; las fosas paranasales, pulmones y tracto gastrointestinal representan sitios comunes de invasión primaria. En los tejidos el microorganismo se presenta como un hongo filamentosos, en forma de cinta de 10-25 μ de diámetro que se ramifica de manera irregular. Aunque en un principio se presentan como elementos miceliales anchos, los zigomicetos también se desarrollan como clamidoconidios, los cuales pueden variar en tamaño de 5-30 μ de diámetro y pueden estar aislados o presentarse en masas de 20-30 células [26,41].

Varias especies de *Rhizopus* entre ellos *R.oryzae* y *R.rhizopodiformis* se han descrito recientemente como causa de mucormicosis en humanos. La forma más frecuentemente observada es una infección rinocerebral. Reinhard y colb. demostraron en conejos y Kitz et. al. en ratones tratados con cortisona y en animales normales que otras especies de mucorales termotolerantes incluyendo *R.oligosporus*, pueden causar infecciones fatales en animales de experimentación [54].

3.5. Otras micosis no comunes

El huésped inmunocomprometido está a merced de cualquier microorganismo si sus defensas son disminuidas o dañadas por otros factores. Esto es evidente por el número de infecciones reportadas que han sido causadas por microorganismos no considerados patógenos bajo circunstancias normales [36].

La Criptococcosis, causada por la levadura capsulada *C.neoformans*, ocurre como una enfermedad primaria en individuos normales, aproximadamente 30% de los casos se presenta en pacientes con linfoma. La infección comienza en los pulmones, sin embargo, la diseminación es frecuente en estos pacientes, y la infección del sistema nervioso central es un hecho común. Otros órganos involucrados en una infección diseminada incluyen hígado, riñones, bazo, glándulas suprarrenales, hueso y piel [9]. La meningitis o meningoencefalitis es la presentación más común de la

infección por *C.neoformans* en huéspedes comprometidos; los síntomas son: dolor de cabeza, vértigo, náuseas y vómitos; los signos físicos consisten en fiebre, meningitis, estupor, incremento en la presión intracraneal y alteraciones neurológicas focales [9,36].

En el huésped inmunocomprometido infecciones cutáneas tales como lesiones nodulares, celulitis, foliculitis, ó abscesos subcutáneos generalizados son producidos por los hongos *Exophiala jeanselmei* [36], *Alternaria* sp. [2,9], *Faecilomyces lilacinum*, *Malassezia furfur* [36] y *Penicillium* sp. [2,36]. Otros hongos reportados incluyen a *Curvularia* sp. [2,3], *Cunninghamella* sp., *Torulopsis pintolopesii* [3], *Aureobasidium pullulans* [36], *Rhodotorula* sp., *Geotrichum candidum* [3] además de *Dreschlera*, *Bipolaris* y *Exserohilum* como agentes etiológicos de infecciones nasofaríngeas, neumonía, fungemia y diseminados [36].

A esta lista deben agregarse los patógenos dimórficos: *H.capsulatum*, *B.dermatitidis*, *C.immitis*, *S.schenckii* y *P.brasiliensis*. Anteriormente estas infecciones eran asociadas a pacientes inmunocompetentes, pero ahora se han incrementado en pacientes con Leucemia y SIDA que reciben corticosteroides por tiempos prolongados [9,36,53].

En las infecciones fúngicas de los pacientes inmunocomprometidos cualquier microorganismo puede ser considerado un agente etiológico potencial. Esto requiere que el laboratorio de microbiología identifique y reporte

los hongos obtenidos de las muestras clínicas (incluyendo los considerados saprófitos) para que el médico o especialista valore su significado [3,36].

4. PREVENCIÓN

Un aspecto de enorme interés es la prevención de las infecciones en los pacientes cancerosos sometidos a tratamientos intensivos con medicamentos mielosupresores. Los conceptos para prevenir las infecciones fúngicas en estos pacientes incluyen tres aspectos:

- a) medidas generales para prevenir la adquisición de patógenos y oportunistas fúngicos
- b) estrategias para controlar la colonización fúngica
- c) la reducción o eliminación de procedimientos predisponentes a la infección (18,27).

El primer punto para la prevención en la adquisición de infecciones fúngicas está enfocado hacia el ambiente inmediato del paciente. La enseñanza, educación e instrucciones repetidas al paciente, a los miembros de la familia y al personal del hospital, como los camilleros, enfermeras, dietistas, etc., en relación con reglas de higiene básicas tales como el lavado cuidadoso de las manos, óptima limpieza dental (particularmente en pacientes con dentadura postiza) y control estricto en el consumo de los alimentos, que deben ser cocidos e ingeridos con baja concentración microbiana [27,33].

Se puede instituir medidas preventivas para el control de la contaminación ambiental. Estas maniobras son unicamente efectivas en la prevención de infecciones causadas por hongos del aire, tales como *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor* etc. La concentración de esporas de *Aspergillus* en el medio ambiente puede reducirse eliminando las macetas de los hospitales [2,27,49]. También se han realizado investigaciones para evaluar la eficacia de equipos de flujo laminar colocados en las habitaciones de los pacientes para reducir las infecciones por *Aspergillus*. Este equipo contiene filtros de aire que retienen partículas menores a 0.3 micrómetros lo cuál se traduce en una reducción drástica de la Aspergilosis y de las esporas, sin embargo su alto costo restringe su uso a pacientes cuidadosamente seleccionados [27].

Uno de los pasos más importantes en la prevención de la infecciones oportunistas es la reducción o eliminación de prácticas predisponentes. Estas medidas limitan el uso de procedimientos agresivos, tales como la colocación de catéteres venosos y/o urinarios que en ocasiones son necesarios para el diagnóstico o tratamiento adecuado del paciente [33].

Los hongos oportunitas también han sido recuperados a partir de plantas de heroína; el uso ilícito de drogas es una fuente exógena importante de las infecciones fúngicas en pacientes susceptibles. Se ha reportado fungemia en un paciente quien regularmente ingería tabletas de levadura,

lo que sugiere que las prácticas aparentemente inofensivas pueden ser de gran peligro en los pacientes inmunocomprometidos [2].

5. DIAGNOSTICO DEL LABORATORIO

Si bien las infecciones fúngicas son frecuentemente sospechadas, el diagnóstico clínico es extremadamente difícil, ya que los signos y los síntomas son mínimos y en la mayoría de los casos la infección por hongos se determina post-mortem. Para establecer el diagnóstico es necesaria la combinación del cultivo y del examen histológico [34,43,53]. Los métodos serológicos para la determinación de antígenos o anticuerpos son aceptados para algunos hongos tales como *H.capsulatum* y *Cryptococcus neoformans* [27].

El significado de un cultivo positivo sin una verificación histológica, depende principalmente del origen de la muestra. Los cultivos positivos de fluidos estériles, como líquido cefalorraquídeo y sangre son indicativos salvo que se compruebe lo contrario. Por otro lado, el aislamiento de *Candida* y/o *Aspergillus* a partir de muestras no estériles, tales como expectoración, exudado faríngeo y vaginal, raspados de piel ó evacuaciones tiene poco valor diagnóstico y regularmente son mal interpretadas; sin embargo para algunos hongos existe correlación entre la colonización persistente del fluido biológico o secreción no estéril y la enfermedad invasiva [8,27]. Algunos autores

han concluido por observaciones previas que cultivos positivos repetidos de un tipo de muestra o de diferentes sitios, puede indicar una infección sistémica en el paciente [25,31].

Los cultivos de vigilancia de infección fúngica son utilizados como verificadores importantes de micosis invasivas ó diseminadas [27,47,57]. En un estudio de pacientes con Leucemia y trasplante de médula ósea, *C.albicans* fue aislada de cultivos de vigilancia en 67% de los pacientes, pero unicamente causó infección en un 5%, sin embargo, *C.tropicalis* fue aislada tan sólo en un 28% de los pacientes, pero causó infección diseminada en un 56% [9]. La utilidad de los cultivos de vigilancia para las especies de *Aspergillus* aún no se confirma, ni su uso en patógenos poco comunes como *T.beigelli* donde los resultados no son claros [57].

Las medidas útiles para la detección rápida e identificación de los hongos incluye la demostración microscópica de los elementos fúngicos en la muestra clínica. Uno de los métodos más utilizados y disponibles para la localización de hongos en la muestra clínica es la preparación con hidróxido de potasio (KOH) al 20%. Básicamente, una porción de la muestra clínica es mezclado con 1-2 gotas de KOH sobre un portaobjetos, y cubierta con un cubreobjetos. Algunos elementos y artefactos sobre el fondo del portaobjetos, dificultan la interpretación llegando a disminuir la sensibilidad de la técnica, pero

cuando el exámen es positivo, el método da una evidencia rápida de infección fúngica. Actualmente, varias tinciones fluorescentes con alta afinidad a la celulosa o la quitina contenida en la pared celular de los hongos, han sido aplicadas en la tinción de elementos fúngicos. Uno de estos aclaradores fluorescentes, es el blanco de Calcofluor [29,36], el cual ha sido recomendado para usarse en las preparaciones con KOH. Este reactivo fluoresce por excitación con luz ultravioleta coloreando a los hongos, y dando luego una exhibición fluorescente la que puede ser detectada microscópicamente. El tejido también puede ser teñido con blanco de Calcofluor y los resultados son inmediatamente observables. Este método muestra la misma sensibilidad que la técnica con KOH, pero permite una detección fácil y rápida de los elementos fúngicos. Las tinciones con blanco de Calcofluor pueden ser también examinadas en campo luminoso o por microscopía en contraste de fases. Otro aclarador fluorescente es el Rojo-Congo [51], que ha demostrado ser eficaz en la tinción de hongos en tejidos fijos con parafina, por tener afinidad a la celulosa y mostrar un intenso rojo fluorescente.

La tinción de Gram es útil para la detección de levaduras como *Candida sp.*; el montaje en tinta china para la identificación de células levaduriformes capsuladas de tamaño irregular de *Cryptococcus neoformans* en líquido cefalorraquídeo es uno de los métodos más comunmente utilizados para los exámenes directos [29]. La técnica con

tinta china se puede emplear en muestras de líquido pleural, sinovial, peritoneal y pericárdico. La tinción de Wright o Giemsa permiten la detección de *H.capsulatum* en médula ósea ó frotis de sangre periférica. La tinción del Papanicolaou, además de detectar células malignas, también detecta hongos como *B.dermatitidis*, *C.neoformans*, *C.immitis*, además de hifas de *Aspergillus* y de Zigomicetos, incluyendo *Rhizopus* y *Mucor sp* [36].

