



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

“MICOSIS PULMONARES POR HONGOS LEVADURIFORMES”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

NAVARRO GEMINIANO SILVIA SAMANTA



MÉXICO, D.F.

2015.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor:** Gutiérrez Ramos Abel

VOCAL: **Profesor:** Bonifaz Trujillo José Alexandro

SECRETARIO: **Profesor:** Araiza Santibáñez Javier

1er. SUPLENTE: **Profesor:** González Ibarra Misael

2° SUPLENTE: **Profesor:** Camacho Cruz Alejandro

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Hospital General De México “Dr. Eduardo Liceaga”

ASESOR DEL TEMA:

QFB. Javier Araiza Santibáñez

SUSTENTANTE:

Silvia Samanta Navarro Geminiano

ÍNDICE

1. Resumen del trabajo	5
2. Abreviaturas	6
3. Introducción	7
3.1 Planteamiento del problema.....	7
3.2 Objetivos	8
3.3 Hipótesis.....	8
4. Antecedentes	9
4.1 Fisiología del pulmón	11
4.2 Padecimientos	14
4.3 Infecciones por hongos oportunistas	21
4.4 Candidosis.....	27
4.4.1 Definición	27
4.4.2 Aspectos epidemiológicos.....	28
4.4.3 Micología.....	31
4.5 Criptococosis.....	34
4.5.1 Definición	34
4.5.2 Aspectos epidemiológicos.....	35
4.5.3 Micología.....	38
4.6 Geotricosis e infecciones por <i>Saprochaete capitata</i>	42
4.6.1 Definición	42
4.6.2 Aspectos epidemiológicos.....	42
4.6.3 Micología	44
4.7 Trichosporonosis	46
4.7.1 Definición	46
4.7.2 Aspectos epidemiológicos.....	46
4.7.3 Micología.....	48
4.8 Aspectos clínicos de las micosis pulmonares.....	51
4.9 Diagnóstico de las micosis pulmonares.....	57
4.9.1 Toma de muestras	57
4.10 Estudios de laboratorio.....	61

4.11 Tratamiento de las micosis pulmonares	69
5. Procedimiento experimental	74
5.1 Metodología.....	74
5.2 Materiales	76
5.3 Procedimiento.....	77
6. Resultados	79
7. Discusión de resultados	86
8. Conclusiones	101
9. Bibliografía	103
10. Apéndice	110
10.1 Técnicas y tinciones	110
10.1.1 Reactivos	110
10.1.2 Colorantes.....	110
10.1.3 Técnicas	110
10.1.4 Medios de cultivo	111

1. RESUMEN

Debido al reciente incremento de grados de inmunosupresión se ha favorecido el desarrollo de infecciones oportunistas en diversos niveles.

Las infecciones pulmonares por hongos levaduriformes son cada vez más frecuentes y un diagnóstico oportuno permite el desarrollo de estrategias de prevención así como el desarrollo de medidas que permitan realizar diagnósticos y tratamientos más eficaces.

Los principales hongos levaduriformes que afectan a los pulmones son *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Saprochaete capitata* (antes *Geotrichum capitatum*), *Geotrichum candidum* y *Trichosporon*.

En el presente trabajo se busca analizar las principales variedades clínicas de micosis pulmonares por hongos levaduriformes así como determinar la importancia y etiología de las mismas, así mismo, se busca analizar los métodos para el diagnóstico de estas micosis y poder proponer el desarrollo de técnicas más sensibles y adecuadas.

Palabras clave: *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Geotrichum candidum*, *Trichosporon asahii*.

2. ABREVIATURAS

ADS: Agar Dextrosa Sabouraud.

DP: Derrame Pleural.

EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

IRC: Insuficiencia Respiratoria Crónica.

KOH: Hidróxido de Potasio.

LBA: Lavado Bronquioalveolar.

SIDA: Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida.

SNC: Sistema Nervioso Central

TB: Tuberculosis.

VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana.

3. INTRODUCCIÓN

3.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El incremento importante de pacientes con diversos grados de inmunosupresión, bien sea inducido debido a procedimientos terapéuticos (trasplantes, procesos oncológicos, etc), o bien adquiridos por enfermedades debilitantes, los cuales favorecen el desarrollo de infecciones oportunistas en diversos niveles, hace necesario actualizar constantemente los datos epidemiológicos de infecciones que afectan estos grupos de personas.

Las infecciones pulmonares por hongos levaduriformes son un campo de estudio en el cual un diagnóstico oportuno y un análisis actualizado permiten desarrollar medidas que permiten no sólo realizar diagnósticos y tratamientos más eficaces, sino además desarrollar estrategias de prevención y evolución temprana, lo cual favorece la recuperación de los pacientes y repercute en reducción de costos intrahospitalarios

La importancia del presente estudio, permitirá obtener los datos necesarios de actualización epidemiológica que sean de apoyo para optimizar los protocolos de diagnóstico y seguimiento de pacientes con afecciones pulmonares por hongos levaduriformes, ya que de las infecciones micóticas en este sitio existe un porcentaje cada vez más alto que son causadas por levaduras.

3.2 OBJETIVOS

Analizar las principales variedades clínicas de micosis pulmonares por hongos levaduriformes, y factores predisponentes observadas en un hospital de tercer nivel, así como las etiologías relacionadas con las mismas.

Determinar la importancia de las variedades clínicas de micosis pulmonares y la etiología de las mismas causadas por hongos levaduriformes, mediante el apoyo de técnicas accesibles de diagnóstico micológico, evaluando la utilidad de las mismas para el desarrollo de protocolos en el trabajo rutinario del laboratorio clínico especializado en micología.

3.3 HIPÓTESIS

Si existe un incremento en pacientes con inmunosupresión, entonces esperamos encontrar una mayor cantidad de casos de infecciones pulmonares por hongos levaduriformes, acorde con el incremento descrito.

Si encontramos un mayor número de casos de infecciones pulmonares por hongos levaduriformes, posiblemente existan también diferencias en cuanto a las etiologías de los mismos comparado con lo que se reporta en la literatura.

4. ANTECEDENTES

Existen más de 100.000 especies de hongos ampliamente repartidos por el mundo, pero sólo unos cuantos son agentes habituales de infecciones respiratorias en el hombre.

Las micosis pulmonares son un grupo de enfermedades debidas de un modo primario o secundario a la infección por hongos ⁽¹⁾.

Estos padecimientos son adquiridos principalmente por vías respiratorias, ya que estos microorganismos pueden formar parte de la flora habitual del tracto respiratorio (fuente endógena como en el caso de *Candida albicans* y *Geotrichum candidum*), o entran en contacto directo con el huésped mediante la inhalación de las esporas del microorganismo presente en el aire (fuente exógena) ^(1,2).

Las micosis pulmonares primarias se caracterizan por la infección de los pulmones como primer punto de entrada, a través de la respiración ⁽¹⁾.

Las principales levaduras causantes de estas micosis son: *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Saprochaete capitata* (antes *Geotrichum capitatum*), *Geotrichum candidum* y *Trichosporon* (sobre todo *Trichosporon asahii*). ⁽²⁾

Su diagnóstico es, en muchos casos, problemático. Los hongos aislados en esputo pueden ser patógenos o simplemente comensales saprofitos. Algunos estudios han demostrado que la colonización por *Candida* es habitual en muestras respiratorias obtenidas por lavado alveolar (LBA), aspirado traqueal o en cepillos estériles de pacientes críticos.

Mientras que *G. candidum* es parte de la flora normal, sobre todo de intestino y boca.

Por estos motivos, es preciso aislar el hongo en muestras obtenidas por procedimientos invasivos (broncoscopia, toracoscopia o toracotomía), en muestras estériles o en la diseminación a órganos no contiguos por vía hematológica^(2,3).

Existen numerosos factores relacionados con el incremento en la frecuencia de las micosis pulmonares. Entre ellos las alteraciones de la inmunidad celular (tratamiento esteroideo, la quimioterapia o el SIDA), junto con procesos que se asocian a neutropenia (neoplasias hematológicas). El empleo de antibióticos de amplio espectro en pacientes críticos provoca el sobrecrecimiento de especies de *Candida* en el tracto gastrointestinal, que en algunos casos pueden invadir el torrente sanguíneo. La alimentación parenteral y el empleo de catéteres intravasculares, sondas urinarias y tubos torácicos también pueden favorecer la aparición de micosis invasivas. Sin embargo, en algunos pacientes no es posible encontrar claros factores de riesgo predisponentes.⁽²⁾

En general cuando se habla de cualquier tipo de oportunismo se deben relacionar factores de predisposición asociados al huésped sin olvidar que también los agentes infecciosos deben presentar ciertas condiciones para que se establezca la enfermedad.

Tabla 1. Condiciones para el desarrollo de oportunismo.

Condiciones de los hongos.	Condiciones de predisposición del paciente.
Soportar 37°C o más	Enfermedades o procesos debilitantes
Cambio bioquímico	Inmunodeficiencias primarias o adquiridas, las que comprometen o debilitan la inmunidad celular.
Cambio morfológico	Factores iatrogénicos
Factores de virulencia	Trasplantes
Contacto con el hospedero	Cateterismo y nutrición parenteral
	Drogadicción, quemaduras, traumatismos, cambios de pH, ocupación, mal estado de dentadura (misceláneo)

4.1 FISIOLÓGÍA DEL PULMÓN

Los pulmones se encuentran situados en el tórax a ambos lados del mediastino y de los órganos que éste contiene. El pulmón experimenta profundas modificaciones según la edad y el momento respiratorio que se considera ⁽⁴⁾.

El tejido pulmonar es flácido y elástico, una leve presión lo deprime, evacuando el aire contenido en los alvéolos ⁽⁵⁾.

Cada pulmón tiene la forma de un semicono con vértice superior y una base inferior. Se pueden describir ⁽⁴⁾:

- Tres caras: costal, mediastínica y diafragmática.
- Un vértice.
- Dos bordes: anterior e inferior.
- Una base o circunferencia, inferior.

Por último, cada pulmón está profundamente separado por las fisuras interlobares, que lo dividen en partes desiguales, los lóbulos pulmonares, tres en el pulmón derecho y dos en el izquierdo ⁽⁴⁾.

Los pulmones intervienen en la oxigenación de la sangre, participando así en el ciclo respiratorio humano. Están formados por bronquios unidos por tejido conectivo que se bifurcan hasta la altura de los alvéolos, así como por un sistema vascular paralelo ⁽⁵⁾.

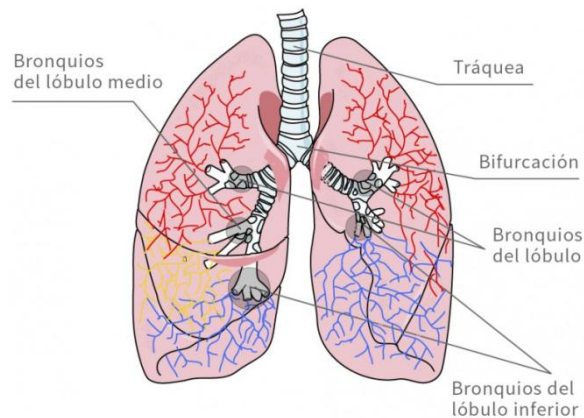


Figura 1. Representación de los pulmones: bronquios y lóbulos. Principios de anatomía y fisiología.

Los pulmones están formados por tejido conectivo que encierran unas estructuras tubulares (los bronquios), que se van bifurcando progresivamente desde la tráquea, hasta formar unos túbulos mucho más finos (alveolos). Paralelamente a estas estructuras tubulares, discurre un sistema vascular ⁽⁵⁾.

La función principal del aparato respiratorio es la de aportar al organismo el suficiente oxígeno necesario para el metabolismo celular, así como eliminar el dióxido de carbono producido como consecuencia de ese mismo metabolismo.

El aparato respiratorio pone a disposición de la circulación pulmonar el oxígeno procedente de la atmósfera, y es el aparato circulatorio el que se encarga de su transporte (la mayor parte unido a la hemoglobina y una pequeña parte disuelto en el plasma) a todos los tejidos donde lo cede, recogiendo el dióxido de carbono para transportarlo a los pulmones donde éstos se encargarán de su expulsión al exterior.

El proceso de la respiración puede dividirse en cuatro etapas mecánicas principales ⁽⁵⁾:

1. VENTILACIÓN PULMONAR: significa entrada y salida de aire entre la atmósfera y los alvéolos pulmonares.
2. PERFUSIÓN PULMONAR: permite la difusión del oxígeno y dióxido de carbono entre alvéolos y sangre.
3. TRANSPORTE: de oxígeno y dióxido de carbono en la sangre y líquidos corporales a las células y viceversa, se realiza con un gasto mínimo de energía.

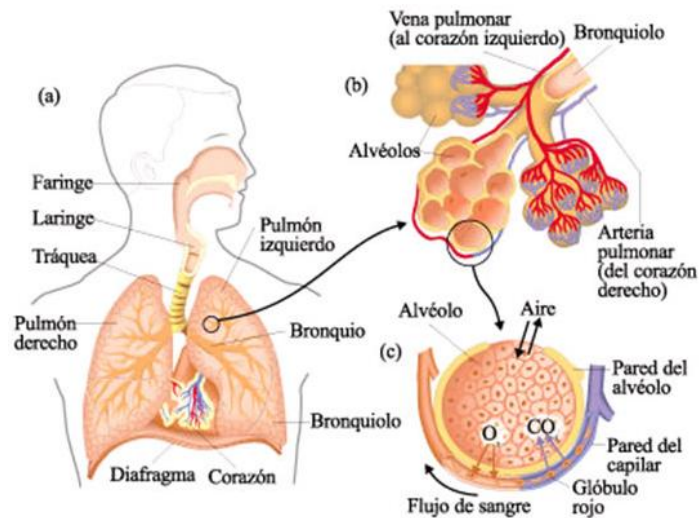


Figura 2. Respiración pulmonar. Anatomía Humana.

4.2 PADECIMIENTOS

Como se mencionó anteriormente, en el caso de micosis oportunistas debe existir algún factor de fondo que predisponga el desarrollo de estas enfermedades, dichos factores son principalmente enfermedades o procesos debilitantes, o bien, inmunodeficiencias primarias o adquiridas que comprometen o debilitan la inmunidad celular.

VIH: El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es un lentivirus de la familia *Retroviridae*, causante del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). Su característica principal consiste en un periodo de incubación prolongado que desemboca en enfermedad después de varios años. La infección por VIH se presenta en una fase aguda, una crónica y finalmente una etapa crítica (SIDA), identificadas por un conjunto de síntomas e indicadores clínicos.

En ausencia de tratamiento, la fase aguda por VIH inicia en el momento del contagio, el virus se replica constantemente e infecta los linfocitos T-CD4; la persona seropositiva queda expuesta a diversas enfermedades oportunistas desarrollando la etapa del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida de manera crónica ⁽⁶⁾.

SIDA: El SIDA constituye la etapa crítica de la infección por VIH. En esta fase de la infección, el portador del VIH posee un sistema inmunológico que probablemente sea incapaz de reponer los linfocitos T CD4+ que pierde bajo el ataque del VIH, por lo cual es presa potencial de numerosas infecciones oportunistas que le pueden conducir a la muerte. La neumonía por *P. jiroveci*, el sarcoma de Kaposi, la tuberculosis, la candidiasis y la infección por citomegalovirus son algunas de las infecciones más frecuentes que atacan a los seropositivos que han desarrollado SIDA ⁽⁶⁾.

Neumonía: Bajo el término neumonía se incluyen todos aquellos procesos que producen inflamación del tejido pulmonar de origen infeccioso. La mayoría de las veces la neumonía es infecciosa, pero no siempre es así. Existen tres tipos diferenciados de neumonías: a) neumonía típica, también llamada clásica ó focal, cuyo prototipo es la neumonía neumocócica; b) bronconeumonía ó neumonía multifocal, cuyo ejemplo típico es la neumonía estafilocócica, y c) neumonía intersticial ó atípica, cuyo prototipo es la neumonía vírica. Por otra parte, una neumonía puede adquirirse en el hábitat normal de las personas (neumonías adquiridas en la comunidad o extrahospitalarias) o pueden darse en pacientes ingresados en instituciones sanitarias (neumonías nosocomiales o intrahospitalarias) ⁽⁷⁾.

En función del ámbito de adquisición:

Adquiridas en la comunidad (o extrahospitalarias): Se adquiere en el seno de la población en general y se desarrolla en una persona no hospitalizada o en los pacientes hospitalizados que presentan esta infección aguda en las 24 a 48 horas siguientes a su internamiento ⁽⁷⁾.

Intrahospitalarias o nosocomiales: Presentan mayor mortalidad, ocurre a las 48 horas o más después de la admisión hospitalaria. En el hospital se da la conjunción de una población con alteración de los mecanismos de defensas, junto a la existencia de microorganismos resistentes a los antibióticos, lo que crea dificultades en el tratamiento de la infección ⁽⁷⁾.

En función del agente etiológico ⁽⁷⁾:

- Múltiples bacterias, como *neumococo (Streptococcus pneumoniae)*, *Mycoplasmas pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*.
- Distintos virus.
- Hongos, como *Pneumocystis jiroveci*, *Candida spp.*
- En inmunocomprometidos: bacterias gram negativas, *Pneumocystis jiroveci*, citomegalovirus, hongos, y *Micobacterium tuberculosis*.
- En las neumonías nosocomiales: *Pseudomonas aeruginosa*, hongos y *Staphylococcus aureus*.