El cultivo de la muestra clínica es un recurso importante para detectar el agente etiológico causante de la infección. Debe usarse un juego de medios de cultivo para aumentar las posibilidades de aislamiento. El principio general, es que al menos uno de los medios contenga cicloheximida como Micosel o Micobiotic agar para inhibir hongos de crecimiento rápido que pueden cubrir el desarrollo de hongos dimórficos y otros de lento crecimiento. Es necesario incluir también medios como Sabouraud-dextrosa agar y Papa-dextrosa agar que no contenga este antibiótico ya que inhibe a hongos oportunistas como *Candida*, *C.neoformans*, *A.fumigatus*, etc. La utilización de infusión-cerebro-corazón agar suplementado con 5-10% de sangre de carnero, ayuda en la recuperación de hongos exigentes como *H.capsulatum*. Debido a que la mayoría de las muestras sometidas al cultivo de hongos están contaminadas con bacterias, es necesario el empleo de agentes antimicrobianos para reducir o inhibir su crecimiento [3,36].

Actualmente se recomienda incubar todos los cultivos fúngicos a una temperatura de 25° a 30°C [3]. Todo hongo aislado de un cultivo primario que se presume dimórfico puede cultivarse en otro tubo con medio de cultivo rico e incubarse secundariamente a 37°C para convertirlo a la fase de levadura. Todos los cultivos deben incubarse un mínimo de 25-30 días antes de ser descartados como negativos [29].

La fungemia esta asociada con la infección oportunista, y en muchos casos los cultivos de sangre sugieren la etiología. El tiempo de detección depende de la densidad del inóculo y de la velocidad de crecimiento del microorganismo [9,24]. El empleo de un equipo especial que incluye lisis y centrifugación de la sangre ha reducido el tiempo de detección del hongo, además de ser superior al medio bifásico de infusión-cerebro-corazón y al sistema Septichek de Roche, por lo cual se debe considerar su uso en los laboratorios [36].

Una vez que se presenta crecimiento de hongos en los cultivos, la identificación del agente se hace primeramente por observación de las características morfológicas macroscópicas y microscópicas y en el caso de hongos dimórficos también por la conversión de mohos a levaduras. Para la identificación de otras levaduras, se utilizan pruebas rápidas que permiten de manera general clasificarlas en género y en ocasiones hasta especie, como en el caso de *C.albicans*. Por último se realizan pruebas confirmativas para la identificación completa del agente

etiológico [36].

Actualmente con el incremento de las infecciones fúngicas oportunistas, se han desarrollado sistemas comerciales automatizados y manuales para la identificación rápida de los microorganismos en comparación con los procedimientos tradicionales que son técnicamente más complejos y tardados [17]. Los componentes básicos de los sistemas actuales comerciales y tradicionales para la identificación de levaduras es la asimilación y/o fermentación de carbohidratos, el mismo criterio que ha sido usado por casi 100 años para diferenciar e identificar levaduras [46].

Entre los sistemas más utilizados están el API 20C para la identificación de levaduras en 72 hrs., mediante pruebas de asimilación de carbohidratos exclusivamente. Además se ha introducido un sistema para la identificación de levaduras clínicamente importantes con aproximación numérica (perfil) mediante computadora. El sistema API 20C ha dado identificaciones correctas hasta en un 98% de los aislamientos estudiados, resultados comparables a los obtenidos por métodos tradicionales. El empleo de otras pruebas sencillas presuntivas en la identificación de algunas especies deben ser ejecutadas de manera complementaria. El sistema API 20C es uno de los métodos más efectivos y constituye una ayuda válida, rápida y simple para la identificación de levaduras más frecuentemente aisladas en el laboratorio [15].

Otros sistemas comerciales también utilizados con buenos resultados son: Abbott Yeast Identification System (Abbott YDS), BBL Minitex Yeast System y Uni-Yeast-Tek (UYT), los cuales consisten de pruebas bioquímicas, obteniéndose resultados en un período de 3-7 días, con un nivel aceptable de exactitud [17,46].

Otra alternativa para la identificación de levaduras de importancia médica, es el uso de sustratos cromógenos para evaluar la actividad enzimática en sólo cuatro horas de incubación evitando así el problema de la impureza de los carbohidratos los cuales frecuentemente provocan falsos-positivos en los sistemas de identificación tradicional. Basándose en estos estudios, el API recientemente introdujo el sistema Yeast Ident (YI) como el primer producto comercial en donde las levaduras de importancia clínica son identificadas únicamente por su actividad enzimática [46].

Cada uno de estos métodos presenta tanto ventajas como desventajas, por ejemplo el tiempo de incubación, errores de interpretación, número de pruebas que contenga, etc.; sin embargo el microbiólogo en un momento dado puede usar cualquiera de ellos para la identificación de levaduras en función de sus necesidades y las del laboratorio.

Se han desarrollado una gran variedad de pruebas inmunológicas para detectar anticuerpos, antígenos y productos metabólicos en el suero de los pacientes infectados mediante pruebas de aglutinación, precipitación y de anticuerpos fluorescentes para las especies de *Candida*

[6,8]. La precipitación de anticuerpos ha sido demostrada por difusión en gel y por contraímmunoelectroforesis; recientemente se han empleado otras pruebas como inhibición de hemaglutinación, radioinmunoensayo e inmunoabsorbancia de acoplamiento enzimático. La cromatografía de gas-líquido ha sido usada para detectar productos metabólicos circulantes de *Candida* tales como D-arabitol y manosa [8].

El diagnóstico serológico en Aspergilosis es mediante la precipitación de anticuerpos por pruebas de inmunodifusión utilizando antígenos de *A. fumigatus*, *A. flavus* y *A. niger*. Las precipitinas están presentes en aproximadamente el 70% de los pacientes con Aspergilosis pulmonar y en el 95% de los pacientes con Aspergiloma [36].

Las pruebas serológicas para el diagnóstico de la Zigomicosis aún no son realizadas en el laboratorio clínico [9]. Sin embargo, existe un reporte que describe un caso de Zigomicosis sistémica diagnosticado por aspiración percutánea de un absceso periférico y confirmada con un inmunoensayo enzimático que detectó anticuerpos humorales. La detección rápida del microorganismo en una muestra clínica por observación microscópica directa, estudio histopatológico de biopsia y el cultivo son actualmente recursos importantes para realizar el diagnóstico de esta infección [36].

En el diagnóstico de la Trichosporonosis, se reporta que *T. beigelli* produce un antígeno estable al calor, similar a los determinantes antigénicos del polisacárido

capsular de *C.neoformans*. La prueba de aglutinación con partículas de latex para detectar antígeno criptococal ha resultado positiva con el suero de los pacientes que presentan trichosporonosis diseminada. La detección de antigemia puede correlacionarse con enfermedad invasiva en pacientes donde los cultivos de vigilancia de muestras de piel, expectoración, excremento u orina son positivos a *T.beigelli* [36].

Todos estos procedimientos presentan problemas importantes: la detección de anticuerpos en pacientes inmunocomprometidos ayudan poco en el diagnóstico porque la respuesta humoral es baja ó esta ausente, resultando falsos-negativos, también puede confundir entre una infección superficial y sistémica [2]. En las infecciones por *Candida* la concentración elevada en suero de D-arabitol no es una prueba específica, ya que también puede ser detectada en pacientes con daños renales [8].

Estos procedimientos serológicos sólo se realizan en algunos laboratorios interesados en complementar el diagnóstico y conocer el pronóstico del paciente ó en instituciones con fines de investigación, sin embargo en la mayoría de los laboratorios clínicos no son utilizados en forma rutinaria.

II. FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA

Las infecciones originadas por hongos oportunistas son en su mayoría la causa de muerte en pacientes con enfermedades malignas. La susceptibilidad a la infección puede ser atribuida en gran parte al proceso maligno presente y algunas veces como consecuencia de las medidas terapéuticas, debido a que en ambos casos se afecta la integridad inmunológica del paciente. El incremento de las infecciones oportunistas esta relacionado a un continuo y acelerado cambio social, como resultado del desarrollo económico, la industrialización y la urbanización, lo que influye marcadamente sobre las costumbres, condiciones de vida, condiciones ambientales y principalmente en la salud de la población; esta modernización ha dado origen a enfermedades cada vez más complejas, una de ellas es el cáncer. En los pacientes cancerosos la invasión por hongos oportunistas también se ve favorecida por otros factores tales como:

- a) Administración de antibióticos de amplio espectro
- b) Quimioterapia y Radioterapia
- c) Hipogamaglobulinemia
- d) Debilitación crónica y desnutrición
- e) Uso de catéteres para la quimioterapia y la alimentación parenteral
- f) Cirugías prolongadas, etc.

Al presentarse los factores anteriores, no solo se

favorecen las infecciones por hongos oportunistas, sino que se propician circunstancias favorables para el desarrollo e incremento de enfermedades por hongos patógenos primarios con una mayor agresividad o severidad en la infección.

Las micosis causadas por oportunistas son originadas por hongos saprofiticos inócuos para el hombre en condiciones normales y con los cuales se encuentra en contacto diariamente. Los agentes etiológicos involucrados en estas infecciones son numerosos, pero los que mayormente participan en las infecciones de los pacientes cancerosos son: *Candida*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium*, *Trichosporon*, *Torulopsis*, *Rhodotorula* y *Cryptococcus*.

Las infecciones causadas por este tipo de microorganismos ocurre en un 20-25% de pacientes con Leucemia aguda y neutropenia severa y en un 5% en pacientes con otras enfermedades hematológicas. La constante aparición de este tipo de infección en los pacientes oncológicos es difícil de diagnosticar y la autopsia resulta ser un parámetro muy limitado y selectivo, ya que no se les realiza a todos.

Debido a que en otros países se han desarrollado estudios de investigación sobre el tema y en el nuestro existen escasos trabajos publicados al respecto, es importante investigar cuales son los hongos oportunistas causantes de infección que se presentan con mayor

frecuencia en pacientes con cáncer de nuestro medio.

Es de vital importancia que las pruebas de laboratorio empleadas para el aislamiento e identificación de hongos oportunistas en muestras clínicas de pacientes con cáncer sean las más adecuadas para obtener un diagnóstico oportuno de la micosis asociada al proceso maligno y para que el clínico pueda administrar los antifúngicos más apropiados en el tratamiento y/o prevención de diseminación de la infección, proporcionando al paciente una mejor forma de vida, reduciendo el índice de morbilidad y mortalidad de infecciones producidas por hongos oportunistas.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las infecciones originadas por microorganismos oportunistas generalmente se presentan en pacientes con enfermedades que comprometen el sistema inmunológico, dentro de este grupo es de particular interés el estudio de pacientes con cáncer, entre otros. El cáncer es una enfermedad de las células caracterizada por una disminución o pérdida de la efectividad de los mecanismos normales de control y maduración celular. Al haber un comportamiento anormal de las células se presenta la enfermedad en el paciente, así como el desarrollo de complicaciones, como lo son las enfermedades infecciosas de todo tipo: bacterianas, virales, parasitarias o micóticas.

En la presente investigación se enfatiza sobre las infecciones producidas por hongos oportunistas en pacientes con diferentes tipos de cáncer, debido a que es fácil que estos microorganismos lleguen a invadir distintos sitios anatómicos causando frecuentemente una infección localizada la que posteriormente puede convertirse en una infección sistémica, que llega a provocar la muerte en la mayoría de los pacientes. Muchas de estas infecciones son de difícil diagnóstico clínico porque los signos y los síntomas son mínimos en estos pacientes y con frecuencia la infección es diagnosticada post-mortem. Así uno de nuestros objetivos es apoyar al médico con el diagnóstico del laboratorio de las infecciones micóticas en estos pacientes, para mejorar la perspectiva de vida de los mismos.

IV. OBJETIVOS:

1. Aislar e identificar hasta especie los hongos oportunistas causantes de infección en pacientes con diferentes tipos de cáncer.

2. Determinar la frecuencia de las infecciones fúngicas en relación con el tipo de cáncer y el agente etiológico aislado.

3. Contribuir a establecer el diagnóstico preciso de las infecciones causadas por hongos oportunistas.

V. HIPOTESIS

Debido a que el inmunocompromiso de los pacientes con cáncer es diferente de acuerdo a la ubicación y malignidad del mismo, se encontrarán diferentes tipos de infección causadas por hongos oportunistas asociadas a la enfermedad; su estimación permitirá establecer la forma idónea para el diagnóstico de las infecciones, ayudando a tomar las medidas profilácticas y curativas más adecuadas para los pacientes.

VI. PARTE EXPERIMENTAL**1. MATERIAL Y EQUIPO****A. APARATOS**

Refrigerador 4°C

Incubadoras 28°C, 37°C (Riessa M.R. EC serie
EC.ME)

Microscopio óptico (ZEISS)

Balanza granataria (OHAUS M.R.)

Balanza analítica (METLER)

Olla de presión (Presto M.R. Mod. 21L.)

B. MATERIAL

Cajas de petri (plástico y vidrio)

Tubos de ensayo (13X100, 16X150, 18X150)

Tubos de tapón de rosca (13X100, 16X150)

Pipetas Pasteur

Portaobjetos

Cubreobjetos

Matraces Erlenmeyer (100, 250, 500 ml)

Probetas (50, 100, 500 y 1000 ml)

Pipetas graduadas (1, 5, 10 ml)

Asas bacteriológica y micológica

Pinzas de disección

Gradilla

Tijeras

Espátula (plástico y acero inoxidable)

Algodón

Mechero (Bunsen, Fisher)

C. MATERIAL BIOLÓGICO

Suero humano fresco

Cepas de colección de: *Candida albicans*

Trichosporon beigelli

D. MEDIOS DE CULTIVO

Agar Mycobiotic (Difco)

Agar de Sabouraud-dextrosa (Bioxon)

Caldo Sabouraud (Bioxon)

Clamidosporas agar (Difco)

Papa-dextrosa agar (preparado en el lab.)

Sistema Comercial API 20C Equipo completo (Merck)

E. REACTIVOS

KOH (J.T. Baker Reactivo)

HCl (J.T. Baker Reactivo)

Glicerol (J.T. Baker Reactivo)

Formol (Productos Químicos Monterrey)

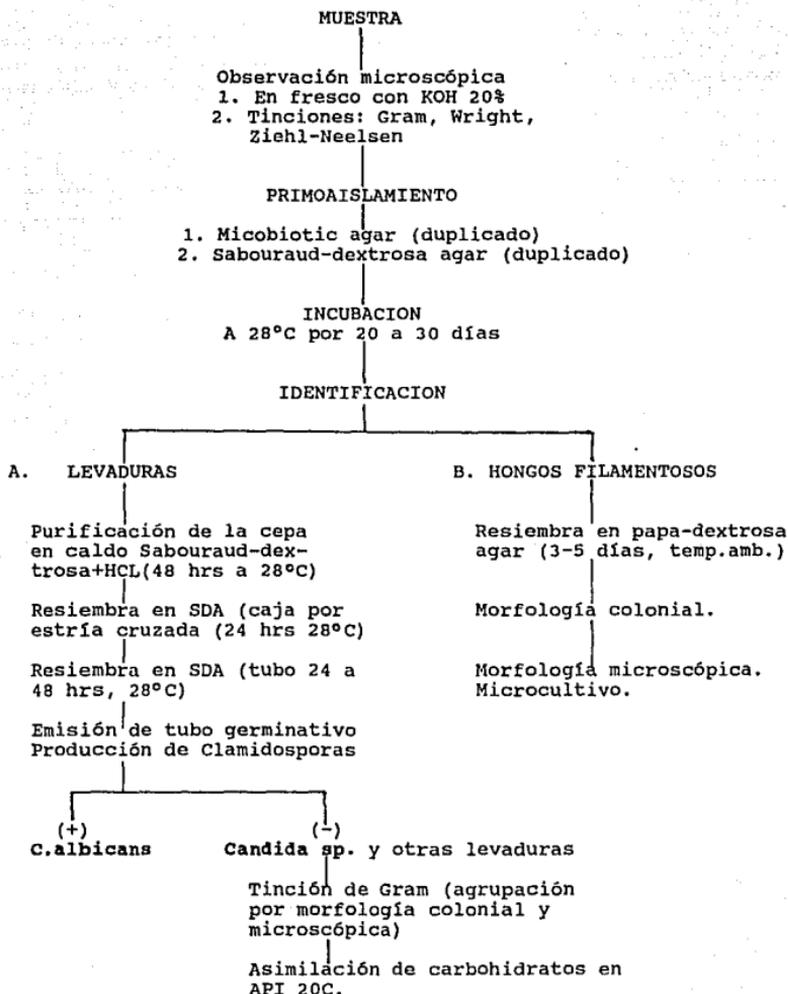
NaCl (Productos Químicos Monterrey)

2. METODO

Las muestras de los pacientes cancerosos fueron obtenidas y procesadas en el laboratorio de Microbiología del C.M.N. siglo XXI IMSS. El período de recolección de estas muestras comprendió de Junio a Noviembre de 1991. Las muestras fueron sembradas en los medios de cultivo utilizados para el primoaislamiento de hongos, además de realizar preparaciones en fresco con KOH al 20% y tinciones fijas como Gram y Wright para la observación microscópica de elementos fúngicos; sólo en algunas ocasiones fue empleada la tinción de Ziehl-Neelsen.

Los medios sembrados fueron puestos a temperatura ambiente (en el mismo laboratorio) hasta observar el crecimiento de las colonias en un lapso de 20-30 días. Los cultivos que presentaron crecimiento, fueron trasladados al laboratorio de Micología "Dr. Antonio González Ochoa" del Departamento de Microbiología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politecnico Nacional para ser identificadas en género y especie.

METODOLOGIA PARA EL DIAGNOSTICO MICOLOGICO



4. PROCEDIMIENTO

Una vez realizada la toma de muestra, éstas fueron trasladadas al laboratorio de Microbiología del mismo hospital para su proceso.

I. Observación microscópica de la muestra

a) En fresco con KOH 20%

En un portaobjetos se coloca una gota de KOH y una pequeña porción de la muestra, se coloca un cubreobjetos sobre la preparación y se observa al microscopio en seco débil (10X) y seco fuerte (40X).

b) Tinciones fijas

Se aplicaron las técnicas de Gram en muestras de exudado faríngeo, secreción paladar, expectoración, secreción de heridas quirúrgicas y orinas; Wright en muestras de sangre y Ziehl-Neelsen en algunas muestras de expectoración. Sobre un portaobjetos se hace un frote de la muestra de aproximadamente 1 cm, se deja secar al aire y se fija al calor. Se aplican las técnicas antes mencionadas y se observa con objetivo de inmersión.

II. Primoaislamiento de los hongos

a) Cultivo de la muestra

Las muestras fueron sembradas por duplicado en tubos de 16X150 con tapón de algodón y medios de Micobiotic agar y Sabouraud-dextrosa agar; las muestras líquidas son sembradas con ayuda de una pipeta Pasteur estéril y las muy espesas con el asa bacteriológica haciendo una estría sobre la superficie del medio.

Las muestras de punta de catéter se sembraron de la siguiente forma: con la ayuda de unas pinzas estériles, se toma el catetér y se hacer rodar varias veces sobre la superficie del agar.

b) Los tubos y las cajas ya inoculados se incubaron a 28° C, examinando el crecimiento cada 24 hrs hasta 20-30 días. Cuando hubo crecimiento de hongos, éstos se trasladaron al lab. de Micología de la E.N.C.B. del I.P.N.; observando su desarrollo (levaduriforme o filamentoso). Los cultivos fúngicos que presentaron colonias bacterianas a su alrededor fueron resembradas en otro tubo con medio limpio incubando a 28 C o temperatura ambiente. Posteriormente se procedió a la identificación de los cultivos.

III. Identificación

A. Levaduras

1. Pureza del cultivo

-Colocar en un portaobjetos una gota de agua estéril y una pequeña porción del cultivo. Homogenizar y colocar un cubreobjetos.

-Observar al microscopio en 10X y 40X.

Los cultivos que presentaron bacterias asociadas fueron purificados con HCl 1N de la siguiente manera:

-Sembrar un inóculo ligero de la levadura en una serie de 6 tubos cada uno con 5 ml de caldo Sabouraud.

-Adicionar una gota de HCl 1N en el primer tubo, dos gotas en el segundo tubo y así sucesivamente hasta el sexto tubo al cual se añaden 6 gotas de HCl 1N; agitando levemente después de haber adicionado el ácido.

-Incubar a 37°C por 48 hrs.

-Tomar una asada del tubo con mayor número de gotas que presente crecimiento de la levadura (turbidez) y sembrar en una caja de Petri con Sabouraud-dextrosa agar por estría cruzada para aislamiento de colonias.

-Incubar a 28°C por 48 hrs.

-De una colonia aislada, tomar una asada y sembrar en un tubo con Sabouraud-dextrosa agar.

-Incubar a 28°C por 24-48 hrs.

-Verificar la pureza de los cultivos.

2. Morfología colonial

Es descrita tomando en cuenta lo siguiente: aspecto, forma, color y textura.

3. Pruebas rápidas para la identificación de C.albicans

a) Emisión de tubo germinativo

Para esta prueba se emplearon cultivos de 48 hrs de crecimiento.

-En un tubo de ensayo de 13X100 colocar aproximadamente 0.5-0.8 ml de suero humano fresco.

-Con el asa depositar un pequeño inóculo de la colonia (leve turbidez del suero); agitar levemente.

-Incubar a 37°C por 3 hrs. Correr un testigo de una cepa tipo de C.albicans.