Tuberculosis (TB): La tuberculosis es una enfermedad infecciosa que suele afectar a los pulmones y es causada por una bacteria (*Mycobacterium tuberculosis*). Se transmite de una persona a otra a través de gotículas generadas en el aparato respiratorio pacientes con enfermedad pulmonar activa ⁽⁸⁾.

Se caracteriza fundamentalmente por la formación de granulomas en los tejidos ⁽⁷⁾. Los individuos inmunodeprimidos son altamente susceptibles. Otros factores de riesgo asociados son la diabetes mellitus, desnutrición, y terapias inmunosupresivas. También se han sugerido factores genéticos y ambientales como causa del desarrollo de la enfermedad ⁽⁷⁾

La infección primaria ocurre habitualmente por inhalación del microorganismo de una persona infectada. La replicación ocurre inicialmente en vías aéreas terminales dentro de células fagocíticas (bronquiolos pequeños, alveolos - lesión primaria o tubérculo). En los pulmones una vez que se monta una respuesta inmune celular, las bacterias disminuyen y se desarrollan granulomas ⁽⁸⁾.

EPOC: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica, constituye una de las principales patologías del aparato respiratorio en la edad adulta. Se caracteriza por obstrucción permanente e irreversible de la vía aérea al acompañarse de destrucción o modificaciones permanentes en el parénquima pulmonar, vía aérea y vasos pulmonares, entre otros. Tiene una alta prevalencia, especialmente en el grupo de personas fumadoras, quienes tienen un riesgo mayor del 50% de desarrollar esta enfermedad cuando se comparan con personas no fumadoras ⁽⁸⁾.

Puede ser causada por bacterias colonizantes, aunque en un gran porcentaje es producida por agentes virales y muy rara vez por agentes como estafilococo y bacilos entéricos Gram negativos. Algunas de las bacterias que causan exacerbación infecciosa son *Streptococcus* y *Haemophilus*. *Moraxella catarrhalis* ha surgido como nuevo microorganismo causante de infección ⁽⁹⁾.

IRC: La insuficiencia respiratoria crónica (IRC) es una situación en la que el sistema respiratorio no es capaz de oxigenar correctamente la sangre que llega al pulmón y/o no es capaz de eliminar de forma adecuada el anhídrido carbónico, por lo cual se produce una alteración en el intercambio gaseoso, con una disminución en la presión arterial de oxígeno (PaO₂) con o sin aumento en la presión arterial de dióxido de carbono (PaCO₂) medidas a nivel del mar ⁽⁹⁾. Es un síndrome multicausal, es decir, que pueden producirla múltiples causas, muy numerosas y variadas que afecten a cualquier estructura del sistema respiratorio. Existen varios mecanismos que pueden explicar la aparición de IRC: hipoventilación, alteración de la relación V/Q, efecto *shunt* y disminución de la fracción inspiratoria de oxígeno (FiO₂) ⁽⁹⁾.

Cáncer: proceso de crecimiento y diseminación incontrolados de células. Puede aparecer prácticamente en cualquier lugar del cuerpo. El tumor suele invadir el tejido circundante y puede provocar metástasis en puntos distantes del organismo ⁽⁸⁾.

Carcinoma broncogénico: Tumor primario pulmonar de alta malignidad, representa la mayor parte de los casos de cáncer de pulmón. Representa más del 90% de los cánceres del pulmón. Es el segundo más frecuente en varones (13%) y el tercero en mujeres (13%). El tabaco se considera la causa más importante ⁽¹⁰⁾.

Fibrosis pulmonar: Es una enfermedad pulmonar intersticial caracterizada por la sustitución de tejido pulmonar por tejido colágeno. Afecta generalmente a adultos mayores de 50 años y está caracterizada por la muerte de las células del epitelio alveolar, que son reemplazadas por fibroblastos ⁽¹¹⁾.

Bronquitis: Inflamación de las vías aéreas bajas. Sucede cuando los bronquios, se inflaman a causa de una infección o por otros motivos. La mayoría de los trabajos concluyen que son causadas por los mismos agentes que circulan estacionalmente causando infecciones respiratorias de la vía aérea alta (virus principalmente). Las bacterias (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Moraxella catarrhalis*) no son causa de bronquitis ⁽⁹⁾.

Empiema pleural: es la acumulación de pus en la cavidad que se encuentra entre la pleura visceral y la pleura parietal (espacio pleural). El empiema pleural es causado por una infección que se disemina desde el pulmón y que lleva a una acumulación de pus en el espacio pleural. El líquido infectado se acumula, ejerciendo una presión en los pulmones que origina dolor y dificultad para respirar. Los factores de riesgo son enfermedades pulmonares recientes que incluyen neumonía bacteriana, absceso pulmonar, cirugía torácica, traumatismo o lesión del tórax o, rara vez, por la introducción de una aguja a través de la pared torácica para drenar el líquido del espacio pleural (toracocentesis) ⁽⁷⁾.

Sarcoidosis pulmonar: es una enfermedad multisistémica granulomatosa de etiología desconocida. Afecta predominantemente a adultos jóvenes y en la edad media de la vida. Compromete primariamente al aparato respiratorio y al sistema linfático, asociando con frecuencia variable compromiso extrapulmonar. Si bien la etiología y patogenia permanecen aún desconocidas, hay abundante evidencia que apoya el concepto de que se forman en respuesta a un estímulo antigénico persistente. Se han evocado como responsables de la enfermedad a diversos microorganismos, fundamentalmente las micobacterias y en menor medida bacterias Gram negativas ⁽¹²⁾.

Edema pulmonar: acumulación anormal de líquido en los alveolos pulmonares que lleva a que se presente dificultad para respirar. El edema pulmonar generalmente es causado por insuficiencia cardíaca. También puede ser causado por una lesión directa en el pulmón, por un gas venenoso (común en los incendios productores de grandes humos) o una infección grave ⁽⁷⁾.

Cor pulmonale: se define como una dilatación y/o hipertrofia del ventrículo derecho a consecuencia de problemas en la vasculatura o el parénquima pulmonar y puede conducir a insuficiencia cardíaca derecha. El origen de la anomalía debe encontrarse en el sistema de circulación pulmonar o en el parénquima pulmonar, produciéndose en cualquier caso una hipertensión arterial pulmonar (HTAP). ⁽⁹⁾.

Influenza: enfermedad respiratoria contagiosa provocada por los virus de la influenza que infectan la nariz, la garganta y los pulmones. La influenza se transmite de persona a persona mediante gotitas de saliva producidas al toser o estornudar, las cuales al ser inhaladas depositan un inóculo infeccioso en el epitelio de las vías respiratorias, o bien por contacto con manos o superficies contaminadas ⁽⁹⁾.

Neumotórax: presencia de aire en la cavidad pleural el que proviene producto de una lesión en el parénquima pulmonar, lo que con lleva un colapso de este parénquima en mayor o menor grado según sea la cuantía del neumotórax ⁽⁹⁾.

Derrame Pleural (DP): es una acumulación patológica de materia prima en el espacio pleural que se desarrolla tras una infección bronquial. El líquido puede tener dos orígenes distintos, puede ser el resultado de un exudado o de un trasudado.

El trasudado se da en casos de insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) en un 40-72%, mientras que el exudado es más frecuente en cuadros paraneumónicos (50-70%), neoplasias (42-60%) y tuberculosis (23,5%) ⁽⁷⁾.

Shocke séptico de foco pulmonar: Es una afección grave que ocurre cuando una infección en todo el cuerpo lleva a que se presente una hipotensión arterial peligrosa. Puede ser causado por cualquier tipo de bacteria, hongos y (en raras ocasiones) virus. Las toxinas liberadas por bacterias u hongos pueden causar daño tisular, lo cual puede llevar a que se presente hipotensión arterial y funcionamiento deficiente de órganos ⁽⁹⁾.
13)

4.3 INFECCIONES POR HONGOS OPORTUNISTAS

Este grupo de infecciones se denomina oportunista debido a que los microorganismos que incluye tienen una virulencia inherente muy baja y la producción de enfermedades depende de la resistencia disminuida del huésped a la infección, es decir que las defensas de los pacientes deben estar muy disminuidas antes de que se establezca la infección ⁽¹⁴⁾.

El aumento en la frecuencia de estas infecciones oportunistas ha sido paralelo con el uso de antibióticos, citotoxinas, inmunosupresores, esteroides y otros procedimientos que provocan resistencia disminuida del huésped.

El establecimiento de estas infecciones depende primero de que se haya alterado la resistencia del huésped, más que del tamaño del inóculo ⁽¹⁴⁾.

La patogénesis y el resultado de la interacción huésped-hongo, depende de factores de virulencia micótica, la capacidad para evadir la respuesta inmune y/o el daño a tejidos, contra la capacidad del huésped para vencer la invasión micótica.

La virulencia es una propiedad del patógeno, modulada por la susceptibilidad y resistencia del hospedero. El daño al hospedero puede resultar de la acción directa del patógeno o de la respuesta inmune del hospedero ⁽¹⁵⁾.

Factores de virulencia del hongo: adherencia (capacidad del hongo para adherirse y colonizar la célula del huésped; hidrofobicidad de la superficie celular del hongo, factores ambientales, fenotipo del organismo, pH, temperatura, embarazo, diabetes mellitus), dimorfismo y variabilidad fenotípica, enzimas, interacción de hormonas y hongos, metabolismo del hierro ⁽¹⁵⁾.

Se deben presentar algunas alteraciones en las defensas celulares del huésped, en la fisiopatología o en la microbiota normal antes de que pueda tener lugar colonización, infección y producción de enfermedad por levaduras. La gravedad de la enfermedad dependerá de la intensidad de la alteración del huésped, más que de las propiedades patógenas del hongo ⁽¹⁶⁾.

Al igual que la microbiota bacteriana normal, las levaduras son una parte constante y común de la microbiota normal y todas estas especies tienen un equilibrio establecido en el huésped, sin embargo en ciertas circunstancias los miembros de esta microbiota proliferan en gran número y pueden provocar diversidad de cuadros clínicos, las infecciones provocadas se presentan como consecuencia de rotura de alguna barrera o

en pacientes con inmunodeficiencia, desequilibrio fisiológico o desorganización de la microbiota fungal residente y de la bacteriana ⁽¹⁴⁾.

El propágulo infeccioso presente en el medio ambiente entra en el cuerpo del huésped por inhalación, ingestión o inoculación traumática e inicia como una infección localizada en el pulmón, senos paranasales o tejidos. La extensión de la infección o la diseminación a otros órganos depende de la dosis infecciosa, el estado inmune del hongo y en algunos casos de las propiedades específicas de infección del organismo ⁽¹⁶⁾.

La piel es la primera barrera, *C. albicans* coloniza frecuentemente la piel y mucosas pero sólo invade tejidos en ciertas circunstancias como quemaduras, heridas y presencia de catéter. La microbiota normal de la piel provee protección contra algunas micosis por competencia de nutrientes y por sustancias antifúngicas. Al disminuir ésta debido al uso de antibióticos de amplio espectro se facilita el sobrecrecimiento de hongos oportunistas ⁽¹⁵⁾.

El aparato respiratorio sirve de puerta de entrada para hongos invasivos. Los mecanismos de limpieza mucociliares expelen algunas esporas, sin embargo el tamaño de las esporas aerotransportadas de la mayoría de los hongos patógenos es ideal para que se depositen en los alveolos y ahí entra en juego el mecanismo de defensa inmunológico ⁽¹⁶⁾.

Candida albicans es responsable de la mayor parte de las enfermedades ocasionadas por levaduras. Las enfermedades causadas por *Cryptococcus*, *Trichosporon* y *Geotrichum* se han encontrado con menos frecuencia que la candidosis ⁽¹⁴⁾.

En el caso de *Trichosporon* y *Geotrichum* los microorganismos por sí mismos poseen un potencial de virulencia muy bajo y se encuentran en la segunda o tercera línea de oportunistas, por lo que requieren de una alteración más grave en las defensas del huésped, antes de que se produzca enfermedad invasiva. Sin embargo cuando participan en un proceso de invasión en un paciente gravemente expuesto, pueden producir infecciones fulminantes mortales ⁽¹⁴⁾.

Uno de los principales factores asociados a las infecciones micóticas es la infección por VIH, sin embargo en las últimas décadas la población de pacientes inmunosuprimidos ha aumentado debido a: mejor supervivencia de pacientes con inmunodeficiencias primarias, el desarrollo de quimioterapia para cáncer, el trasplante de órganos y de médula ósea; enfermedades en las que el uso de esteroides e inmunosupresores a largo plazo favorecen la inmunosupresión crónica, a estos tratamientos se han añadido los nuevos modificadores biológicos de la respuesta inmune como los anticuerpos monoclonales que inhiben de manera selectiva la respuesta inflamatoria. La simple hospitalización y uso de antibióticos de amplio espectro o el uso de antimicóticos profilácticos ponen a los pacientes en riesgo de micosis oportunistas como es el caso de la candidosis que es la infección hospitalaria más frecuente ^(15, 16).

Las enfermedades micóticas oportunistas representan en la actualidad del 10-15% de las infecciones nosocomiales. Candidosis diseminada y aspergilosis son las más frecuentes. Los factores de riesgo son uso de antibióticos de amplio espectro, esteroides, antimicóticos profilácticos, hiperglucemia, neutropenia y neoplasias hematológicas ^(15, 16).

El primer depósito para la infección nosocomial por levaduras es endógeno ⁽¹⁶⁾.

En el paciente con cáncer especialmente aquellos con leucemias y linfomas desarrollan infecciones micóticas que se asocian principalmente a neutropenia y linfocitopenia prolongada después de quimioterapia aunque el uso de antibióticos de amplio espectro y esteroides contribuyen en el desarrollo de la infección, el riesgo de la infección depende de la interacción de varios factores: estado de inmunosupresión del paciente (tipo, grado, duración), la presencia de tejido dañado y la exposición del paciente al patógeno ^(15,16).

La enfermedad ocurre cuando el hospedero presenta daño suficiente para alterar la homeostasis. El daño puede ser de diferentes tipos. Entre muchos otros, a nivel celular incluye necrosis, oncogénesis y apoptosis; a nivel de órganos y tejidos incluye inflamación, malignidad y fibrosis; a nivel molecular, mutaciones, similitud antigénica, rompimiento de inmunoglobulinas ⁽¹⁵⁾.

Los patógenos oportunistas causan enfermedades en aquellos individuos con compromiso en su respuesta inmune innata y/o adquirida ⁽¹⁶⁾.

El reconocimiento de estructuras fúngicas en la inmunidad innata por las células presentadoras de antígeno, depende de receptores TLR específicos a los morfotipos (levadura, hifa) que generan señales intracelulares que al llegar al núcleo expresan citocinas. Estas moléculas tienen la capacidad de amplificar la respuesta innata o de iniciar la respuesta adaptativa la cual se complementa con el reconocimiento del antígeno y moléculas co-estimuladoras. El resultado de esta presentación antigénica permitirá la diferenciación de linfocitos T y B. En el caso de la diferenciación a TH1 se

logrará la eliminación del hongo y la protección por anticuerpos se observa cuando estos participan en procesos de opsonización y neutralización ⁽¹⁵⁾.

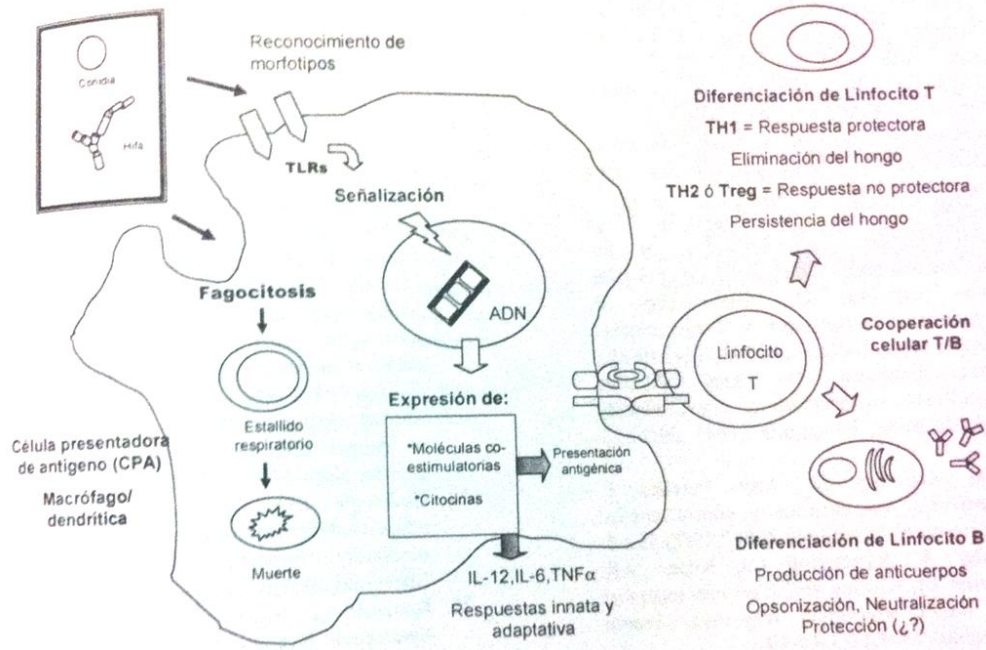


Figura 3. Reconocimiento y respuesta inmune hacia componentes de los hongos. Actualidades en Micología Médica.