-Durante la incubación de los tubos, agitar de vez en cuando.

-Al término del tiempo, hacer una preparación (suero-levadura), colocando una gota de la suspensión sobre un portaobjetos, colocar un cubreobjetos sobre la preparación.

-Observar al microscopio en 10X y 40X en busca de tubos germinativos.

b) Producción de clamidosporas

Para esta prueba se empleo el medio de clamidosporas agar en caja de Petri.

En cada caja se sembraron 3 cepas problema y un testigo positivo de C.albicans. La técnica consistio en:

-Tomar una pequeña asada del cultivo e inocular el medio

sumergiendo el asa y trazando una línea horizontal de aproximadamente 1-2 cm.

-Enseguida flamear el asa, enfriar y estriar sobre el primer inóculo en forma de zig-zag abierto a manera de signo de pesos (\$).

-Colocar sobre el inóculo un cubreobjetos previamente esterilizado. El mismo procedimiento se efectúa con las demás cepas incluyendo el control positivo.

-Incubar a temperatura ambiente ó a 28°C durante 24-48 hrs. Examinar al microscopio (10X y 40X) de la siguiente manera:

-Retirar la tapa a la caja y colocar el objetivo 10X sobre el cubreobjetos de la preparación.

-Localizar el crecimiento de la levadura y las clamidosporas; posteriormente si se desea se cambia con mucho cuidado a objetivo 40X.

4. Pruebas de asimilación de Carbohidratos para identificación de otras especies de Candida y otros géneros de levaduras.

a) Similitud de los cultivos

Se agruparon los cultivos considerando las características macroscópicas y microscópicas semejantes aplicando la tinción de Gram.

b) Asimilación de carbohidratos en API 20C

La identificación de las cepas que no correspondieron a *C.albicans* se realizó en el sistema comercial API 20C, que consiste en pruebas de

asimilación de 19 carbohidratos.

* Preparación de la cámara húmeda

- Se distribuyen 10 ml de agua destilada dentro de los pocitos de las cámaras de incubación, para conservar una atmósfera húmeda durante la incubación.
- Se anota la clave y el nombre de la muestra en la orilla de la cámara.
- Se coloca una tira del API 20C en cada una de las cámaras.

* Preparación de la suspensión de levaduras

- Las ampulas que contienen el medio basal son colocadas dentro de un vaso ó recipiente con suficiente agua y perlas de vidrio. Se lleva a ebullición por 5min. hasta asegurar la completa licuefacción del medio.
- El recipiente con las ampulas en su interior se coloca dentro de un baño de agua fría hasta regular la temperatura a 50°C \pm 2°C.
- Se abren las ampulas y se cubren inmediatamente con las tapas de plástico incluidas en el mismo equipo.
- La suspensión de la levadura se prepara en el medio basal fundido y es ajustada a una densidad menor de +1 según la escala de Wickerham. Se utilizaron cultivos de 48-72 hrs de crecimiento en Sabouraud-dextrosa agar.

* Inoculación de las tiras

Con una pipeta Pasteur estéril se llenan completamente cada una de las cúpulas del API 20C con la suspensión de la levadura. Se adiciona una gota más sobre el nivel de las cúpulas (ligeramente convexa) para evitar errores en la interpretación de las pruebas de asimilación.

* Incubación de las tiras

Una vez hecha la inoculación de las tira se tapa la cámara húmeda y se incuba a 28°C durante 72 hrs.

* Lectura de las tiras

Se hacen lecturas a las 24,48 y 72 hrs y se anotan los resultados en las hojas de registro del mismo equipo. La cúpula 0 sirve como control negativo y la cúpula de la glucosa como control positivo con los cuales se debe comparar el resto de las cúpulas. Una vez hecha la lectura de las pruebas de asimilación y el registro de las mismas, toda la unidad se esteriliza y desecha.

* Identificación de las levaduras

La identificación de la levadura se realiza con la ayuda de un código diferencial incluido en el Sistema API 20C.

B. Hongos filamentosos

1. Rejembra del cultivo

- Con el asa micológica tomar una pequeña porción de la colonia y sembrar en Papa-dextrosa agar (PDA).
- Depositar la muestra sobre la superficie del medio.
- Incubar a 28°C ó a temperatura ambiente por 3-5 días.

2. Morfología colonial

Se describe tomando en cuenta las siguientes características: aspecto, textura, forma, color de la superficie y producción de pigmento al reverso de la colonia.

3. Morfología microscópica

Para la observación detallada de las estructuras microscópicas se aplicó la técnica de microcultivo.

- Esterilizar en el horno cajas de Petri con un portaobjeto, un cubreobjeto y una varilla de vidrio doblada en V; con unas pinzas previamente flameadas acomodar el portaobjeto y el cubreobjeto sobre la varilla de vidrio.
- Cortar con un bisturí (flameado) cuadros de 1cm por lado por 3mm de grosor del medio de cultivo (preparado en caja de Petri).
- Con el mismo bisturí colocar uno de los cuadros en el centro del portaobjetos dentro de la caja de Petri.
- Inocular con el asa, una pequeña muestra de la colonia en el centro de cada uno de los lados del cuadro del medio de cultivo.

-Con las pinzas flameadas colocar el cubreobjeto sobre el cuadro de agar, presionando ligeramente. Agregar glicerina estéril al 10% hasta cubrir la base de la caja, sin cubrir la varilla.

-Incubar a 28° C, haciendo observaciones cada 24 hrs hasta aparición de la esporulación.

-Con una pipeta Pasteur eliminar la glicerina y sustituirla por una cantidad igual de formol al 10%. Dejar actuar por 2 hrs.

-Sacar la preparación con ayuda de las pinzas y aguja de disección, separando el portaobjetos y el cubreobjetos del cuadro de agar.

-Montar las preparaciones con azul de algodón lactofenol utilizando portaobjetos y cubreobjetos nuevos, eliminando el exceso de colorante con papel absorbente.

-Sellar la preparación con barniz de uñas transparente.

-Dejar secar y observar con 10X y 40X.

VII. RESULTADOS

Se analizaron 102 muestras de pacientes adultos del hospital de oncología del C.M.N. siglo XXI; 57 pertenecieron al sexo masculino y 45 al sexo femenino; con un rango de edad de 21-76 años. Los cuadros oncológicos de los pacientes estudiados fue de nueve diferentes tipos y localización del cáncer, tales como cáncer de cabeza y cuello, de sistema digestivo, de órganos genitales, de aparato urinario y linfoma, entre otros (Cuadro I). El Cuadro II enlista los 12 tipos de muestras procesadas y el número de cada una de ellas; por ejemplo exudado faríngeo (6), expectoración (21), orina (39), sangre (5), puntas de catéter (11), etc.

En el Cuadro III se presentan las características tomadas en cuenta durante la observación microscópica de las muestras; Se consideró como muestras positivas aquellas que mostraron abundantes levaduras, presencia de levaduras y pseudomicelio o presencia de micelio verdadero. En las muestras de secreción de paladar, expectoración, secreción bronquial, secreción de heridas quirúrgicas, orinas y sangre se observó abundantes levaduras y presencia de levaduras y pseudomicelio principalmente en las de expectoración y orina; en el resto (excepto la muestra de secreción nasal) sólo fueron halladas abundantes levaduras. En cuatro muestras, una de secreción nasal y tres de expectoración, se advirtió la presencia de micelio hialino, cenocítico y septado respectivamente. En general, de las 54 muestras positivas a la observación microscópica, 25 exhibieron abundantes levaduras, 25 presencia

de levaduras y pseudomicelio y 4 micelio verdadero. No se realizó observación microscópica directa en muestras de punta de catéter.

Los resultados de la observación microscópica directa y del cultivo de las muestras reveló que ambas técnicas son importantes y complementarias (Cuadro IV); ya que en algunas muestras como secreción de paladar, exudado faríngeo, expectoración y orinas el número de cultivos positivos superó al número de observaciones microscópicas positivas. De las 102 muestras analizadas 54 fueron positivas a la observación microscópica y 73 al cultivo.

En el Cuadro V se presentan las características coloniales de los cultivos positivos evaluadas a partir de los medios Sabouraud-dextrosa agar y Papa-dextrosa agar, permitiendo la identificación preliminar de los hongos.

El Cuadro VI agrupa los hongos identificados en género y especie de los 73 cultivos positivos obtenidos. Las levaduras del género *Candida* predominaron, resaltando la especie *C.albicans*, por lo menos con un aislamiento en cada una de las muestras procesadas. En orden de importancia le siguió *C.tropicalis* principalmente en muestras de punta de catéter y de otros tipos de muestras. En orina *T.beigelli*, predominó sobre otras levaduras aisladas inclusive sobre *C.albicans*, además también fue recuperada de una muestra de expectoración. Hongos filamentosos del género *Aspergillus* y *Rhizopus* fueron aislados a partir de muestras de expectoración y de secreción nasal respectivamente.

La relación entre las muestras positivas-agente etiológico identificado y el tipo de cáncer de los pacientes es expuesta en el Cuadro VII. Del total de muestras analizadas en cada uno de los tipos de cáncer más del 50% resultaron positivas, llegando hasta un 90%, inclusive las muestras de los enfermos con padecimiento oncológico desconocido; no obstante, sólo tres muestras de los pacientes con cáncer en aparato urinario fueron positivas de un total de siete, lo que representó un 42.8%. El mayor número de aislamientos se obtuvo en las muestras de los pacientes con Linfoma (29), cáncer en cabeza y cuello (11) y en órganos genitales (9). Lamentablemente aislamientos importantes como los correspondientes a hongos filamentosos fueron obtenidos de pacientes donde no se tuvo acceso a los expedientes para investigar el padecimiento oncológico que presentaban, contando también con 15 muestras positivas.

El Cuadro VIII y la figura 1 exponen la frecuencia con que fueron aislados los hongos oportunistas en los pacientes con cáncer. Las levaduras del género *Candida* presentaron alta frecuencia, predominando *C.albicans* (29), *C.tropicalis* (15) y *C.glabrata* (8) de las seis especies identificadas (Fig. 2). Un hallazgo no esperado fue el aislamiento e identificación de 12 cepas de *T.beigelli*. De los hongos filamentosos identificados, *A.fumigatus* ocupó el primer lugar con dos aislamientos, seguido por *A.niger* y *R.nigricans* con un aislamiento cada uno. Las cuatro cepas de hongos filamentosos representaron el 5.48% de los hongos oportunistas detectados.