La recuperación no establece inmunidad específica y se puede presentar reinfección si la resistencia general disminuye de nuevo. No existe diferencia en la susceptibilidad que se pueda atribuir a edad, sexo o raza. La población afectada por estas infecciones es determinada sólo por el tipo y la gravedad de la enfermedad principal; dos factores que deciden el pronóstico final de la infección, casi independientemente del tratamiento ⁽¹⁴⁾.

Cultivos múltiples obtenidos de un mismo paciente son en algunos casos necesarios para comprobar la relación del agente causal con la enfermedad, repetidas infecciones con diferentes cepas de un organismo pueden sugerir que el paciente es predisponente

a esa infección en particular como resultado de una exposición específica o defectos del huésped, mientras que si se trata de una misma cepa sugiere una reinfección posiblemente por un foco residual como un catéter ⁽¹⁶⁾.

El diagnóstico y tratamiento de las enfermedades por hongos representa un desafío sobre todo cuando se trata de pacientes inmunosuprimidos ya que la mortalidad por estas infecciones también se ha incrementado ⁽¹⁵⁾.

4.4 Candidosis

4.4.1 DEFINICIÓN

Es una micosis oportunista causada por diversas especies de levaduras del género *Candida*, en especial *Candida albicans* ^(1, 15,16).

La infección puede ser aguda o crónica, superficial o profunda, limitada a un órgano o multisistémica y con un amplio espectro de manifestaciones clínicas. La afección puede localizarse en boca, garganta, piel, cuero cabelludo, vagina, dedos de las manos, uñas, bronquios, pulmones o tubo gastrointestinal, o se vuelve generalizada como en el caso de septicemia, endocarditis y meningitis ^(14, 15,17).

Esta versatilidad de patologías depende de su habilidad de sobrevivir como comensal en diferentes sitios anatómicos del ser humano ⁽¹⁵⁾.

4.4.2 ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS

Es una enfermedad cosmopolita. Diversas especies de *Candida* son componentes de la microbiota habitual del cuerpo; se presentan desde los primeros días del nacimiento y tienen una gran predilección por las mucosas.

Candida albicans es un habitante normal del tracto gastrointestinal, del tracto respiratorio superior (boca, laringe, faringe) y de las regiones mucocutáneas pero prolifera en gran número si se rompe el equilibrio de la microbiota bacteriana o si gana la puerta de entrada al organismo a través de “ruptura de la barrera” ^(14, 16).

La candidosis es una de las infecciones más frecuentes, su nivel de profundidad y gravedad no depende tanto del agente etiológico en sí, sino del factor de predisposición con el que se asocie. Al ser una enfermedad causada por especies oportunistas va a provocar cuadros infecciosos favorecidos por algún factor de predisposición del paciente; la mayor parte de las veces se origina de manera endógena, casi siempre atribuible a dos procesos: el desequilibrio de la microbiota microbiana que favorece el incremento de levaduras de *Candida* (debido a cambio de pH, disminución de las bacterias por el uso de antibióticos) o debido a enfermedades o procesos que influyan en la respuesta inmune, sobre todo a nivel celular (defectos en el número o función de leucocitos polimorfonucleares y linfocitos T y B). ^(1, 14, 17, 18)

Estas infecciones se pueden originar de un foco endógeno, por ejemplo, del tracto gastrointestinal y en otras ocasiones de manera exógena, por ejemplo a través de catéteres ⁽¹⁵⁾.

Está claro que en muchas ocasiones, los individuos hospitalizados están en alto riesgo de contraer candidemia nosocomial debido a su deficiente estado inmunológico, como puede ser en casos de leucemia aguda, leucopenia, quemaduras o traumas, enfermedades gastrointestinales o nacimiento prematuro ⁽¹⁶⁾.

Los principales factores predisponentes referidos en la literatura asociados con el desarrollo de candidosis, son: traumatismos en piel y en mucosas, neutropenia, enfermedades crónicas granulomatosas e inmunidad celular dañada ⁽¹⁶⁾.

Las manifestaciones clínicas de la candidosis son diversas y pueden verse modificadas en gran medida por los factores predisponentes variables y la enfermedad fundamental del paciente ⁽¹⁴⁾.

Por tanto se tiene que considerar tres factores para que *Candida* pase de un estado comensal a un parásito: 1) los factores de virulencia de la levadura, que darán a esta la capacidad de adhesión y su poder de crecimiento; 2) factores predisponentes del hospedero, (factores fisiológicos (edad, embarazo), enfermedades o procesos debilitantes (diabetes, tuberculosis, hepatitis), inmunodeficiencias primarias o adquiridas (leucemias, linfomas, sarcomas, VIH-SIDA), iatrogénicos (corticoesteroides, antibióticos de amplio espectro, cirugía, catéteres), misceláneo (drogadicción, quemaduras, uso de drogas), 3) la influencia de otros microorganismos sobre la población de *Candida* ⁽¹⁵⁾.

Agentes inmunosupresores, citotoxinas y otros fármacos pueden disminuir de manera importante las defensas normales del huésped y lo predisponen a candidosis o a invasión por otros microorganismos oportunistas ^(14, 15, 18).

En la mayoría de las investigaciones acerca de la frecuencia de levaduras en la piel normal, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* y *C. krusei* encabezan la lista. *C. tropicalis* y *C. albicans* no se encuentran con regularidad en la piel normal, pero se pueden aislar de mucosas. Aunque la piel normal no alberga microbiota residente de *C. albicans*, casi cualquier lesión cutánea o cambio ambiental produce rápida colonización ^(14, 16).

Candida albicans es la principal especie causante de candidosis y puede ser aislada sola o de manera mixta con otras especies de *Candida* ⁽¹⁶⁾.

Candida es la causa principal de infecciones nosocomiales en todo el mundo, en particular *C. albicans* seguida de *C. glabrata* ^(15,16).

Tabla 2. Proporción relativa de Infecciones fúngicas nosocomiales por hongos patógenos.

Hongo patógeno.	Porcentaje estimado.
<i>Candida albicans</i>	61
<i>Candida glabrata</i>	8
Otras <i>Candida spp.</i>	19
<i>C. parapsilosis</i>	
<i>C. tropicalis</i>	
<i>C. krusei</i>	
<i>C. lusitaniae</i>	
<i>Aspergillus spp.</i>	1
Otras levaduras, mucorales, hialohifomicetos.	11

Tabla tomada de Anaisse *et al.* Clinical Mycology. ¹⁶

Al igual que *Cryptococcus neoformans*, su incidencia ha aumentado debido a la pandemia mundial de SIDA. En pacientes con SIDA, el defecto en células T con

disminución de células CD4+ hace que *Candida* sea la primera manifestación infecciosa por oportunistas seguida de criptococosis e histoplasmosis. ⁽¹⁵⁾.

4.4.3 MICOLOGÍA

El género *Candida* incluye un variado número de especies, de las cuales 6 a 8 especies son las que presentan más infecciones humanas, sobresaliendo *C. albicans*. La frecuencia de *C. albicans* ha ido en disminución por diversos factores, entre ellos la resistencia a fármacos, de manera que hoy en día el grupo denominado *Candida* no *albicans* está en aumento.

Está integrado por una colección heterogénea de levaduras anamórficas, las cuales se reproducen por blastoconidios y pueden formar pseudohifas e hifas (con excepción de *C. glabrata*) ^(1,15).

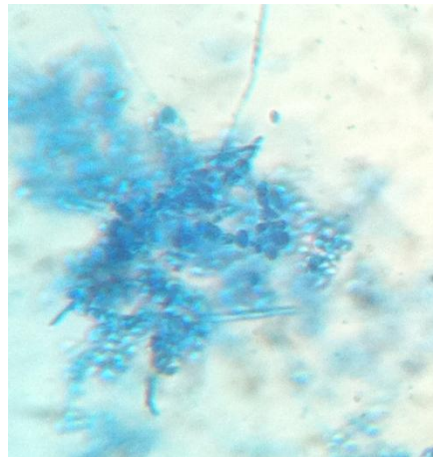


Figura 4. Examen directo de blastoconidios y pseudohifas de *Candida* spp (40X) con azul de algodón.

Son levaduras con ausencia de pigmentos, forma celular variable (las células pueden ser elípticas, globosas, cilíndricas) y una tienen pared celular con dos capas ^(1, 19).

Las células levaduriformes pueden experimentar tres diferentes procesos morfológicos: formación de blastoconidios, pseudohifa e hifa. Los factores que favorecen que la levadura adopte una u otra forma dependen del pH, fuente de carbono, fuente de nitrógeno, tamaño del inóculo y temperatura de incubación ⁽¹⁵⁾.

C. albicans varía morfológicamente en respuesta a cambios ambientales. Su pared celular es una estructura dinámica, constantemente cambiante, es un sistema de regulación complejo y dinámico. Los cambios que favorecen la morfogénesis son el pH y la temperatura. La levadura se adapta a microambientes múltiples, presentes en los diferentes tejidos del hospedero, puede crecer a pH de 2 hasta casi 8; crece en condiciones de microaerofilia y en aerobiosis normal, diferentes concentraciones de sales, etc. Esta adaptación se conoce como apagado y encendido de genes (switch fenotípico) y explica la capacidad de *C. albicans* de sobrevivir en condiciones ambientales diversas ^(15, 16).

Se ha llegado a la conclusión de que la etapa de levadura es necesaria para que se origine una lesión, y que el micelio se forma por exposición a los factores ambientales, los cuales provocan inhibición de la división celular, pero no del crecimiento, el resultado son hifas alargadas ^(14, 16).

Una vez que se han efectuado la colonización e invasión de un tejido u órgano en forma real, aumenta la proporción de elementos miceliales con la edad de la lesión. Así mismo, esta correlación es válida en las lesiones generalizadas, es decir, el predominio de las formas de levadura indica diseminación reciente y lesión joven; mientras que en las lesiones viejas, se encuentran pseudohifas y blastoconidios ⁽¹⁴⁾.

Existen algunos atributos que se han observado asociados a su virulencia ^(15,16):

- ❖ Adhesinas: que permiten la adhesión a las células del huésped. La adherencia es considerada un paso fundamental para el inicio de una candidosis diseminada, a través de la colonización y diseminación a los tejidos.
- ❖ Enzimas: aspartil proteinasas secretadas, fosfolipasas, lipasas, enzimas hidrolíticas constitutivas e inducibles que destruyen o alteran los constituyentes de las células del hospedero para promover su invasión a los tejidos.
- ❖ Transición morfológica: levadura, pseudohifa, hifa. La transición de *C. albicans* de levadura gemante a una forma micelial es respuesta a estímulos del ambiente es relevante para su patogenicidad.
- ❖ Switch fenotípico: la mayoría de las cepas de *C. albicans* presentan este fenómeno, que afectan una gran variedad de características, como son, diversas morfologías coloniales (blanca, opaca), diferencia de antigenicidad, adherencia, etc.

Para la identificación de especies, *Candida* crece en la mayoría de los medios de cultivos habituales, sin embargo es importante tener en cuenta que *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* y *C. zeylanoides* son inhibidas por la cicloheximida presente en el medio micoselel ⁽¹⁵⁾.

Es importante tener en cuenta que algunas especies presentan resistencia a ciertos antimicóticos, en el caso del fluconazol la mayoría de las cepas son sensibles, en particular las de *C. albicans*, sin embargo existen algunas cepas de *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis (sensu stricto)* y *C. krusei*, con facilidad adquieren

resistencia, esta última de manera intrínseca, de aquí la importancia de identificar el agente causal ^(1,14, 16).

En el caso de la anfotericina B la mayoría de las cepas de *C. lusitanae* son resistentes intrínsecamente, mientras que cepas de *C. glabrata*, *C. parapsilosis (sensu stricto)* y *C. krusei* pueden tener una sensibilidad intermedia a este fármaco. Se ha encontrado que la resistencia se debe a una alteración en el contenido de esterol en la membrana, usualmente ergosterol reducido ^(1, 14,16).

4.5 Criptococosis

4.5.1 DEFINICIÓN

La criptococosis es una enfermedad causada por un hongo levaduriforme del género *Cryptococcus* especies *neoformans* y *gatti*, principalmente, siendo más frecuente la primera de carácter oportunista, de desarrollo crónico, subagudo o rara vez aguda, puede involucrar pulmones u otras partes del cuerpo, pero con marcada predilección por el sistema nervioso central ^(15, 20).

En el hombre, la infección primaria casi siempre es pulmonar después de la inhalación de la levadura, generando posterior diseminación hacia la piel y vísceras, con un tropismo especial hacia el sistema nervioso central (SNC) ^(14, 15).

4.5.2 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

Es una enfermedad cosmopolita, ya que el agente causal se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, *Cryptococcus neoformans* ha sido aislado de algunas frutas, leche, suelo, madera y frecuentemente del guano de algunas aves ^(1, 15, 16).

Se ha reportado que las palomas constituyen el principal reservorio para la diseminación de este microorganismo; *C. neoformans* no enferma a las palomas debido a la elevada temperatura corporal del animal (42 °C), a la cual el hongo no puede reproducirse.

En la excreta de paloma, húmeda o desecada, persiste viable durante dos años o más ^(14, 15).

C. neoformans var. *neoformans* está disperso en todo el mundo y causa 99% de las infecciones criptococales en pacientes infectados con VIH. *C. neoformans* var. *grubii* se distribuye también en todo el mundo, pero parece ser más común en Europa ^(15, 16).

En algunos pacientes en estado de inmunosupresión grave *Cryptococcus neoformans* es el único agente etiológico de la criptococosis, por su carácter de oportunista ⁽¹⁴⁾.

Contrario a *C. neoformans*, *C. gattii* primariamente infecta a individuos previamente sanos (patógeno primario) ^(15, 20).

Aunque ambas especies infectan el SNC, *C. gattii* parece invadir el parénquima cerebral más comúnmente que *C. neoformans*. Además en pacientes infectados con *C. gattii* las infecciones y lesiones pulmonares son más comunes ⁽¹⁵⁾.

Los datos epidemiológicos indican que la criptococosis es una infección oportunista, dado que el microorganismo requiere de disminución en las defensas del paciente para establecer la infección. Su manifestación depende de la respuesta del huésped, más que de la cepa del microorganismo ⁽¹⁴⁾.

La protección del huésped contra *C. neoformans* se basa en un eficiente funcionamiento del sistema inmunológico de células T (inmunidad celular) ^(15, 16).

La principal forma de adquisición de la enfermedad es a través de las vías respiratorias por inhalación de las levaduras y las basidiosporas, al ser inhaladas pueden llegar hasta los alveolos pulmonares y generar un primocontacto, el cual la mayoría de las veces pasa desapercibido por cursar de manera subclínica, no provoca una intensa respuesta inflamatoria y puede llegar a desarrollarse de una manera masiva si las condiciones de inmunosupresión del paciente así lo permiten, en especial afecciones a inmunidad celular (células mononucleares) ^(15, 21).

Una vez iniciado el proceso infeccioso, si éste no es limitado por el sistema inmune, suele ocurrir diseminación linfática y hematógena, tendiendo a dirigirse de manera importante hacia el SNC ⁽¹⁵⁾.

Por lo regular, en el paciente inmunocompetente la infección que sigue a la inhalación del microorganismo se resuelve en forma rápida con síntomas mínimos y la enfermedad, si hay alguna, es subclínica. No es frecuente que en los pacientes inmunocompetentes se establezca infección crónica. Normalmente en los líquidos corporales se encuentran sustancias inhibitoras del desarrollo de *C. neoformans*.

Si el número de microorganismos inhalados es considerable, se puede iniciar infección en los pulmones, con focos de infección ocasionales y transitorios en otros sitios anatómicos. Aún cuando la reacción tisular y las defensas celulares sean provocadas con lentitud, suelen ser las adecuadas para detener la infección ⁽¹⁴⁾.

En cambio en pacientes con enfermedades debilitantes, neoplasias o expuestos como resultado de tratamiento con fármacos, sus defensas son mínimas e inadecuadas, la enfermedad se extiende con rapidez y afecta a casi todos los órganos, sobre todo al SNC ^(14, 22).

En la actualidad la criptococosis se relaciona, sobre todo con las enfermedades de la colágena, como el lupus eritematoso, muy a menudo con la sarcoidosis, así como con neoplasias, abuso de fármacos, diabetes, desnutrición, leucemia, trasplantes de órganos, linfomas, corticoterapia, tratamiento inmunosupresor y síndrome de Cushing. En la actualidad *C. neoformans* es el tercer patógeno frecuente en SIDA e inmunosupresión, más del 90% de los casos se asocian a infecciones por VIH/SIDA ^(14, 15, 22).

En pacientes con VIH/SIDA, la mayoría de los casos se presentan en estadios avanzados, este padecimiento (criptococosis pulmonar) afecta entre 6 a 10% de pacientes con SIDA ^(1, 21, 22).

Es frecuente aislar *C. neoformans* de esputo, piel y otras áreas expuestas al aire, como microbiota incidental o colonizador transitorio ⁽¹⁴⁾.

En pacientes con cáncer la meningitis es la presentación más común, las manifestaciones pulmonares y de la piel ocurren con menor frecuencia ^(16, 22).

Los humanos sin una historia de enfermedad de criptococosis tienen anti-cuerpos contra *C. neoformans*, lo que muestra que los humanos frecuentemente están en contacto continuo con éste hongo ⁽¹⁵⁾.

Los pacientes con meningitis usualmente están afectados por una diseminación pulmonar ⁽¹⁶⁾.

4.5.3 MICOLOGÍA

C. neoformans es una levadura capsulada de la clase *Blastomycetes*, de la familia *Criptococaceae*.

Son células esféricas, rodeadas de una cápsula compuesta por manosa, xilosa y ácido glucurónico, de tamaño variable. Su reproducción asexual se realiza mediante blastoconidios ^(1, 14, 15).

A *Cryptococcus neoformans* se le ha reportado un estado teleomórfico que corresponde a basidiosporas y se denomina *Filobasidiella neoformans*, mientras que el de *Cryptococcus gattii* se llama *Filobasidiella bacillispora* ^(1, 14).

C. neoformans se encuentra en climas templados, sin lugar a dudas uno de los hábitat más importantes y frecuentes de esta levadura (*C. neoformans* var. *grubii*) es el guano de algunas aves como palomas, pichones, gallinas, etc., por tanto, es habitual el aislamiento en los gallineros, palomares, atrios de iglesias, edificios viejos o abandonados, entre otros lugares. *C. gattii* predomina en zonas tropicales y subtropicales; en Australia y el sur de California. Se ha descrito que el hábitat de *Cryptococcus gattii* son los eucaliptos ^(1, 14, 23, 24).

En la naturaleza y en los cultivos la mayoría de las cepas son pobremente capsuladas mientras que en los tejidos esta levadura muestra una cápsula extensa ⁽¹⁶⁾.

Crece fácilmente en agar dextrosa de Sabouraud, desarrollando colonias mucoides de color blanco.



Figura 5. Colonias mucoides en agar Dextrosa Sabouraud.

Crece en medio de alpiste negro, el cual es preparado a base de extracto de semillas de alpiste (*Guizotia abyssinica*) en el cual se obtienen colonias de aspecto mucoides de color café brillantes o negras. *Cryptococcus neoformans* convierte el ácido cafeínico a compuestos de tipo melánico debido a la acción de la enzima fenol oxidasa que transforma los derivados de la DOPA en pigmentos melanoideos lo que le proporcionan a la levadura el color café característico (únicamente para *C. neoformans*) ^(1,14, 15).



Figura 6. Colonias en agar Alpiste negro.

Muestra sensibilidad variable a la cicloheximida (Actidione), la cual es incorporada a la mayor parte de los medios selectivos para hongos patógenos (agar Micosel ®) ⁽¹⁴⁾.

Son levaduras ureasa positivas, no reductoras de nitratos a nitritos, no fermentadoras de azúcares, asimilación de inositol, sin embargo *C. neoformans* es la única especie que crece bien a 37°C y que produce pigmento parecido a la melanina cuando crece sobre substratos que contienen compuestos de u orto polifenólicos ^(14, 15).

Para poder hacer la diferenciación entre *C. neoformans* y *C. gattii* existen tres pruebas ⁽¹⁵⁾:

- 1) Desarrollo en agar canavanina-glicina-azul de bromotimol (sólo crece var. *gattii*).
- 2) Asimilación de D-prolina como única fuente de carbono (sólo crece var. *gattii*).

- 3) Producción de ureasas posterior al crecimiento en un medio quelante (exclusivamente las ureasas de var. *neoformans* continúan con actividad).

Existen algunos atributos que se han observado asociados a su virulencia ^(15,16):

- ❖ Cápsula extracelular de mucopolisacárido (glucoronoxilomanana): esta cápsula polisacáridica tiene efectos directos e indirectos sobre múltiples componentes tanto de la respuesta innata como adaptativa. Tiene propiedades antifagocíticas e inmunomoduladoras, el efecto de la cápsula es benéfico para las levaduras debido a que las células criptococales encapsuladas no son fagocitadas por neutrófilos, monocitos o macrófagos. El tamaño de la cápsula aumenta durante la infección.
- ❖ Melanina: el monómero de la melanina de *Cryptococcus* es dihidroxifenilalanina, que es un producto de la oxidación de la tirosina, y son referidas como melaninas DOPA, la habilidad de producir melanina depende de la enzima fenol oxidasa. La presencia de la melanina puede proteger al hongo de diversas condiciones del ambiente donde se encuentra, en el hospedero se han descrito varios mecanismos por los cuales la melanina puede resistir a la fagocitosis y muerte por macrófagos, a la muerte por nitrógeno reactivo e intermediarios de oxígeno, y la alteración a la inducción de citocinas.
- ❖ Switch fenotípico: este fenómeno podría representar una vía de generación de diversidad fenotípica de levaduras patógenas para la sobrevivencia en un amplio rango de microambientes.
- ❖ Fosfolipasas, proteasas, superóxido dismutasa, ureasa.

Existen mecanismos de evasión de las defensas del huésped por parte de este hongo, como son: activación del sistema del complemento, des-regulación de la presentación antigénica por macrófagos, efecto inmunosupresor de antígenos fúngicos sobre la producción de citocinas por fagocitos mononucleares, estimulación de células supresoras e interferencia con la actividad fungicida de fagocitos por productos derivados del hongo hacia los metabolitos derivados del oxígeno y del óxido nítrico ^(15, 16, 24, 25).

Algunas cepas de *C. neoformans* han sido reportadas como resistentes a la anfotericina B y al fluconazol ^(15, 16).

4.6 Geotricosis e infecciones por *Saprochaete capitata*.

4.6.1 DEFINICIÓN

La geotricosis es una enfermedad causada por hongos levaduriformes oportunistas denominados *Geotrichum candidum* y *Saprochaete capitata* (antes *Geotrichum capitatum*) ^(1, 14, 26).

Las lesiones son broncopulmonares, bronquiales, bucales, vaginales, cutáneas y muy rara vez alimentarias. Afecta principalmente pulmones e intestino ⁽¹⁴⁾.

4.6.2 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

Es una enfermedad de distribución cosmopolita, el agente causal *G. candidum* es un hongo ubicuo, que se encuentra con elevada frecuencia en suelos, superficies de

frutas, sobre todo en cítricos, *detritus* vegetales, además está considerado como microbiota habitual de diversas partes del cuerpo, en particular de mucosas.

G. candidum ha sido encontrado en heces y algunas veces en garganta y piel. En algunos exámenes de esputo, heces, orina y secreciones vaginales se ha encontrado del 18 al 31% de las muestras, sin embargo no se encontraba asociado con ninguna enfermedad específica ^(14, 26).

La vía de entrada se considera endógena, por parte de *G. candidum* ya que es parte de la microbiota normal, sobre todo de intestino y boca, y exógena a partir del ambiente. Su entrada es por aspiración de artroconidios del hongo, aunque también podrían iniciarse a partir de la misma flora de las vías respiratorias superiores ^(1, 14).

S. capitata se ha encontrado en tubo digestivo, tracto respiratorio y piel.

La infección por *S. capitata* es poco común y ha sido reportada exclusivamente en pacientes inmunocomprometidos, el pronóstico es pobre con una tasa de mortalidad alta que va del 50 al 90%. Las infecciones en pacientes con enfermedades hematológicas son menos comunes comparadas con las candidosis o aspergilosis, los factores predisponentes son: neutropenia grave y prolongada, antibióticos de amplio espectro, quimioterapia y cateterización ⁽²³⁾.

En los casos de infecciones pulmonares por éstos hongos, las asociaciones más frecuentes se presentan en leucemia y VIH/SIDA, aunque también son importantes las enfermedades o terapias que causen inmunodepresión como linfomas, la administración de esteroides, enfermedades debilitantes del estado general del paciente y las que causan lesión a nivel pulmonar, como son las lesiones post-tuberculosas y diabetes la cuales también predisponen al desarrollo de esta micosis ⁽²⁶⁾.

G. candidum y *S. capitata* se manifiestan casi siempre como hongos oportunistas en pacientes inmunosuprimidos; la segunda especie se ha reportado como oportunista en casos diseminados y fungemias, por lo general tiene mal pronóstico ^(14, 26).

La virulencia de este hongo es baja y no se espera que cause infección en pacientes inmunocompetentes. Al ser parte de la microbiota normal del aparato digestivo y del tracto respiratorio la discriminación entre colonización e infección es difícil ^(40,46).

En pacientes no neutropénicos las infecciones por *S. capitata* pueden ser locales (endocarditis, meningitis, osteomielitis). En pacientes neutropénicos las infecciones son diseminadas. Del 60-80% de los pacientes con *S. capitata* tienen un involucro de órganos internos (pulmones, hígado, bazo y riñones). La forma pulmonar es la más común ⁽⁴⁰⁾.

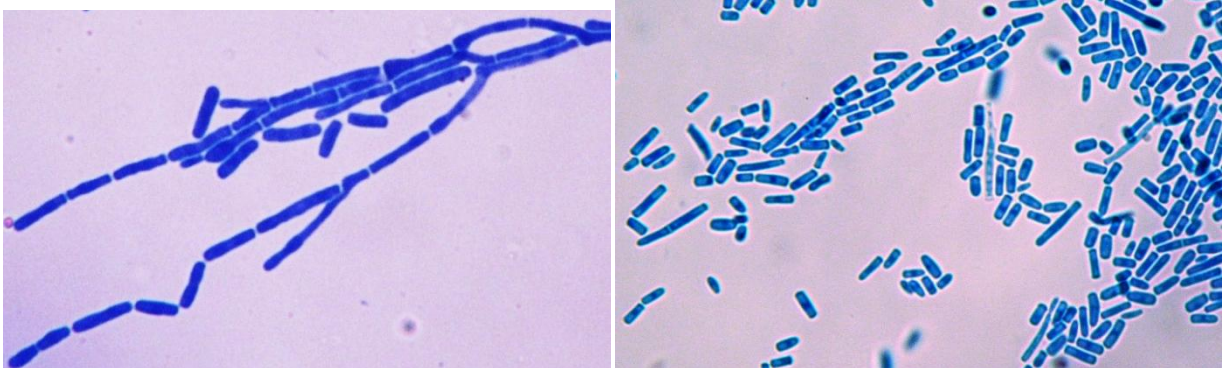
La geotricosis es principalmente causada por *G. candidum*, es una micosis oportunista emergente. Afecta principalmente a pacientes inmunocomprometidos debido a alguna enfermedad subyacente como leucemias, neoplasias, diabetes mellitus, trasplantes renales y VIH. La diseminación puede ocurrir en pacientes inmunocomprometidos.

El pronóstico de la enfermedad es pobre con una tasa de mortalidad que van desde 50 a 90% ^(40,46).

4.6.3 MICOLOGÍA

G. candidum es un hongo levaduriforme, aunque algunos autores no lo consideran así debido a que no se reproduce por blastoconidios; sin embargo, su comportamiento, sobre todo bioquímico y su reproducción sexuada, son bastante similares a los de este

tipo de hongos. Crece en la mayor parte de medio de cultivos pero es inhibido por el actidione (por lo que no crece en agar adicionado con este antibiótico). Se desarrolla de 3 a 5 días como colonias blancas y blanco-amarillentas, planas, vellosas, húmedas. Al microscopio se observan hifas macrosifonadas, septadas, con artroconidios.



Figuras 7 y 8. Hifas macrosifonadas, septadas, con artroconidios (40X).

En el caso de *G. candidum* sus características bioquímicas más importantes son la incapacidad para fermentar glucosa, sacarosa y lactosa, puede asimilar la glucosa y en ocasiones la lactosa, además de que es ureasa negativa y no presenta actividad caseolítica. Esta poca actividad bioquímica lo distingue de otros hongos, como *Trichosporon spp*, *Candida spp* y *Saccharomyces*.

S. capitata es un hongo filamentoso, blanquecino, cremoso. Se reproduce por artroconidios elipsoidales, que se disponen en forma simpodial. Algunas cepas pueden ser similares a *G. candidum*, tanto en su micromorfología como en su perfil bioquímico, pero se distingue de esa especie porque no fermenta D-xilosa ^(1, 14, 23, 27).

Presentan diversas enzimas como queratinasas, peptidasas, proteasas, hialuronidasas y se ha reportado la formación de biopelículas (*biofilms*); esto último es importante en

los casos de fungemias como consecuencia de colonizaciones de catéteres centrales y de válvulas cardíacas ^(1, 23).

En su fase teleomórfica se conoce como *Dipodascus capitatum* y es considerado un ascomycete ^(1, 23, 27).

4.7 Tricosporonosis (*trichosporonosis*)

4.7.1 DEFINICIÓN

Infección causada por un hongo levaduriforme denominado *Trichosporon*, produce infecciones profundas y sistémicas causadas en general por *Trichosporon asahii* y *Trichosporon mucoides*, la especie causante de la variedad clínica pulmonar es *T. asahii* ^(1, 16, 28).

4.7.2 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

El género *Trichosporon* es componente menor de la microbiota normal de la piel y se encuentra distribuido ampliamente en la naturaleza ^(14, 28).

Sus manifestaciones clínicas son muy variadas, sin embargo las formas clínicas más importantes son: cuadros pulmonares (neumonía), endocarditis (*biofilms*), encefalitis, afección renal y fungemia (septicemia fúngica); estos últimos cuadros clínicos son difíciles de diagnosticar y su pronóstico por lo regular es malo ^(1, 29).

La tricosporonosis es una infección fúngica poco frecuente pero de curso fatal sobre todo en pacientes inmunocomprometidos, particularmente aquellos que tienen enfermedades hematológicas ⁽²⁷⁾.

Por lo general se presenta en pacientes inmunosuprimidos, siendo el principal factor predisponente la neutropenia, trasplantados, bajo tratamiento con corticoides, leucemias, neoplasias y con VIH/SIDA. La tricosporonosis es una infección oportunista la cual puede generar infecciones de tipo invasivo.

La mayoría de los casos reportados de infección diseminada han sido en pacientes inmunosuprimidos en el contexto de enfermedades hematológicas o trasplante de órganos, estos pacientes también suelen tener una historia de corticoesteroides sistémicos ⁽¹⁶⁾.

Las infecciones diseminadas son causadas frecuentemente por *T. asahii* y están asociadas con leucemia, trasplante de órganos, mieloma múltiple, anemia, linfoma, tumores y SIDA. Las infecciones diseminadas son fulminantes, pueden ocasionar lesiones en el hígado, bazo, pulmones y tracto gastrointestinal ⁽²⁹⁾.

La tricosporonosis invasiva está documentada principalmente en pacientes con enfermedades hematológicas y otras condiciones asociadas con la inmunosupresión (*T. asahii*, *T. mucoides* y *T. asteroides*), mientras que la infección superficial y la neumonía alérgica son encontradas predominantemente en pacientes inmunocompetentes (*T. cutaneum*) ⁽⁴⁴⁾.

En pacientes con enfermedades hematológicas, este género ha sido reportado como el segundo agente más común en infecciones diseminadas por levaduras, detrás sólo del género *Candida spp*, con una tasa de mortalidad del 50 al 80% a pesar del tratamiento con terapia antifúngica ^(28,44).

Sin embargo, a pesar de ser menos frecuente, hay cada vez más informes de episodios de infecciones de órganos específicos y pacientes con tricosporonosis diseminada que se presentan con la neumonía.

La tricosporonosis en pacientes neutropénicos, sobre todo en niños, se presenta de una manera similar a la candidosis sistémica y tiene una tasa alta de mortalidad ⁽¹⁶⁾.

Se han reportado también casos en infantes prematuros y pacientes quemados ^(16, 28).

Las tasas de mortalidad para *Trichosporon spp* son del 77% y del 55% para *S. capitata* ⁽²⁷⁾.

4.7.3 MICOLOGÍA

El género *Trichosporon* ha sido recientemente clasificado como un género de levaduras del tipo *Basidiomycetes*. Es un género caracterizado por la producción de pseudohifas, artroconidios y blastoconidios ^(1, 16).

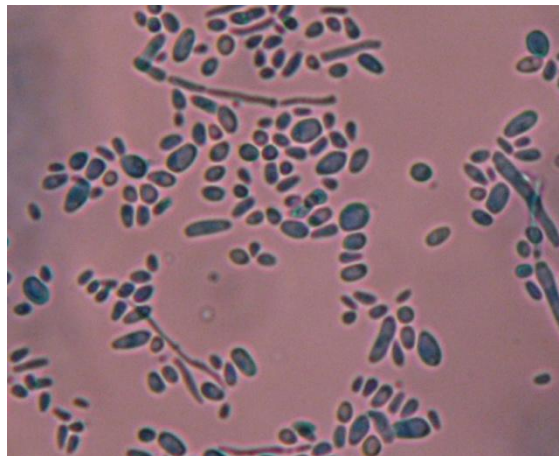


Figura 9. Pseudohifas, artroconidios y blastoconidios examen directo con azul de algodón (40X).

T. asahii es un hongo ubicuo, que se encuentra sobre todo en el suelo y el agua. Es considerado como parte de la microbiota humana, sobre todo de la región perigenital (1,16).

Las colonias de *Trichosporon* son levaduriformes, de rápido crecimiento, color blanco o crema, polvosas, harinosas con surcos radiales y pliegues irregulares. Este género asimila la L-arabinosa, sorbitol, melibiosa y mio-inositol. Crece en presencia de cicloheximida al 0,1% (29).