**CUADRO I. CARACTERISTICAS DE 102 PACIENTES ADULTOS* DEL
HOSPITAL DE ONCOLOGIA DEL C.M.N. SIGLO XXI**

TIPO DE CANCER LOCALIZACION	MASCULINO	FEMENINO	TOTAL
A. Piel	2	0	2
B. Cabeza y Cuello	13	3	16
C. Sistema Respiratorio	2	1	3
D. Sistema Digestivo	3	3	6
E. Organos Genitales	3	7	10
F. Aparato Urinario	5	2	7
G. Huesos	1	2	3
H. Linfoma	18	17	35
I. Leucemia	1	1	2
Sin datos clínicos	9	9	18
T O T A L	57	45	102

*Rango de Edad: 21-76 años

CUADRO II. MUESTRAS ANALIZADAS

TIPO DE MUESTRA	NUMERO
Exudado faríngeo	6
Secreción paladar	5
Secreción nasal	1
Expectoración	21
Secreción bronquial	4
Secreción de heridas quirúrgicas	5
Orina	39
Exudado cervicovaginal	3
Secreción uretral	1
Sangre	5
Materia fecal	1
Punta de catéter	11
T O T A L	102

CUADRO III. CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS OBSERVADAS EN LAS MUESTRAS ANALIZADAS

MUESTRA	No. DE MUESTRA	OBSERVACION MICROSCÓPICA DIRECTA		C A R A C T E R Í S T I C A S		
		(+)	(-)	ABUNDANTES LEVADURAS	PRESENCIA DE LEVADURAS Y PSEUDOMICELIO	PRESENCIA DE MICELIO VERDADERO
Ex.faríngeo	6	3	3	3	-	-
Secr.paladar	5	3	2	2	1	-
Secr.nasal	1	1	-	-	-	1*
Expectoración	21	14	7	3	8	3**
Secr.bronquial	4	3	1	2	1	-
Heridas quirúrgicas	5	4	1	2	2	-
Orinas	39	20	19	9	11	-
Ex.cervicovaginal	3	2	1	2	-	-
Secr.uretral	1	1	-	1	-	-
Sangre	5	2	3	-	2	-
Materia fecal	1	1	-	1	-	-
T O T A L	91	54	37	25	25	4

* Micelio hialino cenocítico

** Micelio hialino septado

Las muestras de punta de catéter no fueron examinadas

CUADRO IV. RESULTADOS DE LA OBSERVACION MICROSCOPICA Y CULTIVO DE 102 MUESTRAS ANALIZADAS

MUESTRA	No. DE MUESTRA	OBS. MICROSCOPICA DIRECTA POSITIVA A HONGOS		CULTIVO POSITIVO A HONGOS	
		No.	%	No.	%
Exudado faríngeo	6	3	50.0	4	66.6
Secreción paladar	5	3	60.0	2	40.0
Secreción nasal	1	1	100.0	1	100.0
Expectoración	21	14	66.6	17	80.0
Secreción bronquial	4	3	75.0	3	75.0
Secreción de heridas quirúrgicas	5	4	80.0	4	80.0
Orina	39	20	51.2	24	61.5
Exudado cervico-vaginal	3	2	66.6	2	66.6
Secreción uretral	1	1	100.0	1	100.0
Sangre	5	2	40.0	4	80.0
Materia fecal	1	1	100.0	1	100.0
Punta de catéter	11	-	---	10	90.9
T O T A L	102	54	52.9	73	71.5

CUADRO V. CARACTERISTICAS COLONIALES DE LOS CULTIVOS POSITIVOS A HONGOS REALIZADO EN MEDIOS DE SDA* Y PDA**

HONGOS	TIEMPO DE CRECIMIENTO (DIAS)	CARACTERISTICAS DEL CULTIVO A TEMPERUTURA AMBIENTE
Candida sp.	3-4	Colonia generalmente blancas cremosas o amarillentas, planas, lisas aunque algunas se presentaban rugosas, suaves, brillantes a opacas y secas.
Trichosporon sp.	4-6	Colonias blanco amarillentas, membranosas, secas, cerebriformes. No presentaron pigmentación.
Aspergillus sp.	3-5	Se observaron dos tipos de colonias 1) colonias aterciopeladas, inicialmente blancas, posteriormente de color gris verdoso sobre la superficie y el reverso amarillento. 2) colonia de aspecto granuloso; inicialmente blanco-amarillento y posteriormente de color negro sobre la superficie.
Zigomicetes sp.	2-4	Colonia de crecimiento rápido, algo donoso de color blanco grisáceo que ocupa toda la superficie del medio de cultivo.

* Medio de agar Sabouraud-dextrosa

** Medio de agar Papa-dextrosa

CUADRO VI. HONGOS OPORTUNISTAS AISLADOS E IDENTIFICADOS DE 73 MUESTRAS POSITIVAS AL CULTIVO

MUESTRA	CULTIVO POSITIVO	AGENTE ETIOLOGICO (No. DE AISLAMIENTOS)
Exudado faríngeo	4	<i>C.albicans</i> (3), <i>C.tropicalis</i> (1)
Secreción paladar	2	<i>C.albicans</i> (1), <i>C.krusei</i> (1)
Secreción nasal	1	<i>Rh.nigricans</i> (1)
Expectoración	17	<i>C.albicans</i> (8), <i>C.tropicalis</i> (2), <i>C.krusei</i> (1), <i>C.glabrata</i> (2), <i>T.beigelli</i> (2), <i>A.fumigatus</i> (2), <i>A.niger</i> (1)
Secreción bronquial	3	<i>C.albicans</i> (2), <i>C.tropicalis</i> (1)
Secreción de heridas quirúrgicas	4	<i>C.albicans</i> (2), <i>C.tropicalis</i> (1), <i>C.glabrata</i> (1)
Orina	24	<i>C.albicans</i> (7), <i>C.glabrata</i> (4), <i>C.tropicalis</i> (2), <i>C.paratropicalis</i> (1), <i>T.beigelli</i> (10)
Exudado cervicovaginal	2	<i>C.lusitaniae</i> (1), <i>C.glabrata</i> (1)
Secreción uretral	1	<i>C.albicans</i> (1)
Sangre	4	<i>C.albicans</i> (3), <i>C.tropicalis</i> (1)
Materia fecal	1	<i>C.tropicalis</i> (1)
Punta de catéter	10	<i>C.albicans</i> (3), <i>C.tropicalis</i> (6), <i>C.krusei</i> (1)

CUADRO VII. RELACION DE MUESTRAS POSITIVAS-AGENTE ETIOLOGICO IDENTIFICADO-TIPO DE CANCER DEL PACIENTE

TIPO DE CANCER LOCALIZACION	TOTAL	MUESTRAS POSITIVAS No.	(%)	AGENTE ETIOLOGICO (No. DE AISLMIENTOS)
A. Piel	2	1	50.0	T.beigelli(1)
B. Cabeza y cuello	16	11	68.7	C.albicans(3),C.tropicalis(5),C.krusei(1),T.beigelli(2)
C. Sistema respiratorio	3	2	66.6	C.albicans(2)
D. Sistema digestivo	6	3	50.0	T.glabrata(3)
E. Organos genitales	10	9	90.0	C.albicans(1),C.tropicalis(2),T.glabrata(1),C.lusitaniae(1),C.paratropicalis(1),T.beigelli(2),A.niger(1)
F. Aparato urinario	7	3	42.8	C.albicans(2),C.tropicalis(1)
G. Linfoma	35	29	82.8	C.albicans(15),C.tropicalis(5),T.glabrata(2),C.krusei(2),T.beigelli(5)
Sin datos clínicos	18	15	83.3	C.albicans(7),C.tropicalis(3),T.beigelli(2),A.fumigatus(2),R.nigricans(1)
T O T A L	102	73	71.5	-----

**CUADRO VIII. FRECUENCIA DE HONGOS OPORTUNISTAS AISLADOS DE
PACIENTES CON CANCER**

AGENTE ETIOLOGICO	No. DE AISLAMIENTOS	%
LEVADURAS		
<i>Candida albicans</i>	29	30.73
<i>C.tropicalis</i>	15	20.55
<i>C.glabrata</i> (<i>Torulopsis glabrata</i>)	8	10.96
<i>C.krusei</i>	3	4.11
<i>C.paratropicalis</i>	1	1.37
<i>C.lusitaniae</i>	1	1.37
<i>Trichosporon beigelli</i>	12	16.44
HONGOS FILAMENTOSOS		
<i>Aspergillus fumigatus</i>	2	2.74
<i>A.niger</i>	1	1.37
<i>Rhizopus nigricans</i>	1	1.37
T O T A L	73	100.00

FIG.1 FRECUENCIA DE GENEROS DE HONGOS AISLADOS DE 73 PACIENTES CON CANCER

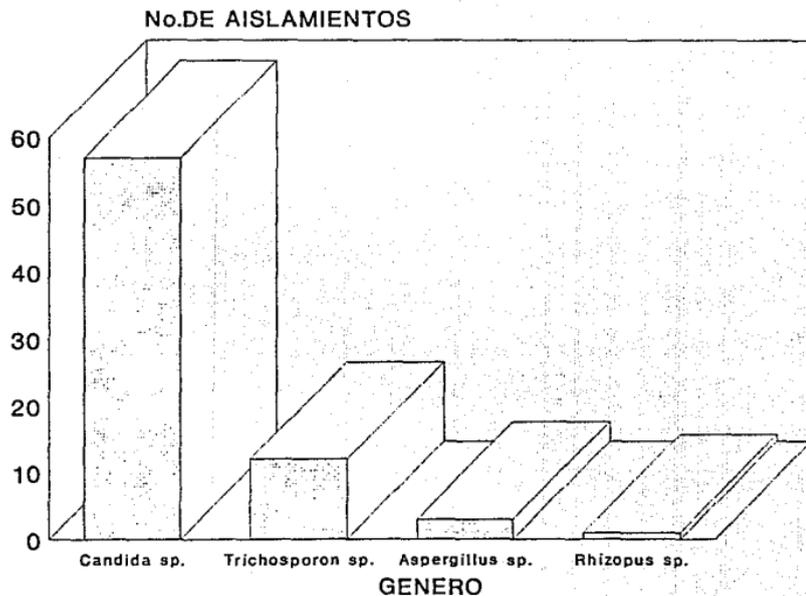
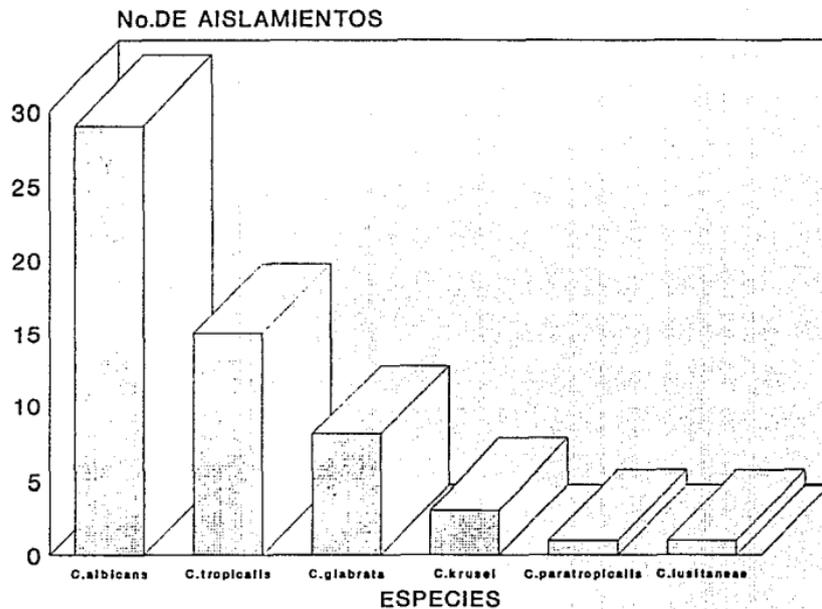


FIG.2 FRECUENCIA DE AISLAMIENTOS
DIFERENTES ESPECIES DEL GENERO *Candida*



VIII. DISCUSION DE RESULTADOS

Como se observa en los resultados, las características oncológicas de los pacientes estudiados exhibió diferentes tipos de cáncer y una población heterogenea formada por hombres y mujeres adultos, destacando la participación del sexo masculino; en su mayoría el grupo de pacientes estudiados eran internos del hospital.