El género *Trichosporon* a diferencia de *Geotrichum* hidrolizan la urea y no fermentan carbohidratos o lo hacen escasamente (1, 16, 29).

Debe diferenciarse de *Candida* y *Geotrichum*. Difiere de *Candida* por la producción de artroconidios y de *Geotrichum* por la producción de blastoconidios (27).

A pesar de que *Trichosporon spp* puede representar el segundo o tercer lugar dentro de las levaduras causante de enfermedades invasivas en pacientes con cáncer hematológico, hay pocos reportes acerca de los factores de virulencia de este género. Algunos de los factores de virulencia de éste género son: la formación de *biofilms* [la habilidad para adherirse y formar *biofilms* en dispositivos implantados (catéteres) puede iniciar una tricosporonosis invasiva], producción de lipasas y proteasas, componentes de la pared celular, los miembros del género *Trichosporon* expresan glucuronoxilomanana (GXM) en su pared celular, similar a *C. neoformans*. Este polisacárido puede atenuar la capacidad fagocítica de neutrófilos y monocitos *in vivo*.

En algunos artículos se mencionan estudios en los cuales se buscó comprobar si éste polisacárido podía proteger a *T. asahii* de la misma manera que a *C. neoformans* aún si

la cápsula, como resultado se observó que la concentración de GXM en *T. asahii* fue 12 veces menor que en *C. neoformans*. Los principales componentes de *T. asahii* fueron manosa (60%), seguido de xilosa (24%) y glucosa (8%). Esto difirió del caso de *C. neoformans*, en el cual el tercer componente más común fue el ácido glucurónico (10%). Sin embargo, no se observó ninguna diferencia significativa con respecto a la fuente de GXM, lo que indica que a pesar de las diferencias en los principales componentes de azúcar, el GXM de *T. asahii* tiene un papel protector similar al de *C. neoformans* ^(37,40, 44).

Tabla 3. Correlación entre especies de *Trichosporon* e infecciones.

Especie	Tipo de infección
<i>T. cutaneum</i> <i>T. asteroides</i>	Infecciones superficiales y cutáneas
<i>Trichosporon ovoides</i> <i>Trichosporon inkin</i> <i>T. cutaneum</i>	Piedra blanca
<i>Trichosporon asahii</i> <i>Trichosporon mucoides</i>	Trichosporonosis diseminada.

Tabla tomada de Corrado, *et al.* Clin Microbiol. ²⁷

Es importante remarcar que la mayoría de las cepas son insensibles al fluconazol.

Resistencia a la anfotericina B *in vitro* ha sido detectada en cepas de *Trichosporon beigelli* aisladas de pacientes neutropénicos con trichosporonosis diseminada refractaria a la anfotericina B, algunos estudios han demostrado que la anfotericina B inhibe pero no mata al hongo, por eso en algunos casos de fungemia la infección persiste. Igualmente fluconazol puede presentar valores de CIM elevados para algunos

aislamientos de *Trichosporon*. Los valores de CIM para itraconazol y posaconazol suelen ser bajos ^(16, 27).

4.8 ASPECTOS CLÍNICOS DE LAS MICOSIS PULMONARES

La neumonía por *Candida* es una entidad rara y predomina en pacientes con severo inmunocompromiso, el involucro pulmonar generalmente es secundario a una diseminación sanguínea (septicemia) y diseminación de microorganismos desde otros sitios, aunque en algunos casos puede darse de manera primaria como resultado de una aspiración bronquial dando como resultado una bronconeumonía. La neumonía por *Candida* es clasificada como primaria cuando no hay manifestaciones hematógenas de candidosis, sin embargo entre los pacientes con cáncer sólo el 9% de candidosis pulmonar es primaria. La evolución es grave y generalmente con desenlace fatal ^(14, 15, 16).

La candidosis pulmonar o generalizada puede presentarse como secuela de enfermedad crónica o como fase terminal en diversas neoplasias ⁽¹⁴⁾.

Las candidosis respiratorias pueden ser:

1. Candidosis broncopulmonar: Enfermedad crónica y frecuente en pacientes inmunodeprimidos. No afecta el estado general del paciente, consiste en bronquitis crónica y se caracteriza por la presencia de tos constante con expectoración mucoide y estertores basales además de fibrosis. La parasitación se presenta en todo el árbol bronquial y en ocasiones genera cuadros de alergia ^(14, 30, 31).

Se presenta en pacientes severamente debilitados con tumores, pacientes neutropénicos con quimioterapia. La aspiración de secreciones orales infectadas dentro del árbol traqueobronquial con extensión dentro del parénquima pulmonar es la primera ruta de infección de bronconeumonía por *Candida* ⁽¹⁶⁾.

En la enfermedad avanzada, se observan placas pequeñas, blancas, también se pueden presentar lesiones ulcerativas ⁽¹⁴⁾.

2. Candidosis pulmonar: Es menos frecuente, con curso agudo y grave. Se caracteriza por ataque al estado general del paciente y se presenta casi siempre asociada con padecimientos o enfermedades que disminuyan severamente la respuesta inmune ^(30, 31).

Este tipo de enfermedad es progresiva y mortal, como enfermedad primaria es extraordinariamente rara, *Candida* coloniza sin dificultad en pacientes que presentan trastornos patológicos preexistentes atribuibles a otros agentes infecciosos, neoplasmas o alteraciones funcionales crónicas ⁽¹⁴⁾.

Con frecuencia los pacientes tienen algún trastorno principal como leucemia, linfoma o alguna enfermedad respiratoria grave, los factores predisponentes son el tratamiento prolongado con antibióticos, el uso de esteroides y de líquidos por vía intravenosa ⁽¹⁴⁾.

La criptococosis pulmonar inicia por inhalación de propágulos que pueden estar compuestos de las levaduras, fragmentos de micelio o de esporas (fase sexuada); cualquiera de estas estructuras llegan hasta los alvéolos, atravesando las vías respiratorias para generar el primo contacto pulmonar ⁽²²⁾.

En el 95% de los casos cursa de manera asintomática o subclínica; no obstante puede producirse como complicación de otras enfermedades en pacientes debilitados y convertirse rápidamente en generalizada o incluso en fulminante ^(14, 25).

La criptococosis pulmonar se presenta como una infección primaria, la cual puede localizarse en un sitio específico del pulmón o con diseminación a otros órganos. Las lesiones se pueden desarrollar en cualquier parte del pulmón aunque a menudo son bilaterales. El curso puede ser fulminante rápidamente mortal ^(15, 16).

Estas partículas llegan a los alvéolos atravesando las vías respiratorias; el árbol traqueobronquial humano puede colonizarse con *C. neoformans* sin el desarrollo de criptococosis activa. Si no existe una adecuada respuesta celular, los microorganismos proliferan rápidamente diseminándose por vía linfática o hematógena, con gran predilección hacia el SNC ^(16, 21, 22).

Cuando se presentan síntomas varían considerablemente, la sintomatología puede ser similar a un cuadro gripal. Las infecciones asintomáticas sólo pueden descubrirse mediante examen con rayos X, el examen radiológico para la criptococosis pulmonar, releva un cuadro variable, aunque por lo regular los cambios se agrupan dentro de cuatro categorías ^(14, 15, 24):

- ❖ El primer tipo es la más común, es la aparición de un área de infiltración discreta, solitaria y moderadamente densa en el campo pulmonar, en pacientes inmunocompetentes.

- ❖ En el segundo tipo de lesiones, se observa un infiltrado más amplio y más difuso que afecta las áreas pulmonares superior o inferior, en pacientes con EPOC o algún grado de inmunosupresión.
- ❖ En el tercer tipo se presentan infiltrados extensos peribronquiales. El grado en que resulta afectado el pulmón está en relación con la salud general del individuo y con la dosis inhalada del agente infeccioso.
- ❖ La cuarta forma se asemeja a la tuberculosis (tuberculosis miliar) y suele presentarse en pacientes con linfoma y leucemia.

La respuesta celular es la principal defensa del paciente contra la infección por *C. neoformans*, es por eso que al ser afectado este mecanismo en diversos padecimientos como en las leucemias, SIDA, etc, el paciente se hace altamente susceptible a la infección ^(22, 24).

Las lesiones locales de los pulmones tienen buen pronóstico en pacientes inmunocompetentes. Curan lentamente sin tratamiento y desaparecen o dejan cicatriz residual. En los pacientes inmunocomprometidos la infección de los pulmones tiende a consolidarse con compromiso de las meninges por diseminación hematológica al SNC ^(14, 15).

Con frecuencia, las lesiones criptocócicas coexisten con tuberculosis, otras micosis, enfermedad de Hodgkin, sarcoidosis y linfomas, de tal manera que el diagnóstico es confuso ^(14, 16, 24).

En el caso de la geotricosis la afección pulmonar es la forma más frecuente de la enfermedad, se presenta en pacientes inmunocomprometidos, en general se presenta

en pacientes con leucemias o alguna enfermedad hematológica (anemia, neutropenia), linfomas e infección por VIH/SIDA, también hay predisposición en pacientes con trasplantes, post- tuberculosis ^(14, 23, 27).

La geotricosis pulmonar (40%) es causada por ambas especies. Es una enfermedad crónica y exógena bastante similar a la tuberculosis o secundaria a esta ⁽¹⁾.

Aunque por lo general es crónica, la enfermedad se puede presentar como fulminante y en ocasiones mortal, si los pacientes se encuentran en tratamiento con esteroides ⁽¹⁴⁾.

El curso del padecimiento es casi siempre fatal, posterior a los cuadros pulmonares suele presentarse diseminación o cursar con fungemia; ambos cuadros son por lo general ocasionados por *S. capitata* y tienen mal pronóstico ^(1,26).

La geotricosis broncopulmonar, es otra forma de la enfermedad. Se observa que *Geotrichum* crece en la luz de los bronquios y el paciente presenta síntomas de asma grave ^(14, 23, 27).

La geotricosis bronquial es casi siempre endógena, se inicia con la parasitación de *Geotrichum* en vías respiratorias y la sintomatología es similar a la de una bronquitis ⁽²⁶⁾.

El pulmón no resulta afectado y la enfermedad consiste en una infección endobronquial ⁽¹⁴⁾.

Se puede presentar colonización de los bronquios por *Candida albicans* y *Geotrichum* en pacientes inmunosuprimidos y en los que padecen EPOC. En la broncoscopia, se observan placas blancas, finas en el árbol bronquial ⁽¹⁴⁾.

Finalmente en la trichosporonosis, la colonización del tracto gastrointestinal y los catéteres venosos centrales son considerados portales potenciales para la infección ⁽¹⁶⁾.

Los pulmones son considerados el órgano diana de la infección ^(16, 27, 28).

La trichosporonosis pulmonar no es muy común pero es una infección con desenlace fatal sobre todo en pacientes neutropénicos o en aquellos que reciben corticoesteroides ⁽¹⁶⁾.

Las manifestaciones clínicas son fungemia, funguria, disfunción renal, lesiones cutáneas y neumonía ^(16, 28).

Los signos y síntomas no son específicos, son parecidos a otras neumonías: abundante tos con expectoración mucopurulenta y hemoptisis en algunos casos, fiebre ligera, diaforesis nocturna, disnea, estertores alveolares, dolor pleural, pérdida de peso, astenia, se llega a presentar ataque al estado general ^(2, 14, 15, 16, 25, 27, 28).

En el caso de *Candida* las lesiones pulmonares son pequeños microabscesos o áreas necróticas, al examen radiológico se observan opacidades nodulares en “bolas de algodón”, las lesiones se parecen a las de la tuberculosis miliar y en los casos graves se desarrolla neumonía lobar. ⁽¹⁴⁾.

En las radiografías y tomografías se pueden llegar a observar áreas de consolidación, infiltrado intersticial difuso o bien limitado, pueden ser unilaterales o bilaterales y por lo regular están confinadas a los lóbulos superiores, se observan engrosamientos peribronquiales difusos. Puede presentarse un moteado fino en los campos pulmonares

medio y basilar. El examen macroscópico del pulmón puede revelar un proceso localizado o una afección extensa. (14, 15, 16, 27, 28).

En el caso de la geotricosis se encuentran en las áreas del pulmón asociadas por lo regular con tuberculosis (14, 27).

Los infiltrados pulmonares en la neumonía por *Trichosporon* consisten en bronconeumonía por aspiración o por una fuente orofaríngea, o bien múltiples infiltrados pulmonares por diseminación hematógica (16).

4.9 DIAGNÓSTICO DE LAS MICOSIS PULMONARES

4.9.1 TOMA DE MUESTRAS

El diagnóstico exitoso de laboratorio de las infecciones fúngicas depende directamente de la apropiada recolección de los especímenes (muestras) así como del rápido transporte de estos al laboratorio (16).

La selección apropiada de los especímenes se basa en la clínica o la exanimación radiográfica.

Estos deben ser obtenidos bajo condiciones asépticas y en una adecuada cantidad para examen directo y cultivos (16).

Muestras pulmonares

En las micosis pulmonares, se puede solicitar esputo, ya sea de manera natural o bien mediante expectoración inducida con nebulizador de solución salina hipertónica; esta muestra puede ser útil para algunas micosis, en especial las patógenas primarias (coccidioidomicosis, histoplasmosis, etc.), que presentan gran cantidad de estructuras

fúngicas; sin embargo, en las causadas por hongos oportunistas (*Candida* y otros), pueden estar como flora habitual o pasajera, o bien en localizaciones extrapulmonares y observarse en la muestra una contaminación en el tránsito (faringe, laringe, boca, etc.); en caso de que se procese esta muestra, los resultados emitidos deben ser cuidadosamente evaluados de acuerdo con la correlación clínico-micológica ⁽¹⁾.

En algunas ocasiones las muestras de expectoración pueden contener una gran cantidad de mucina o ser demasiado espesas y viscosas para procesarse; la adición de KOH al 10% en una proporción de 1:10, permite fluidificar adecuadamente la muestra para realizar exámenes directos y tinciones, no así para los cultivos; otra solución utilizada para este mismo fin y la cual si permite una recuperación viable en los cultivos es la solución de *N*-acetil-L-cisteína-NAOH (3%) (1:10 sobre la muestra) ⁽¹⁾.

❖ **Aspirado bronquial**

Esta muestra sólo puede ser colectada cuando el paciente se encuentra bajo ventilación mecánica, la aspiración se realiza con un catéter estéril. Se recogen secreciones bronquiales, pudiendo introducirse de 3 a 5 ml. de solución salina estéril ⁽³²⁾.

❖ **Aspirado traqueal**

Se utiliza fundamentalmente para valorar la colonización del tracto respiratorio en el paciente ventilado. Tiene valor análogo al esputo por su contaminación con la flora orofaríngea. Esta muestra se obtiene con sonda de aspiración por personal de enfermería debidamente entrenado.

Se colecta el espécimen a través de una traqueotomía o tubo endotraqueal, se pasa el catéter de polietileno a través del sitio dentro de la tráquea y se aspira el material de la

tráquea utilizando una jeringuilla o un succionador intermitente. Finalmente se remueve el catéter y se descarta la jeringa ⁽³²⁾.

❖ **Broncoscopía**

Es un examen para visualizar las vías aéreas y diagnosticar enfermedad pulmonar. Este examen se puede utilizar igualmente durante el tratamiento de algunas afecciones pulmonares.

El broncoscopio se pasa a través de la boca o la nariz, la tráquea y luego a los pulmones. Pasarlo por la nariz es una buena forma de examinar las vías respiratorias altas. Pasarlo a través de la boca le permite al médico utilizar un broncoscopio más grande ⁽³²⁾.

❖ **Espuito.**

Es una mezcla de secreciones del tracto respiratorio bajo y alto; el primero suele ser estéril pero el segundo se encuentra colonizado por bacterias y levaduras ⁽³³⁾.

Es un tipo de muestra fácil de obtener; sin embargo, como ya se mencionó, se corre el riesgo de contaminación por “arrastre” con infecciones localizadas en la mucosa orofaríngea ⁽¹⁾.

Lo más recomendable es que el paciente expectore en un recipiente estéril; se prefiere muestra obtenida por la mañana, en ayuno y se recomienda lavarse la boca con agua antes de expectorar ⁽³³⁾.

En los pacientes que no expectoran fácilmente, los esputos pueden inducirse por nebulizaciones con solución salina hipertónica ⁽³³⁾.

Si la producción es escasa; debe procesarse dentro de las primeras dos horas en que ha sido emitida para evitar la proliferación de otros microorganismos presentes en la muestra o su contaminación posterior ⁽¹⁾.

El frasco se destapará solo en el momento de colocar la muestra de esputo en su interior y se cerrará rápidamente.

De no producirse expectoración espontánea, puede inducirse el esputo con nebulizaciones de suero fisiológico estéril tibio (15 ml durante 10 minutos), siendo útil además realizar un drenaje postural o fisioterapia respiratoria ⁽³²⁾.

❖ **Lavado bronquioalveolar**

Es la muestra más adecuada para el diagnóstico de micosis pulmonares causadas tanto por patógenos primarios como oportunistas, debido a que son más fidedignas que aquellas obtenidas por simple expectoración por la probabilidad de ser parte de la flora de “arrastre”, o contaminación; debe considerarse que para su obtención pueden existir ciertos inconvenientes, como es el caso de pacientes comatosos, o bien con severa neutropenia o trombocitopenia, en los cuales este tipo de tomas de muestra, al ser invasivas, pueden resultar poco accesibles o de riesgo ⁽¹⁾.