De los nueve tipos y localización de cáncer presentados, los más frecuentes fueron los pacientes con Linfoma, cáncer de cabeza y cuello y cáncer de órganos genitales con 35, 16 y 10 casos respectivamente (Cuadro I). Se esperaba encontrar un número mayor de pacientes con Leucemia, ya que de acuerdo a lo reportado por otros autores junto con los de Linfoma son los principales candidatos a las infecciones oportunistas, sin embargo sólo se presentaron dos casos durante el período de colección de las muestras; existieron otros padecimientos como: pacientes con cáncer de piel (2), cáncer de sistema respiratorio (3) y cáncer de huesos (3). En 18 ocasiones fue imposible determinar el proceso oncológico por no contar con el expediente clínico.

De las 102 muestras analizadas, sobresalieron en número las de orina, expectoración y puntas de catéter, el resto de las mismas fueron en un número menor pero igualmente importantes (Cuadro II). Cabe mencionar que durante la planeación del diseño experimental se propuso la obtención y manejo de material de biopsias apoyando aún más el diagnóstico de una infección, desafortunadamente no fue posible por falta de coordinación con

el personal del laboratorio de patología.

El examen microscópico directo con KOH y tinciones fijas, como Gram y Wright resultaron una de las técnicas básicas e importantes durante el trabajo, ya que constituyeron la prueba presuntiva en el diagnóstico de la infección (Cuadro III). Las muestras que fueron positivas a las características descritas en el Cuadro III se observaron inicialmente en preparaciones con KOH y confirmadas posteriormente por tinción fija con Gram o Wright. En nuestra experiencia las técnicas proporcionaron buenos resultados; la de KOH facilitó en forma rápida y sencilla la detección de elementos fúngicos: levaduras gemando, presencia de pseudomicelio, además en muestras de expectoración y secreción nasal permitió distinguir claramente entre micelio septado y cenocítico. La tinción de Gram, confirmó lo encontrado en las preparaciones con KOH; y en el caso de las muestras de sangre sólo se examinó en frotos teñidos con Wright, observando en dos de ellas la presencia de levaduras; en frotos de sangre es difícil el hallazgo de formas fúngicas por la cantidad de muestra empleada, sin embargo la posibilidad de que el microorganismo esté presente en la muestra puede ser corroborado por el cultivo de la misma. En la muestra de materia fecal la detección de levaduras se hizo por medio de las pruebas de rutina para este tipo de material biológico. La tinción de Ziehl-Neelsen sólo fue empleada en muestras de expectoración para descartar la presencia de Actinomicetos, como *Nocardia* y de bacilos acidorresistentes.

Todas las muestras, incluyendo aquellas en que la observación microscópica fue negativa se sembraron en los medios de cultivo

adecuados, observando que el número de cultivos positivos superó al número de muestras positivas al exámen directo (Cuadro IV). No obstante, no se consideró como contaminación del medio de cultivo, ya que para algunas muestras como expectoración y orina se obtuvieron aislamientos repetidos de muestras de los pacientes; desafortunadamente la duplicación de muestras de exudado faríngeo y secreción de paladar estuvo restringido el envío al laboratorio para un nuevo estudio; las muestras de punta de catéter fueron valoradas como positivas si la cuenta de colonias era de 15 o más UFC en el cultivo. Es importante destacar que de las 5 muestras de sangre analizadas cuatro resultaron positivas al cultivo, lo que marca una situación de "alerta" para el clínico y evitar una infección generalizada.

De las muestras positivas al cultivo, el mayor número de cepas identificadas correspondió a levaduras (Cuadro VI), resultado similar a lo reportado por la mayoría de los autores, y un número menor a hongos filamentosos de micelio septado y cenocítico [2,8,18,26,27,30,31,34,37,44]. Las levaduras del género *Candida* fueron las más frecuentes. Generalmente las especies identificadas (Cuadro VIII) se reportan como saprófitos de las cavidades del cuerpo humano y sólo al presentarse un defecto en la barrera defensiva del huésped, como en los pacientes con cáncer, proliferan en forma desmedida convirtiéndose en oportunistas y dar lugar a infecciones serias. Lode et.al. [30] reportan en un estudio realizado en Palo Alto, California, que de 72 infecciones fúngicas ocurridas en pacientes inmunocomprometidos 80% fueron causadas por *Candida*, además de

otros hongos. De las especies identificadas en este trabajo *C.albicans* figuró en primer lugar; esto es frecuente puesto que los autores como Anaissie et.al. [1,2], Bodey [9] y Saral et.al. [48], entre otros la hacen responsable de la mayor parte de las infecciones causadas por levaduras. La enfermedad puede ser cutánea o mucocutánea, localizada, profunda o generalizada [14,34,44]. Los autores Silva et.al. [50] la reportan como la número uno en aislamientos de pacientes inmunocomprometidos hospitalizados con una frecuencia de 48.57%, en este estudio se aisló con una frecuencia de 30.73% (Cuadro VII).

La especie *Candida tropicalis* ocupó el segundo lugar con un 20.55% de frecuencia, dato que concuerda con los de otros autores quienes la reportan hasta en un 30% [2]. Silva et.al [50]. también la reportan en segundo lugar de frecuencia con 17.14%. Comúnmente *C.tropicalis* es asociada a infecciones originadas por la introducción de catéteres, además de estar involucrada en casos de fungemia en algunos pacientes [2,48]. Estos datos son comparables a los encontrados en este estudio: 6 aislamientos a partir de 10 muestras de catéter, uno de cuatro muestras de sangre y 8 de otras muestras diferentes. La especie también puede causar lesiones en piel, convirtiéndose muchas veces en el primer signo de una infección diseminada; se ha comprobado que *C.tropicalis* es uno de los oportunistas más frecuentes en pacientes neutropénicos [48]. En un estudio realizado a partir de cultivos de vigilancia de infección fúngica sistémica en pacientes con Leucemia y trasplante de órganos, *C.albicans* fue aislada en un 67% de estos cultivos, pero sólo causó infección

diseminada en 5% de los pacientes, sin embargo *C.tropicalis* fue cultivada en tan sólo un 28% pero en un 56% causó infección diseminada [9].

También fueron identificadas las especies *C.glabrata* (*Torulopsis glabrata*) y *C.krusei* en varias de las muestras analizadas (Cuadro VI). Algunos autores como Meyer et.al., citado por Bonifaz, la consideran dentro del género *Candida* a *Torulopsis glabrata*, situación sujeta a discusión debido a que esta levadura no presenta propiedades similares a este género, de las que sobresalen la producción de pseudomiscelio [10]. Nosotros la incluimos dentro del género como *Candida glabrata* basado en la asimilación de carbohidratos, donde sólo la glucosa y la trehalosa son asimiladas [29,44]. *Torulopsis glabrata* tuvo una frecuencia de aislamiento del 10.96% ocupando el tercer lugar. Bodey [9] y Musial et.al [36] la consideran dentro de los primeros lugares como causa de infección, sin embargo en los trabajos de Maksymiuk et.al. [31] y Silva et.al. [50] es reportada en menor frecuencia. La especie ha sido encontrada en casos de septicemia, pielonefritis, infecciones pulmonares, endocarditis y meningitis [44].

La especie *C.krusei* es reportada como oportunista en pacientes granulocitopénicos y en pacientes con neutropenia; en este estudio fue identificada en tres ocasiones, representando un 4.11% y se aisló de pacientes con Linfoma y cáncer de cabeza y cuello (Cuadro VII). En los años 70 s este microorganismo no fué reportado como causante de infección diseminada, pero actualmente se ha incrementado su aislamiento, y en el período comprendido de

1981-1985 *C.krusei* ya es responsable del 10% de las infecciones fúngicas establecidas. También se ha informado resistencia a la anfotericina-B por parte de la especie [48].

En este estudio se identificaron dos especies nuevas recientemente descritas *C.lusitaniae* y *Candida paratropicalis* aisladas de exudado cervicovaginal y orina respectivamente (Cuadro VI). En 1979 se reportó un caso de infección por esta levadura en una paciente con Leucemia; posteriormente en 1984 es aislada de una gran variedad de muestras clínicas. En 1989 se presentan dos casos de fungemia por *C.lusitaniae* en pacientes con Leucemia linfocítica crónica y Leucemia linfocítica aguda; se ha demostrado la capacidad de la cepa en mostrar resistencia a la anfotericina-B Se cree que la puerta de entrada de esta levadura es el tracto genitourinario, el respiratorio y/o colonización por catéteres intravasculares crónicos. Con frecuencia se ha notado que los mismos factores predisponentes en las infecciones oportunistas son elementales en las infecciones por *C.lusitaniae* [7,44]. En el presente trabajo se aisló esta levadura en una ocasión de una paciente con cáncer de órganos genitales.

C.paratropicalis reportada como patógeno oportunistista, fue aislada en este trabajo, de una mujer con cáncer de órganos genitales (Cuadro VII). Baker et.al. [5] en 1983 reportaron cuatro casos de infección en pacientes con Leucemia y Linfoma aisladas a partir de cultivos de sangre, en dos de los cuales se reflejó una fungemia transitoria, mientras que en los otros dos se presentó una invasión progresiva de varios órganos, incluyendo SNC, pulmones, riñones, bazo y tracto gastrointestinal. Esta

especie ha demostrado ser susceptible a la anfotericina-B y 5-Fluorocitocina, sin embargo se han dado casos de muerte por esta levadura.

Un resultado no esperado fue el aislamiento de *Trichosporon beigelli* en un 16.44% (Cuadro (VIII)), hongo artroblastosporado, que se reporta actualmente como causa de infección en pacientes inmunocomprometidos. En su mayoría estas infecciones son diseminadas lo que provoca la muerte del paciente. Este resultado es similar a lo reportado por los autores; su hallazgo puede indicar una colonización o posiblemente el desarrollo de una infección sistémica como se marca en la literatura. Gold et.al. [22] en 1981 relatan un caso de infección diseminada con *T.cutaneum* en un paciente con mieloma múltiple; Yung et.al. [60] presentan dos casos de infección deseminada por *T.beigelli* en pacientes con Leucemia. Así mismo Haupt et.al. [25] reportan la frecuencia de colonización e infección sistémica causada por *T.beigelli* en pacientes altamente inmunocomprometidos; en México, en el Instituto Nacional de Nutrición se reportaron 22 aislamientos de *Trichosporon* en pacientes inmunocomprometidos durante un período de 3 años, correspondiendo en su mayoría a la especie *T.beigelli* además de otras especies [23]. Se ha demostrado en animales de experimentación infectados, que *Trichosporon* muestra predilección por invadir los riñones, posteriormente fue comprobada la participación de estos órganos en casos clínicos de infección diseminada. Algunos autores han marcado susceptibilidad a la anfotericina-B en procesos de colonización, sin embargo no la consideran eficaz en el

tratamiento de infección diseminada [25]. En 1989 se describe un caso de infección generalizada por *T.beigelli* en un paciente con Linfoma no Hodgkin, en quien se observó una mejoría aparente por administración de anfotericina-B [38]; no obstante, ya en 1990 autores como Walsh et.al. [58] la enmarcan como resistente a la anfotericina-B. Por tanto el aislamiento de este microorganismo en muestras de pacientes con compromiso inmunológico grave no debe ser considerado inicialmente como contaminante, por el contrario, como un oportunista que puede llegar a causar infección.

La agrupación de levaduras no pertenecientes a *C.albicans* realizada por morfología microscópica y colonial previo a las pruebas de asimilación de carbohidratos resultó de utilidad para las siguientes levaduras: *Trichosporon beigelli*, *C.krusei*, *Torulopsis glabrata* y algunos cepas de *C.tropicalis*.

Los hongos filamentosos aislados en muestras de expectoración y pertenecientes al género *Aspergillus*, indicaron una Aspergilosis pulmonar, ya que las especies de este género muestran predilección hacia estos órganos provocando serias infecciones pulmonares, sobre todo en aquellos pacientes que presentan un amplio rango de inmunodeficiencias [56]. Las especies aisladas en este trabajo, *A.fumigatus* y *A.niger* (Cuadro VII), son confrontadas a las enmarcadas en la literatura. Con respecto al aislamiento de *Aspergillus niger*, se comprobó efectivamente que estaba causando una Aspergilosis pulmonar en una mujer de 21 años, la que presentaba cáncer de órganos genitales, ambas complicaciones originaron su muerte. En este

acontecimiento, la sección de patología apoyó el diagnóstico de laboratorio mediante el estudio histopatológico de biopsia de pulmón, confirmando la presencia de micelio septado. Por lo que respecta a *A.fumigatus* aislado en dos ocasiones, no se contó con los detalles respecto al proceso oncológico de los pacientes.

Bodey [9], Musial et.al. [36], Saral [49] y otros, reportan a *Aspergillus fumigatus* como la principal especie responsable de la mayoría de los casos de Aspergilosis. También con frecuencia otras especies han sido involucradas en infección pulmonar de estos huéspedes, las que incluyen *A.flavus*, *A.niger* y *A.terreus* [36,56]. En nuestro estudio la frecuencia de aislamiento de las especies de *Aspergillus* fue de 2.94% de un total de 102 muestras analizadas, semejante a lo indicado por autores quienes plantean un rango de aislamiento de 2%-7% [56] en pacientes que presentan diferentes enfermedades crónicas del pulmón. Treger et.al [56] aislaron el género *Aspergillus* en un 7.9% de pacientes inmunocompetentes y neumonia complicada con Aspergilosis invasiva; reportando a las especies *A.fumigatus* y *A.flavus* como las más frecuentes con 2,5% y 0.4% respectivamente. En 1990 en el Hospital Universitario de Puebla (México) también se refirió un caso de Aspergilosis pulmonar causada por *A.fumigatus* en un paciente oxigenodependiente [16]; en una comunicación realizada por Shmitt et.al. [49], informan sobre la frecuencia de varias especies de *Aspergillus* recuperadas del aire de un ambiente hospitalario y de casos clínicos; encontrando que *A.niger* se aisló en un 56% de aire y solamente en 17% de los pacientes, sin embargo *A.fumigatus* raramente fue hallado en el aire, en 0.3%,

pero su aislamiento fue más marcado en los pacientes, con 44% de frecuencia.

Observamos también la identificación de *Rhizopus nigricans* en una muestra de secreción nasal (Cuadro VI). En 1968, durante el verano se encontraron 255 casos de Mucormicosis informado en la literatura mundial, de los cuales 32 resultaron positivos a *Rhizopus*, 10 a *Mucor* y 2 a *Absidia*, además de otros *Zigomycetos* [44]. Actualmente varias especies de *Rhizopus* han sido descritas como causantes de mucormicosis [54], reportando a *R. oryzae* (*arrhisus*) como la principal especie aislada en estas infecciones, seguida en orden descendente de frecuencia por *R. nigricans*, *R. microsporus* y *R. rhizopodoformis* [41]. En 1989 Tintelnot et.al. [54] reportan un caso de mucormicosis causada por *Rhizopus oligosporus* en un paciente con luxación y fractura en la columna vertebral; esta especie fue reportada por Saito [44] en 1905 como patógeno en animales. La diferenciación de las especies de este género es realizada en base a las características microscópicas de los cultivos, básicamente en la longitud y división de los esporangioforos y tamaño de las esporangiosporas [41].

Relacionando los resultados obtenidos en este trabajo con el tipo o localización del cáncer, observamos que la infección se presentó en forma indistinta entre los pacientes (Cuadro VII); sin mostrar predilección por alguno de los padecimientos en especial. No se advirtió infección en pacientes de Leucemia y en pacientes con cáncer de huesos, no implicando que estén excentos de este tipo de infección. Los aislamientos que estuvieron

incrementados en pacientes con cáncer de cabeza y cuello, órganos genitales y Linfoma especialmente por las levaduras, no significa preferencia de los microorganismos sobre estos grupos específicos, sino que al ser los cánceres más frecuentemente observados en el hospital se recibieron más muestras de ellos para su análisis. También se identificó una cifra considerable de hongos oportunistas en los pacientes con proceso oncológico desconocido, entre los que destacaron *R.nigricans*, *A.fumigatus* y algunas cepas de *T.beigelli*.

IX. CONCLUSIONES

1. Los pacientes con diferentes tipos de cáncer son muy susceptibles a infecciones por hongos oportunistas, ya que en el presente trabajo se obtuvo un 71.5% de muestras positivas.
2. No se observó una relación directa entre el tipo de cáncer y los hongos oportunistas identificados.
3. Las levaduras fueron las más frecuentemente aisladas, correspondiendo a *Candida albicans* el primer lugar seguido por *Candida tropicalis* y *Trichosporon beigelli*.
4. De los hongos filamentosos identificados los correspondientes al género *Aspergillus* sobresalieron al género *Rhizopus*.
5. Los resultados obtenidos en este trabajo fueron similares a los reportados por otros autores.
6. El empleo de sistemas comerciales como el API 20C utilizado en este trabajo constituyó un método rápido, seguro y de simple ejecución para la identificación de levaduras aisladas de casos clínicos.
7. La identificación de un cultivo de levaduras hasta especie, será de ayuda al médico para seleccionar y administrar el antifúngico adecuado al cual muestre susceptibilidad el microorganismo.

APENDICE**Tinciones fijas****Tinción de Gram**

-Colocar el portaobjetos sobre un soporte de tinción y cubrir la superficie con solución de cristal violeta durante un minuto.

-Lavar al chorro del agua, colocando el portaobjetos en forma vertical.

-Cubrir la preparación con lugol durante un minuto. Lavar nuevamente con agua.

-Sostener el portaobjetos entre el pulgar y el índice y agregar unas gotas de alcohol-acetona, lavando inmediatamente.

-Cubrir la preparación con safranina durante un minuto. Lavar con agua corriente.

-Colocar la preparación en forma vertical, dejando que escurra el exceso de agua y que se seque el extendido.

Tinción de Wright

-Fijar la preparación en alcohol metílico absoluto por 5 minutos.

-Añadir colorante de Wright a la preparación (1 ml) y teñir por un minuto.

-Añadir doble cantidad de tampón (Solución reguladora de Fosfatos 0.1M, pH 6-6.5), dejar durante 3-5 minutos.

-Decantar la mezcla, lavar con tampón hasta que las porciones más finas del frote presenten color rosado.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

-Colocar la preparación en forma vertical hasta eliminar el exceso de agua.

Tinción de Ziehl-Neelsen

-Aplicar carbolfucsina hasta cubrir bien la preparación.

-Calentar el portaobjetos hasta el desprendimiento de vapores, pero sin dejar secar la preparación.

-Eenjuagar con agua y dejar escurrir.

-Decolorar con alcohol ácido e inmediatamente lavar con agua.

-Cubrir la preparación con azul de metileno de 1-2 minutos.

-Lavar, escurrir y secar al aire.

SUGERENCIAS

Después de haber realizado este trabajo de investigación sería conveniente que para enriquecer el estudio se tomaran en cuenta las siguientes sugerencias:

-aumentar el número de muestras por cada tipo de cáncer de los pacientes

-efectuar el diagnóstico micológico apoyado con el estudio histopatológico

-establecer un programa de prevención de infecciones oportunistas para los pacientes con cáncer

BIBLIOGRAFIA

1. Anaissie E.J., 1992. Opportunistic mycoses in the Immunocompromised host: Experience at a cancer center and review. Clin. Infect. Dis. 14(Suppl. 1): 843-853.
2. Anaissie E.J.; Gerald P. Bodey; 1990. Fungal Infections in Patients with Cancer. Pharmacotherapy, 10(6 Suppl. 3): 164S-169S.
3. Anaissie E.J.; Gerald P. Bodey; Hagop Kantarjian; Jae Ro; E. Vartivarian; Roy Hopter; Jennifer Hoy; Kenneth Rolston, 1989. New Spectrum of Fungal Infections in Patients with Cancer. Rev. Infect. Dis. 11(3): 369-378.
4. Arguero L.B., Garza G.D. Micología Médica. Manual de laboratorio. ENCB-IPN, 4a. ed., 1989.
5. Baker John G, Ira F. Salkin; David H. Pincus; David C. Bodensteiner; Richard F. D'amato, 1983. Pathogenicity of *Candida paratropicalis*. Arch. Pathol. Lab. Med. 107(11):577-579.
6. Bennett John E., 1987. Rapid Diagnosis of Candidosis and Aspergillosis. Rev. Infect. Dis. 9(2): 398-402.
7. Blinkhorn Richard J.; David Aldestein; Philip J. Spagnuolo, 1989. Emergence of a New Opportunistic Pathogen, *Candida lusitaniae*. J. Clin. Microbiol. 27(2): 236-240.
8. Bodey Gerald P., 1984. Candidiasis in Cancer Patients. Am. J. Med. (10): 13-19.
9. Bodey Gerald P., 1988. Fungal Infections in Cancer Patients. Ann. N.Y. Acad. Sci. 544: 431-442.
10. Bonifaz Alexandro. Micología Médica Básica. Ed. Mendez Cervantes, México 1990.