El procedimiento es realizado por el médico con un broncoscopio flexible de fibra óptica, se introduce la solución de lavado, se aspira y se deposita en un frasco estéril con tapa de rosca ⁽³⁰⁾.

❖ **Secreción bronquial**

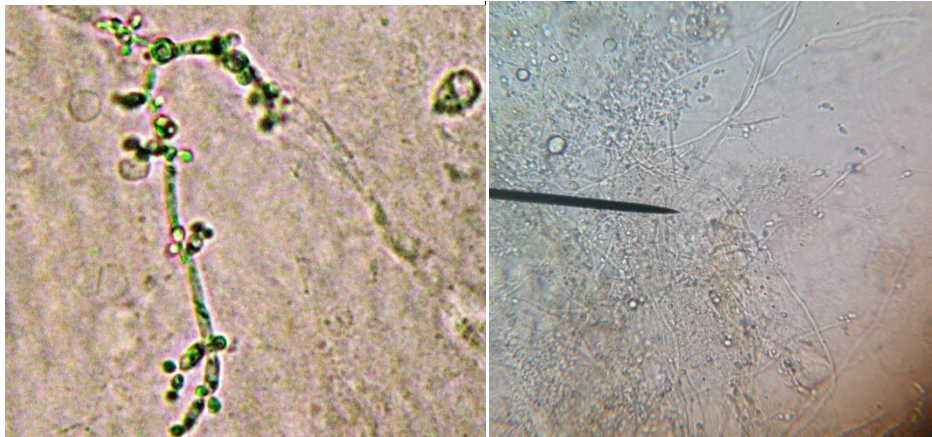
Usualmente se obtiene del paciente que tiene implantado un tubo endotraqueal provisto de una trampa estéril interpuesta en la línea de succión ⁽³³⁾.

Las muestras biológicas (expectoración, lavado bronquial, etc) son sometidas a un examen directo y cultivos.

4.10 ESTUDIOS DE LABORATORIO

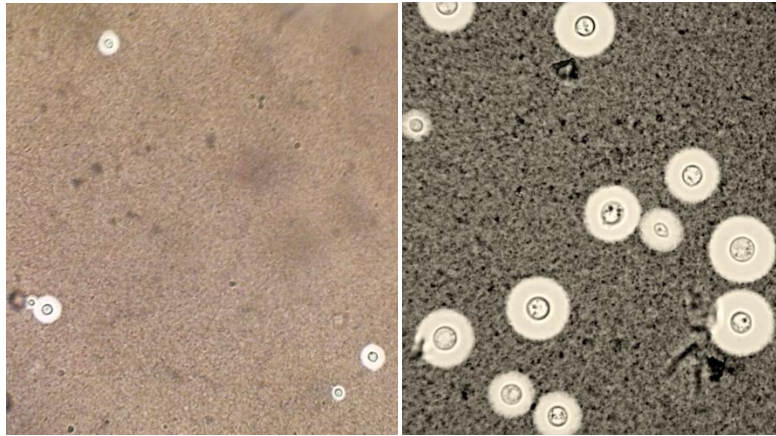
En el laboratorio se analiza cualquier muestra de origen pulmonar a través de un examen directo y un cultivo, el examen directo consiste en colocar la muestra entre un portaobjetos y un cubreobjetos con unas gotas de hidróxido de potasio (KOH) al 10% y observar al microscopio en busca de las estructuras parasitarias.

En el caso de candidosis al microscopio se observan cúmulos de blastoconidios y/o pseudohifas cortas o largas e hifas.



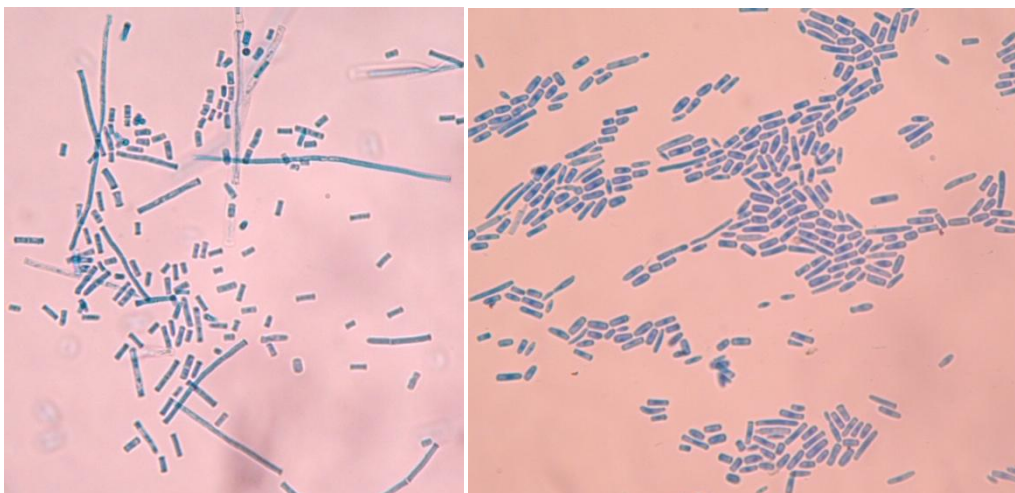
Figuras 10 y 11. Examen directo con KOH al 10%, se observan pseudohifas y blastoconidios.

Para criptococosis el examen directo consiste en realizar un frotis a partir de la muestra (esputo, LCR, secreciones, etc), y se agrega extendiendo una gota de tinta china; por refringencia con el microscopio se pueden observar el cuerpo de la levadura y el halo de la cápsula, sin embargo, los linfocitos pueden ser confundidos con este microorganismo ^(1, 15, 9).



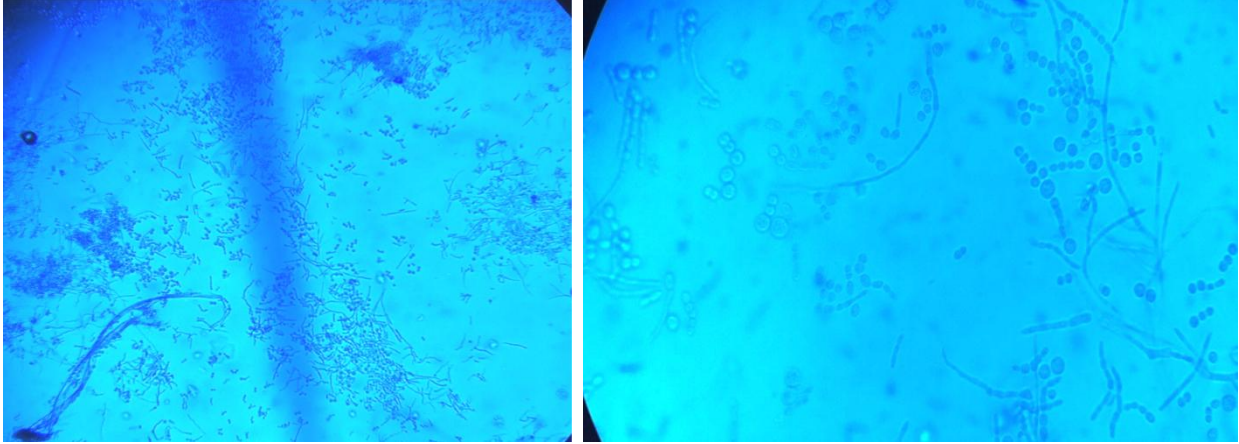
Figuras 12 y 13. Cápsulas de *C. neoformans* con tinción de tinta china (10X y 40X).

En el caso de geotricosis en el estudio microscópico se observan hifas tabicadas con arthroconidios. Los arthroconidios se pueden presentar de forma redondeada ^(1, 14).



Figuras 14 y 15. Arthroconidios en examen directo con azul de algodón (40X).

Finalmente en el estudio microscópico de trichosporonosis se observan múltiples hifas con blastoconidios libres o adheridos a estas y arthroconidios. ^(1, 16, 28).



Figuras 16 y 17. Hifas con blastoconidios y arthroconidios, examen directo con azul de algodón (10X y 40X).

Los cultivos se realizan en medios de agar dextrosa de Sabouraud sin antibióticos y adicionado de cloranfenicol y cicloheximida (agar Micosel ®), sólo en el caso de *Cryptococcus spp* se utiliza el medio de alpiste negro en sustitución del agar Micosel ®, y se incuban a 28°C durante 2 a 3 días, en el caso particular de *Geotrichum spp* se dejan entre 3 a 5 días y para *Trichosporon spp* desarrollan de 4 a 6 días.

Candida spp desarrolla colonias blanquecinas, cremosas, lisas, húmedas, limitadas.



Figuras 18 y 19. Colonias cremosas levaduriformes

Las colonias se resiembran en CHROMagar-*Candida*® (medio de cultivo adicionado con sustratos cromógenos), en el cual, acorde a un patrón de colores producido por el desarrollo de la levadura es posible identificar la especie de *Candida*.

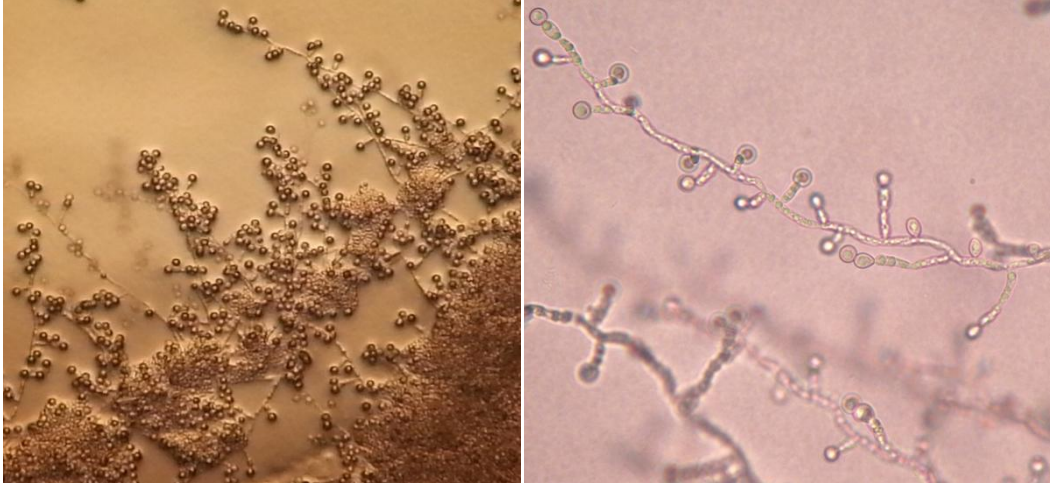


Figura 20. Especies de *Candida* en CHROMagar-*Candida*®

a: *C. albicans* (Verde claro), t: *C. tropicalis* (Azul-gris), p: *C. parapsilosis* (Fucsia), k: *C. krusei* (Rosa pálido), g: *C. glabrata* (Rosa intento).

El cromógeno está unido a un sustrato, que permite detectar actividad enzimática única presente en alguna de las especies de *Candida*, permitiendo el desarrollo de colonias con colores diferentes de acuerdo a la actividad enzimática detectada, además este medio facilita el reconocimiento de la mezcla de levaduras (candidosis mixta) ⁽¹⁵⁾.

Otra técnica útil consiste en cultivar la levadura obtenida en agar Corn meal + Tween 80 al 1% en el cual es posible identificar las especies de *Candida* más comunes mediante patrones de desarrollo característicos.



Figuras 21 y 22. Clamidoconidios de *Candida albicans* agar Corn meal + Tween 80 al 1% en (40X).

Las colonias de *Cryptococcus spp* en Sabouraud crecen como colonias mucoides, limitadas, convexas de color blanco amarillento y en alpiste negro colonias de aspecto mucoide de color café brillante ^(15, 16).



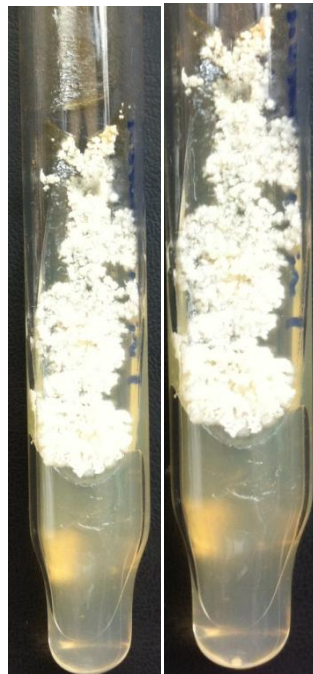
Figura 23. Colonias de *C. neoformans* en agar alpiste negro (izquierda) y agar dextrosa Sabouraud (derecha).

Geotrichum spp presenta colonias blancas, vellosas y húmedas ^(1, 14).



Figura 24. Cultivo de *Geotrichum sp* en agar dextrosa sabouraud.

Los cultivos de *Trichosporon spp* desarrollan colonias levaduriformes húmedas, limitadas y de aspecto cerebriforme ⁽¹⁾.



Figuras 25 y 26. Cultivos en agar dextrosa sabouraud de *Trichosporon spp*.

En algunos casos es difícil establecer el diagnóstico, por ejemplo en el caso de geotricosis, se deben descartar todas las demás etiologías. En forma similar a *Candida*, el microorganismo es parte de la microbiota normal de boca e intestino, pero es un oportunista mucho menos agresivo. No pueden diferenciarse los dos microorganismos sólo por las características histológicas; únicamente la identificación por cultivo es adecuada.

Con el fin de establecer un diagnóstico certero y teniendo en cuenta que se trata de microorganismos que forman parte de la microbiota normal, es necesario observarlos en cantidades considerables en la muestra recolectada y obtener múltiples cultivos positivos ⁽¹⁴⁾.

Además de todo lo anterior es recomendable asegurar la correcta identificación de la especie de levadura estudiada mediante el análisis del perfil bioquímico utilizando cualquiera de los métodos comerciales de que se disponga en el laboratorio (sistemas API- YEAST ®, AUXACOLOR ®, VYTEK ®, etc) ^(1,15, 31).



Figura 27. Perfil bioquímico con AUXACOLOR ®.

En cuanto a las pruebas inmunológicas el adulto normal tiene elevada inmunidad natural a la infección por *Candida*. El microorganismo vive como comensal en las superficies corporales y la enfermedad es poco común, a menos que haya alteración de las defensas del huésped o condiciones ambientales predisponentes, son muchos y variados los factores responsables de esta resistencia natural, por lo tanto muchas personas normales reaccionan a la prueba cutánea con antígenos, pero esto no se ha relacionado con enfermedad pasada o presente ⁽¹⁴⁾.

En pacientes con inmunosupresión, la mayor parte de las pruebas para anticuerpos anti-*Candida*, realizadas mediante cualquier procedimiento, dan resultados negativos ⁽¹⁴⁾.

Por lo anteriormente mencionado el diagnóstico inmunológico a través de intradermorreacciones, no es de gran utilidad ⁽¹⁴⁾.

Para el caso de *Cryptococcus* la prueba más útil es la determinación del antígeno criptocócico más frecuente en la cápsula de *C. neoformans* y *C. gattii*, que es el glucurono-xilomanano (GXM) ^(1, 14, 15, 22, 25).

Se hace por aglutinación de partículas de látex revestidas de anticuerpos anticapsulares (DACAD), la cual permite poner en evidencia fracciones antigénicas de *Cryptococcus*, presentes en muestras biológicas como suero, orina, LCR, aspirados y cepillados bronquioalveolares, con una sensibilidad mayor a 90%, mediante esta técnica es posible, no solamente apoyar al diagnóstico preciso de la enfermedad, sino además llevar a cabo un adecuado seguimiento terapéutico de los pacientes ⁽¹⁵⁾.

Es importante señalar que el factor reumatoide, así como las infecciones producidas por *Trichosporon spp.*, pueden generar falsos positivos. Podemos obtener falsos negativos cuando el número de microorganismos es muy bajo o cuando se presentan cepas con cápsulas muy pequeñas o ausente ⁽¹⁵⁾.

Títulos altos o sin cambio durante el tratamiento pueden ser considerados como evidencia de respuesta negativa al antimicótico usado o una recaída de la enfermedad siempre y cuando se pueda asociar con un deterioro de la condición clínica del paciente, o con un cultivo positivo ⁽¹⁵⁾.

4.11 TRATAMIENTO DE LAS MICOSIS PULMONARES

Es importante recordar que el éxito de cualquier terapia antimicrobiana, depende de un diagnóstico rápido, así como de la corrección o control de los factores predisponentes, ya sean intrínsecos o extrínsecos, el pronóstico depende casi por completo del tipo y gravedad de los trastornos o enfermedades predisponentes ^(1, 14, 15).

El tratamiento sistémico se lleva a cabo con azólicos como el itraconazol, para casos de candidosis sistémicas o graves, criptococosis y trichosporonosis a dosis de 200 a 400 mg/día, el fluconazol que es uno de los medicamentos más activos para la candidosis, a dosis de 200 a 400 mg/día para los casos severos.

El fluconazol es un triazol que tiene un buen efecto contra *C. neoformans*, *C. gattii* y *Trichosporon spp*; además es un fármaco que atraviesa con velocidad la barrera hematoencefálica y provoca pocos efectos secundarios; sin embargo, sus mejores resultados terapéuticos se obtienen al combinarlo con anfotericina B o con 5-FC ^(1, 21, 24, 25).