11. Boogaerts M.A., 1989. Risks Involved in Selective Decontamination in Immunocompromised Patients. *Mycoses*, 32(Suppl. 2): 52-58.
12. Brow Arthur E., 1984. Neutropenia, Fever, and Infection. *Am. J. Med.* 76:421-428.
13. Brow Arthur E., 1990. Overview of Fungal Infections in Cancer Patients. *Sem. Oncol.* 17(3 Suppl. 2): 2-5.
14. Calderone R.A., 1989. Host-Parasite Relationships in Candidosis. *Mycoses* 32(Suppl. 2): 12-17.
15. Casal M.; M.J. Linares, 1984. Evaluación del sistema API 20C para la Identificación rápida de organismos Levaduriformes. *Rev. Lat-amer. Microbiol.* 26:77-80.
16. Centeno Torres M.; V. Lora Tellez, 1990. Aspergillosis pulmonar en un paciente hospitalizado. XV Congreso Internacional de Infectología, Memorias. Puerto Vallarta, México.
17. Cooper B.H.; Sharon Prowant; Bruce Alexande; Diane H. Brunson, 1984. Collaborative Evaluation of the Abbott Yeast Identification System. *J. Clin. Microbiol.* 19(6): 853-856.
18. Fainstein V.; 1982. Infecciones en pacientes cancerosos. *Infectología* 2(1): 47-56.
19. George R.R., 1984. Pulmonary Mycoses. New concepts and new Therapy. *Postgrad. Med.* 84(1): 185-186.
20. Ghannoum M.A.; K.H. Abu-Elteen, 1990. Pathogenicity determinants of *Candida*. *Mycoses* 33(6): 265-282.
21. Gold Jonathan W.M., 1984. Opportunistic Fungal Infections in Patients with Neoplastic Disease. *Am. J. Med.* 76(3): 458-463.
22. Gold Jonathan W.M.; Williams Poston; Roland Mertelsmann; Michael Lange; Timothy Kiehn, 1981. Systemic Infections with *Trichosporon cutaneum* in a Patient with Acute Leukemia: Reporte of a Case. *Cáncer* 48: 2613-2617.

23. Gómez Roldan C.; Fausto S. Rangel; J. Sifuentes Osorio; S. Ponce de León, 1990. Significado del Aislamiento de *Trichosporon*. XV Congreso Internacional de Infectología. Memorias. Puerto Vallarta, México.
24. Guerra Romero Luis; Amalia Telenti; L. Thompson; D. Gleen Rodney Roberts, 1989. Polymicrobial Fungemia: Microbiology, Clinical Feacture, and Significance. *Rev. Infect. Dis.* 11(2): 208-212.
25. Haupt M. Helen; Williams G. Merz; Williams E. Beschorner; Williams P. Vaughan; Rein Saral, 1983. Colonization and Infection wiht *Trichosporon* Species in the Immunosuppressed Host. *J. Infect. Dis.* 147(2): 199-203.
26. Hoeprich Paul D. Tratado de Enfermedades Infecciosas. Ed. Salvat Editores, 2a. ed. Versión española, Barcelona España, 1982.
27. Hoffken G., 1989. Fungal Infections during Neutropenia: The Role of Prophylaxis. *Mycoses* 32(Suppl. 1): 88-95.
28. Hughes W.T., 1991. Infectious diseases and Oncology (Meeting abstract). National Conference on New Oncology Agents. February: 6-8.
29. Koneman E.W.; G.D. Roberts. Prácticas de Laboratorio de Micología. Ed. Baltimore, Williams y Wilking; 2a.ed., 1978.
30. Lode H.; G. Hoffken, 1989. Oral Candidosis and its Role in Immunocompromised Patients. *Mycoses* 32(Suppl. 2): 30-33.
31. Maksymiuk Andrew W.; Sumitra Thongprasert; Ror Hopfer; Mario Luna; Victor Fainstein; Gerald P. Bodey, 1984. Sistemic Candidosis in Cancer Patients. *Am. J. Med.* 77(4D): 20-27.
32. Meinhof W.; R. Spring, 1989. Incidence of Oral Candidosis. *Mycoses* 32(Suppl. 2): 9-11.
33. Meunier F., 1987. Prevention of Mycoses in Immunocompromised Patients. *Rev. Infect. Dis.* 9(2): 408-416.

34. Mora Triscareño Arcelia; Manuel Presno Bernal; Abelardo Meneses Garcia, 1990. Infección por Hongos en Autopsias de pacientes con Cáncer. *Cancerología* 36(2): 1033-1037.
35. Murphy Juneann W., 1991. Mechanims of Natural Resistance to Human Pathogenic Fungi. *Ann. Rev. Microbiol.* 45: 509-538.
36. Musial Cora E.; Franklin R. Cockerill; Glenn Roberts, 1988. Fungal Infections of the Immunocompromised host: Clinical and Laboratory Aspects. *Clin. Microbiol. Rev.* 14: 349-364.
37. Ortiz Camiño Ana María. Estudio Epidemiológico de las diferentes especies de levaduras del género *Candida* en cavidad oral, piel y vías urinarias de pacientes neoplásicos. Tesis Profesional, ENEP-IZTACALA. UNAM, 1989.
38. Payne A.L.; A.J. Teall, 1989. *Trichosporon beigelli* Infection in an Immonocompromised host. *Mycoses* 32(4): 183-186.
39. Poland J.M., 1989. The Role of *Candida* Infections as and Adverse Effect upon Head and Neck Cancer Patients undergoing therapeutic Radiation and the Effect of Antimycotic Treatment. *Mycoses* 32(Suppl. 2): 39-41.
40. Preinticed A.G., 1989. Oral and gastrointestinal Candidosis: Prophylaxis During Immunosuppressive Therapy. *Mycoses* 32(Suppl.2): 42-46.
41. Prier James E.; German Fridman. *Opportunistic Pathogens*. Cap. 11. Ed. Baltimore, London, Tokio. University Park Press, U.S.A. 1974.
42. Rinaldi M.G., 1989. Emerging Opportunistic. *Infect. Dis. Clin.North Am.* 3(1): 65-76.
43. Rinaldi M.G., 1991. Poblems in the Diagnosis of invasive Fungal Disease. *Rev. Infect. Dis.* 13: 493-495.
44. Rippon John W. *Tratado de Micología Médica*. Ed. Interamericana McGraw-Hill, 3a. ed., México 1990.

45. Salim Raquel; Guillermo Oliver; Aida Pesce de Ruiz Holgado, 1980. Dimorfismo en *Candida albicans*, factor(es) de iniciación en la formación de tubos germinativos. Rev. La-amer. Microbiol. 22: 151-156.
46. Salkin Ira F.; A. Land Geoffrey; Nancy J. Hurd; Peggy R. Goldson; Michael R. McGinnis, 1987. Evaluation of YeastIdent and Uni-Yeast-Tek Yeast Identification Systems. J. Clin. Microbiol. 25(4): 624-627.
47. Sandford G.R.; w.g. Merz; J.R. Wingard; P. Charache; Rein Saral, 1980. The Value of Fungal Surveillance Cultures as Predictors of Systemic Fungal Infections. J. Infect.Dis. 142(4): 503-509.
48. Saral Rein, 1991. *Candida* and *Aspergillus* Infections in Immunocompromised Patients: an Overview. Rev. Infect. Dis. 13(5-6): 487-492.
49. Schmitt H.J.; A. Blevins; K. Soback; D. Armstrong, 1991. *Aspergillus* species from hospital air and from patients. Mycoses 33(11/12): 539-541.
50. Silva Julio; Rosa R. De Lobarda; Gladys Almendro; Raquel Salim, 1990. Detection of Opportunistic Yeast Pathogens in Hospitalized Immunocompromised Patients. Rev. La-amer. Microbiol. 32:261-264.
51. Slifkin Malcolm; Richard Cumbie, 1989. Congo Red as a Fluorochrome for the Rapid Detection on Fungi. J. Clin. Microbiol. 26(5): 827-830.
52. Szalka A.; G. Prinz, 1991. Opportunistic Systemic Mycoses. Ovr. Hetil. 132(34): 1851-1856.
53. Threlkeld M.G.; W.E. Dismukes, 1989. Endemic Mycoses. Infect. Dis. Ther. 3:285-314.
54. Tintelnot Kakhrin; Barbara Nitsche, 1989. *Rhizopus oligosporus* as a Cause of Mucormycosis in Man. Mycoses 32(2): 115-118.

55. Toriello Concepción; Fernando Rébora Gutierrez; María Luisa Díaz Gómez; María Lucia Taylor, 1986. Criterios para el Diagnóstico de Aspergillosis y Candidosis Sistémica. Rev. Mex. Mic. 2:217-225.

56. Treger Thomas R.; Daniel W. Visscher; Mrllyn S. Baetlett; James W. Smith, 1985. Diagnosis of Pulmonary Infection caused by Aspergillus: Usefulness of Respiratory cultures. J. Infect. Dis. 152(3): 572-576.

57. Walsh T.J., 1990. Role of Surveillance cultures in prevention and treatment of fungal Infections. NCI. Monogr. 9:43-45.

58. Walsh T.J.; Gregory P. Melcher; Micael G. Rinaldi; Julius Lecciones; Deanna A. McGough; Patrick Kelly; James Lee; Diana Callender; Rubin Marc, Philip A. Pizzo, 1990. Trichosporon beigelli, an Emerging Pathogen Resistant to Amphotericin-B. J. Clin. Microbiol. 28(7): 1616-1622.

59. Walsh T.J.; S.C. Schimpff, 1989. Infection in Immunosuppressed Patients. Current Therapy in Hematology-Oncology. 3:243-250.

60. Yung Cheuk W.; B. Hanaver Stephen; David Fretzin; John W. Rippon; Charles Shapiro; Martín González, 1991. Disseminated Trichosporon beigelli (cutaneum). Cáncer 48:2107-2111.