El tiempo de terapia es variable y puede fluctuar entre 4 a 6 meses y en algunos casos hasta un año, con un alto índice de recidivas, por lo que para evitarlas muchos autores recomiendan se mantengan dosis de fluconazol de 100-150 mg/día ^(1, 14, 15).

El ketoconazol puede utilizarse en la criptococosis y en la trichosporonosis a dosis de 400 mg/día (medicamento poco empleado por sus probables efectos hepatotóxicos) ^(1, 22, 24, 25).

Para la geotricosis los derivados azólicos: ketoconazol, itraconazol y fluconazol dan resultados muy variables. De los tres, con el que se obtienen mejores resultados es itraconazol y puede combinarse con KI ^(1, 14, 23, 27, 31).

Existen otros azólicos como el voriconazol y el posaconazol, el primero es un triazol de segunda generación y de amplio espectro es muy útil para los casos graves de candidosis o en casos de cepas insensibles o resistentes a fluconazol (*C. krusei*, *C. glabrata*). Su dosificación depende del caso, por lo general se usa por vía intravenosa y la dosis de carga en las primeras 24 horas es de 6 mg/kg cada 12 horas; la dosis de mantenimiento en pacientes con candidosis invasiva es de 4 mg/kg cada 12 horas ⁽¹⁾.

El posaconazol también puede utilizarse en casos de candidosis resistente, el espectro de actividad es muy amplio, incluye *C. krusei* y *C. glabrata* así como para *C. neoformans* ⁽¹⁵⁾.

La caspofungina es una equinocandina, derivado semisintético de la neumocandina B, la cual actúa a nivel de la pared celular fúngica (inhibe la 1,3-β-D-glucano sintetasa). Es un derivado de espectro moderado y muy activo frente a la mayoría de *Candida* spp. Útil en pacientes neutropénicos e inmunosuprimidos que no responden a terapia convencional. Se usa por vía intravenosa y se recomienda a dosis de 50 mg/día, en general iniciando con 70 mg ⁽¹⁾.

Para el caso de la geotricosis pulmonar el tratamiento incluye yoduro de potasio, nistatina en aerosol y anfotericina B ^(14, 27).

Para los casos bronquiales y pulmonares se puede utilizar yoduro de potasio (KI). En pacientes adultos la dosis es de 3-6 g/día. Se han reportado buenos resultados con el empleo de nistatina en aerosol a la dosis de 1 500 000 UI al día disueltas en propilenglicol al 10%.

Para la geotricosis broncopulmonar la colistina, el metansulfonato, la desensibilización y la prednisolona disminuyen los síntomas y los pacientes llegan a recuperarse sin ningún tratamiento antifúngico específico ^(1, 14, 23, 27).

Es importante mencionar que cuando se administra sola la anfotericina B no presenta buena acción contra *Geotrichum*; es más recomendable utilizar este fármaco en forma combinada con otros; de aquí la importancia de la adecuada tipificación de este hongo, ya que por lo regular es fácil que la geotricosis se confunda con aspergilosis u otras enfermedades micóticas.

El fármaco estándar para el tratamiento de la criptococosis es la anfotericina B, se administra por vía endovenosa a dosis de 0.7 a 1 mg/kg/día. En general se conduce aumentando la dosis de manera paulatina, dependiendo sobre todo de la función renal por la comprobada nefrotoxicidad de la sal ^(1, 14, 15).

Con la anfotericina B lipídica se reportan mejores resultados y menores efectos colaterales; la dosis recomendada es de 5 mg/kg/día, con un rango de 3 a 6 mg/kg/día; para la anfotericina B liposomal la dosis estándar es de 3 mg/kg/día, con un rango de 3

a 5 mg/kg/ día y para la anfotericina B de dispersión coloidal (complejo colesteryl-sulfato) la dosis es de 3-4 mg/kg/día ⁽¹⁾.

Es sólo utilizada para las candidosis sistémicas o profundas, también se utiliza en la trichosporonosis, sobre todo las que no respondan a los azoles sistémicos, como el caso de pacientes neutropénicos ^(1,14).

En el caso de la geotricosis en algunos casos asociados especialmente a neutropenia o pacientes trasplantados, es recomendable implementar la terapia combinada de anfotericina B más itraconazol o voriconazol o ambos a las dosis habituales para estos fármacos ⁽¹⁾.

El mejor resultado para los casos graves de trichosporonosis se obtiene con anfotericina B desoxicolato o con las nuevas presentaciones lipídicas ⁽¹⁶⁾.

Muchos de los tratamientos reportados son combinaciones de diversos fármacos, por ejemplo: anfotericina B adicionado con itraconazol, voriconazol o caspofungina ^(1, 14, 16).

En forma súbita se ha presentado en los últimos años el grave problema de la resistencia de muchos hongos patógenos a múltiples drogas antifúngicas; este fenómeno se ha atribuido por una parte a la elevada frecuencia de micosis, principalmente en pacientes trasplantados y con VIH y por otra parte el desarrollo de nuevas drogas antifúngicas, así como su administración masiva ya que con el uso crónico, se pueden presentar microorganismos resistentes al fármaco ^(14, 15, 16).

Los mecanismos de resistencia de las levaduras a los azoles se deben en gran medida a la expulsión del fármaco de la célula fúngica a través de una bomba de eflujo ⁽¹⁵⁾.

Las medidas profilácticas son muchas pero entre las más importantes se encuentra el empleo de antimicóticos sistémicos obligatorio en pacientes con antibioticoterapia prolongada y en aquellos con enfermedades hematológicas ⁽¹⁾.

El fluconazol es considerado como uno de los medicamentos de elección para profilaxis en pacientes inmunosuprimidos por VIH/SIDA, trasplantes y largos periodos hospitalarios; su dosificación depende del peso, pero se sugieren dosis de 50 a 100 mg/día ⁽¹⁾.

El voriconazol es de uso profiláctico, por ejemplo en pacientes inmunodeprimidos o con trasplantes. La duración del tratamiento depende de la respuesta clínica y micológica del paciente ⁽¹⁾.

El tiempo de tratamiento es variable; se recomienda de 6 a 12 semanas y luego dejar una terapia de mantenimiento (azolico). En la mayoría de los casos se recomienda una terapia combinada con algún otro fármaco, por ejemplo fluconazol. En pacientes con SIDA tratados por criptococosis, existe una alta probabilidad de recaídas si no se prescribe algún antimicótico como medida precautoria. ^(15, 16).

5. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

5.1 METODOLOGÍA

Tipo y diseño del estudio:

Se trata de un estudio ambilectivo, descriptivo, observacional, transversal, analítico, comparativo entre los datos obtenidos en el presente estudio y la información disponible en la literatura, en el cual se recibirá cualquier tipo de muestra de origen pulmonar para su análisis e investigación de etiología infecciosa micótica, colectadas y analizadas en el periodo de un año.

Población y tamaño de la muestra:

En el presente estudio serán incluidas todas las muestras de origen pulmonar que provengan de diversos servicios del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”, para estudios micológicos, durante el período de ocho meses (Junio del 2014 a Febrero del 2015).

Para la realización de este estudio se utilizaron muestras biológicas obtenidas por diferentes medios.

Criterios de inclusión, no inclusión y exclusión.

Inclusión:

1.- Muestras pulmonares para diagnóstico micológico provenientes de cualquier servicio del Hospital General de México, “Dr. Eduardo Liceaga”

No inclusión:

- 1.- Muestras pulmonares para diagnóstico micológico sin comprobación de infección micótica por estudios de laboratorio,
- 2.- No se incluirán las cepas provenientes de los mismos pacientes en posteriores aislados (es decir cepas aisladas durante el seguimiento terapéutico), a menos que se tratase de cepas diferentes

Exclusión:

- 1.-. Pérdida de la cepa durante el desarrollo del estudio.
- 2.- Comprobación de contaminación y no etiología de la patología pulmonar micótica.

Definición de las variables a evaluar y forma de medirlas

Variables principales:

- 1.- Tipo de levadura obtenida en la muestra pulmonar, nominal.
- 2.- Muestra biológica de donde fue aislada la levadura, nominal.
- 3.- Resultado de examen directo para micología dicotómica nominal.
- 4.- Resultado de cultivo para micología, dicotómica nominal.
- 5.- Enfermedad asociada, nominal.
- 6.- Tipo de inmunosupresión, nominal (celular, humoral, mixta).

VARIABLES SECUNDARIAS

- 1.- Edad, continua (en años).
- 2.- Sexo, nominal (femenino, masculino)

5.2 MATERIALES

- ❖ Tubos de ensayo de 16X150 mm.
- ❖ Portaobjetos.
- ❖ Cubreobjetos.
- ❖ Cajas petri de 100X15 mm.
- ❖ Jeringas de 1mL.
- ❖ Asas bacteriológicas.
- ❖ Kit de AUXACOLOR®).

Reactivos

- ❖ Hidróxido de potasio al 10% (KOH)
- ❖ Azul de algodón
- ❖ Tinta china

Medios de cultivo

- ❖ Agar Dextrosa Sabouraud (ADS).
- ❖ ADS más antibióticos (Micosel®).
- ❖ Medios cromogénicos (CHROMagar-Candida®).
- ❖ Cornmeal más Tween 80 al 1%.
- ❖ Alpiste negro.

Muestras biológicas

- ❖ Cualquier tipo de muestra de origen pulmonar (lavado bronquial, lavado broncoalveolar, expectoración, etc) provenientes de todas las unidades del Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga", así como de otras instituciones hospitalarias.

5.3 PROCEDIMIENTO

Se trató de un estudio en el cual se incluyeron cualquier tipo de muestras de origen pulmonar (lavado bronquial, lavado broncoalveolar, esputo, etc) provenientes de todas las unidades del Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga", así como de otras instituciones hospitalarias, las cuales fueron sometidas a pruebas de rutina para diagnóstico de micosis pulmonares por hongos levaduriformes, las cuales comprendieron: examen directo con hidróxido de potasio (KOH) al 10%, siembra de las muestras en Agar Dextrosa Sabouraud (ADS) y ADS + antibióticos (Micosel®) así como identificación de los agentes fúngicos responsables, mediante el uso de pruebas de investigación de perfil bioquímico (Kit de AUXACOLOR®).

Las muestras recibidas fueron divididas en dos partes, una parte fue sembrada en Agar Dextrosa Sabouraud (ADS) y ADS + antibióticos (Micosel®) y la otra parte fue utilizada para un examen directo con KOH al 10%.

Los cultivos se revisaban a las 48 horas, aquellos con crecimiento de levaduras fueron resembrados en placas de medios con sustratos cromogénicos (CHROMagar-*Candida*®). Se incubaron a 28 °C durante 48 horas. Con las características de color y el aspecto de la colonia se identificó de manera presuntiva el tipo o la presencia de más de una levadura en la muestra. Una vez identificada de manera presuntiva, se realizó la inoculación en la placa de pruebas bioquímicas (AUXACOLOR®), tomando su lectura cada 24 horas hasta completar 72 horas de incubación e interpretando el perfil a través de los códigos proporcionados por el laboratorio fabricante.

Para el caso de levaduras del tipo *Candida spp* las levaduras obtenidas en el medio cromogénico, fueron sometidas a la prueba fisiológica de confirmación de identidad en placas de medios de Corn meal + Tween 80 al 1%. Se incubaron a 28 °C durante 48 horas, para la inducción de producción de clamidosporas características de *Candida albicans*.

Se realizaron exámenes directos con azul de algodón a las colonias levaduriformes que tuvieran características de cepas de *Geotrichum spp.* o *Trichosporon spp.*, para corroborar en base a su micromorfología el género y la especie fue corroborada posteriormente con las pruebas bioquímicas.

6. RESULTADOS

Se obtuvieron un total de 173 muestras, de las cuales 5 fueron retiradas del estudio por criterio de exclusión (pérdida de la cepa, al examen directo se observaron estructuras parasitarias pero no hubo crecimiento en el cultivo). De esas 168 muestras hubo 12 muestras de pacientes subsecuentes, en las cuales sólo en un caso hubo crecimiento de diferentes especies en los cultivos subsecuentes, resultando en un total de 156 muestras. Refiriéndonos a las 12 muestras subsecuentes, éstas corresponden a 8 pacientes a los cuales se les solicitaron estudios subsecuentes (dos o tres en algunos casos) al tratamiento implementado y de cuyas muestras pulmonares se pudo obtener el aislamiento de hongos levaduriformes, obteniendo con ello un total de 160 pacientes. Por lo tanto de un total de 281 muestras provenientes de otro tanto número de pacientes, se comprobó la infección por hongos mediante examen directo y cultivo en 158 muestras (158/439, 36%).

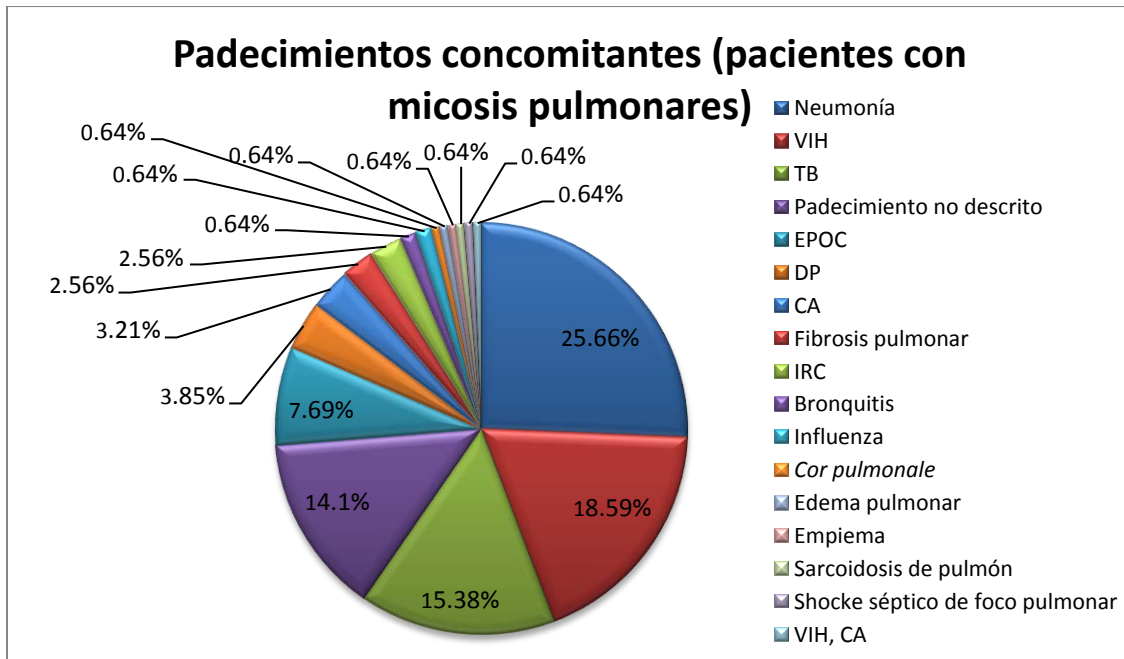


Figura 28. Relación de porcentajes de padecimientos concomitantes en pacientes con micosis pulmonares.

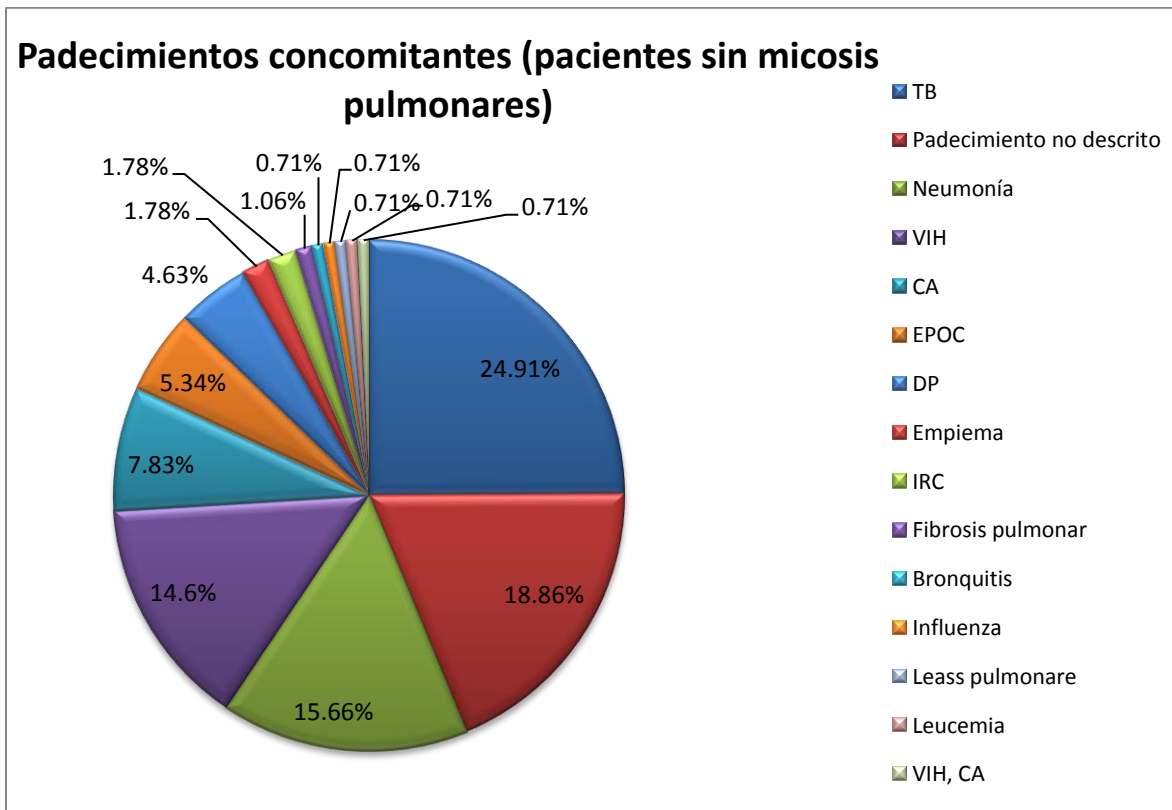


Figura 29. Relación de porcentajes de padecimientos concomitantes en pacientes sin micosis pulmonares.

Tabla 4. Número de padecimientos asociados en pacientes con micosis pulmonares y sin micosis pulmonares.

Número de padecimientos	Número de pacientes	Porcentaje (%)
Pacientes con micosis pulmonares		
Sin padecimiento descrito	22	13.75
Un padecimiento	123	76.87
Dos padecimientos	14	8.75
Tres padecimientos	1	0.63
Pacientes sin micosis pulmonares		
Sin padecimiento descrito	53	18.8
Un padecimiento	199	70.57
Dos padecimientos	29	10.88
Tres padecimientos	1	0.35

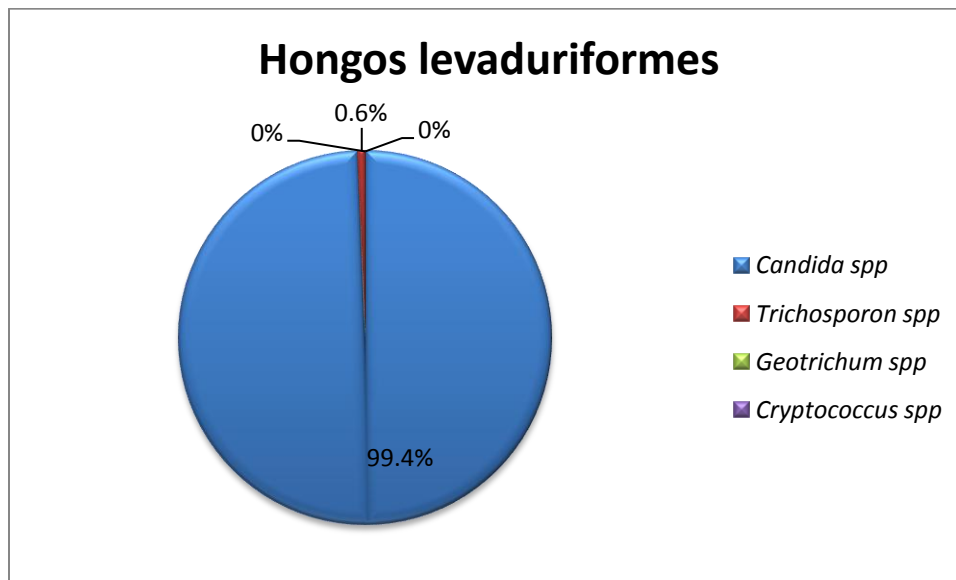


Figura 30. Relación de género de hongos levaduriformes obtenidos en el estudio.

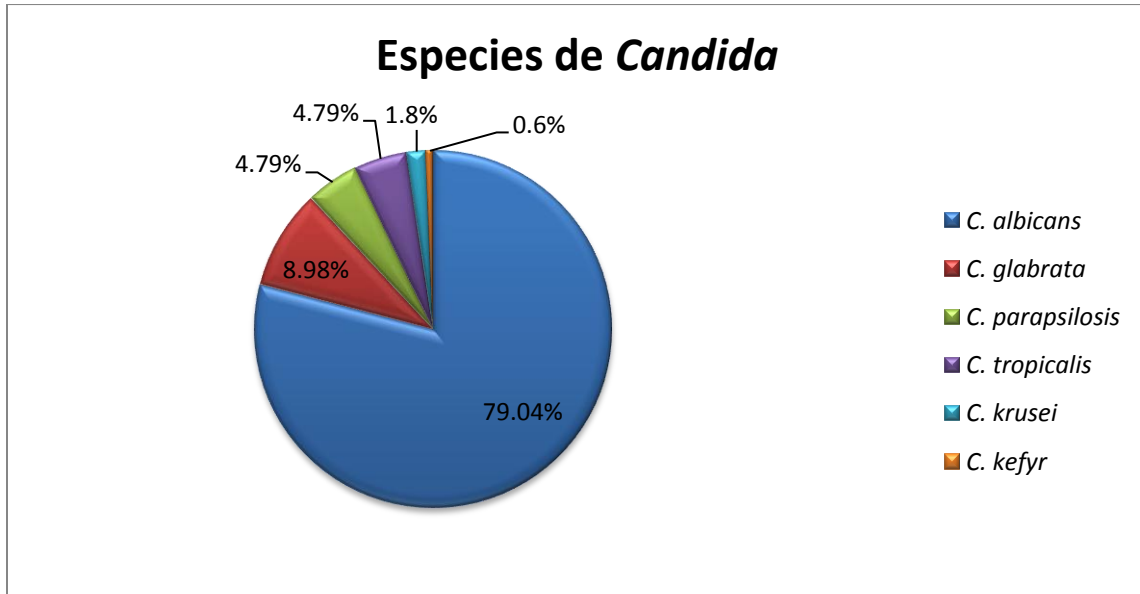


Figura 31. Especies de *Candida* aisladas en el estudio.

Tabla 5. Relación de padecimientos concomitantes y levaduras aisladas.

Padecimiento	Levadura	Porcentaje
Neumonía	<i>C. tropicalis</i>	2.38
	<i>C. glabrata</i>	14.29
	<i>C. albicans</i>	73.81
	<i>C. parapsilosis</i>	4.76
	<i>C. krusei</i>	4.76
	TOTAL	100
	<i>Trichosporon spp</i>	100
VIH	<i>C. albicans</i>	71.87
	<i>C. glabrata</i>	9.37
	<i>C. tropicalis</i>	3.13
	<i>C. parapsilosis</i>	9.37
	<i>C. kefyr</i>	3.13
	<i>C. krusei</i>	3.13
	TOTAL	100
Tuberculosis	<i>C. albicans</i>	87.5
	<i>C. tropicalis</i>	4.17
	<i>C. glabrata</i>	8.33
	TOTAL	100

EPOC	<i>C. tropicalis</i>	18.18
	<i>C. albicans</i>	72.73
	<i>C. parapsilosis</i>	9.09
	TOTAL	100
IRC	<i>C. albicans</i>	100
Cáncer	<i>C. albicans</i>	80
	<i>C. glabrata</i>	20
	TOTAL	100
Fibrosis pulmonar	<i>C. albicans</i>	57.13
	<i>C. tropicalis</i>	14.29
	<i>C. glabrata</i>	14.29
	<i>C. parapsilosis</i>	14.29
	TOTAL	100
Bronquitis	<i>C. albicans</i>	100
Empiema	<i>C. albicans</i>	100
Cor pulmonale	<i>C. albicans</i>	100
Influenza	<i>C. albicans</i>	50
	<i>C. glabrata</i>	50
	TOTAL	100
Derrame pleural	<i>C. albicans</i>	100
Shocke séptico de foco pulmonar	<i>C. albicans</i>	100
VIH, CA	<i>C. albicans</i>	100
Sarcoidosis de pulmón	<i>C. parapsilosis</i>	100
Edema pulmonar	<i>C. albicans</i>	100

Tabla 6. Candidosis mixtas. Tabla de padecimiento y especies.

Padecimiento	Combinaciones de especies
VIH	<i>C. albicans</i> y <i>C. kefyr</i>
	<i>C. tropicalis</i> y <i>C. albicans</i>
Neumonía	<i>C. tropicalis</i> y <i>C. glabrata</i>
	<i>C. albicans</i> y <i>C. parapsilosis</i>
	<i>C. albicans</i> y <i>C. krusei</i>
VIH, TB	<i>C. albicans</i> y <i>C. parapsilosis</i>
Tuberculosis	<i>C. tropicalis</i> y <i>C. glabrata</i>
Pad.no descrito	<i>C. tropicalis</i> y <i>C. albicans</i>
	<i>C. albicans</i> y <i>C. glabrata</i>
Fibrosis pulmonar	<i>C. tropicalis</i> y <i>C. glabrata</i>

Tabla 7. Candidosis mixtas. Especie y porcentaje.

Especie	Porcentaje (%)
<i>C. albicans</i>	35
<i>C. tropicalis</i>	25
<i>C. glabrata</i>	20
<i>C. parapsilosis</i>	10
<i>C. krusei</i>	5
<i>C. kefyr</i>	5

Tabla 8. Levaduras aisladas en pacientes subsecuentes.

Número micológico	Levadura aislada	Padecimiento
870-14	<i>C. albicans</i>	Neumonía
924-14	<i>C. albicans</i>	IRC
938-14	<i>C. parapsilosis, C. tropicalis, C. glabrata, C. albicans</i>	Fibrosis pulmonar
1413-14	<i>C. albicans</i>	VIH
1129-14	<i>C. albicans</i>	VIH, TB, Neumonía
1903-14	<i>C. glabrata</i>	Neumonía, EPOC
2113-14	<i>C. albicans</i>	DP
2133-14	<i>C. albicans</i>	Neumonía
036-15	<i>C. albicans</i>	Fibrosis pulmonar

Tabla 9. Medidas de tendencia central de las edades en los pacientes.

Medidas de tendencia	Pacientes con micosis pulmonares	Pacientes sin micosis pulmonares
Promedio	50.39	46.86
Mediana	52	47
Moda	52	43

7. DISCUSIÓN

El promedio en las edades de los pacientes positivos fue de 50.39, con una mediana de 52 y una moda de 52. Para el caso de los pacientes negativos el promedio fue de 46.86, la mediana de 47 y la moda de 43. Podemos observar que el grupo de edades en las cuales es posible encontrar con más frecuencia micosis pulmonares se encuentra alrededor de los 50 años, este valor pudiera variar si se toman en cuenta pacientes en edades pediátricas, ya que en nuestro estudio sólo se han incluido adultos.

La identificación de hongos patógenos tiene una implicación epidemiológica, ya que provee a través del acceso a la literatura, el conocimiento para el curso clínico de una infección y la respuesta a la terapia sobre todo en las micosis oportunistas inusuales.

El principal agente que se identificó fue *Candida*, en 157 muestras y en 10 casos se obtuvo el desarrollo de más de una especie de *Candida* en el mismo paciente, sumando un total de 167 cepas con crecimiento para éste género, de las cuales fueron *Candida albicans* 132 (79.04%), *C. glabrata* 15 (8.98%), *C. parapsilosis* 8 (4.79%), *C. tropicalis* 8 (4.79%), *C. krusei* 3 (1.80%) y *C. kefyr* 1 (0.60%), en tanto que 5 levaduras no pudieron ser identificadas debido a que no se obtuvo desarrollo en los cultivos de primoaislamiento.

En sólo un caso hubo crecimiento de una cepa de *Trichosporon spp*, en el cual la especie no pudo ser identificada debido a que el equipo de pruebas bioquímicas arrojó resultados de *Trichosporon spp* y no se disponía en ese momento de ninguna prueba de biología molecular para apoyo en este estudio.

Obteniendo un total de 168 cepas de las cuales 167 (99.4%) fueron por *Candida spp* y 1 (0.6%) por *Trichosporon spp*.

Los padecimientos concomitantes encontrados fueron neumonía (40/156, 25.66%), infección por VIH (29/156, 18.59%), tuberculosis (24/156, 15.38%), sin causa especificada (22/156, 14.10%), EPOC (12/156, 7.69%), derrame pleural (6/156, 3.85%), carcinomas (5/156, 3.21%), insuficiencia respiratoria (4/156, 2.56%), fibrosis pulmonar (4/156, 2.56%), bronquitis (2/156, 1.28%), influenza (2/156, 1.28%), empiema (1/156, 0.64%), *cor pulmonale* (1/156, 0.64%), shocke séptico de foco pulmonar (1/156, 0.64%), sarcoidosis de pulmón (1/156, 0.64%), VIH-Cáncer (1/156, 0.64%) y edema pulmonar (1/156, 0.64%), siendo la neumonía y la infección por VIH los principales padecimientos concomitantes.

En la literatura no se reporta un cálculo de factor de riesgo para las principales patologías encontradas en estas micosis, en aquellos artículos donde se llega a mencionar alguna cantidad se trata de porcentajes muy dispares, por ello sería importante realizar estudios para conocer este dato, en este estudio no fue posible realizar ese cálculo debido a que para ello se requeriría tener a cierto número de pacientes con cada patología reportada, sin datos clínicos para una posible micosis, y obtener muestras pulmonares para evaluar la presencia o ausencia de una micosis. En el presente estudio se recibieron muestras de pacientes con datos clínicos de enfermedades pulmonares, asociadas con algún tipo de enfermedad predisponente, por lo que sólo es posible hablar de frecuencias.

En las figuras 28 y 29 podemos observar la relación de porcentajes entre pacientes con micosis y sin micosis, para el caso de los pacientes con micosis pulmonares en la mayoría de los casos puede apreciarse un promedio de mayor pacientes con respecto a

aquellos que no tuvieron una micosis, sobre todo cuando se habla de aquellas enfermedades que abaten la inmunidad del huésped, sobre todo la celular, como en el caso del VIH.

Se puede observar que las patologías en las cuales se comprobó en mayor número una infección pulmonar por hongos son: neumonía (25.66%), VIH (18.59%) y tuberculosis (15.38%), mientras que las enfermedades en las cuales no se comprobó la infección pulmonar por hongos fueron: tuberculosis (24.91%), neumonía (15.66%) y VIH (14.0%), más adelante se analizarán estos datos.

En el caso de padecimientos oncológicos por tumores sólidos, es más probable desarrollar tricosporonosis o bien geotricosis en pulmones, y comparativamente es menor probable desarrollar candidosis o criptococosis, es decir, para el desarrollo de un cuadro de candidosis pulmonar el cáncer puede ser un factor de riesgo no es el principal.

El uso de altas dosis de quimioterapia y trasplante de sangre para los desórdenes malignos han contribuido al incremento de infecciones invasivas fúngicas. El riesgo disminuye con la reconstitución inmunológica la cual es rápidamente inducida después de la quimioterapia en enfermedades hematológicas.

La candidosis pulmonar en pacientes con cáncer se produce de dos maneras: neumonía por aspiración, en pacientes que están fuertemente colonizados por especies de *Candida* en la cavidad oral (neumonía primaria, aunque en pacientes con cáncer se reporta que sólo el 9% lo adquieren de esta manera) o como parte de una candidosis diseminada.

En comparación con algunos artículos se reporta, que en estos pacientes el diagnóstico convincente de una candidosis pulmonar es a través de un examen histopatológico. Sin embargo, los procedimientos invasivos son problemáticos en pacientes con cáncer y debido a ello se siguen solicitando muestras de expectoración o lavados broncoalveolares.

En el 77% de los pacientes con una candidosis diseminada y que desembocan en una candidosis pulmonar, estos presentan una enfermedad hematológica de fondo.

En pacientes con cáncer se ha reportado que los estudios clínicos comunes resultan insensibles para el diagnóstico de las micosis pulmonares, poco frecuentes, en estos pacientes. Se reporta que en estos pacientes la especie más común es *C. albicans*, lo que es concordante con este estudio.

La patología con mayor número de pacientes con micosis pulmonares fue la neumonía, aquí es importante diferenciar entre la neumonía producida por bacterias y virus de aquella que es causada por *Candida spp*, la neumonía por *Candida spp* es una entidad de predominio en pacientes severamente inmunocomprometidos. La afección pulmonar generalmente es secundaria a una diseminación sanguínea, pero también la candidosis bucal puede propagarse hacia el aparato respiratorio en los enfermos VIH positivos, y en baja frecuencia puede producir traqueítis, bronquitis y neumonía.

Algunos estudios han comprobado que puede producirse también neumonitis. La evolución de la neumonía es grave y generalmente con desenlace fatal.

La tuberculosis es una enfermedad debilitante que se contagia por vía aérea, cuando las personas infectadas tosen, estornudan o escupen. Un número creciente de

personas la contraen debido a que su sistema inmunitario se ve comprometido por medicamentos inmunosupresores, abuso de drogas o por el SIDA. Al ser una enfermedad debilitante es un factor para el desarrollo de una micosis pulmonar, sin embargo son mayores los pacientes que presentan esta enfermedad y no desarrollaron una micosis pulmonar a los que la tenían y la desarrollaron, 24.91% a 15.38% respectivamente.

La candidosis se ha asociado con esta infección, sobre todo cuando se asocia con el virus de la inmunodeficiencia humana, en los pacientes reportados con una micosis en este estudio hubo 3 casos que presentaron ambas patologías.

Hay evidencia sustancial que demuestra que las consecuencias del VIH y la tuberculosis en una co-infección, son mayores que la presencia de cualquiera de ellos individualmente.

Se sabe que los pacientes con VIH/SIDA son uno de los principales grupos de riesgo para desarrollar candidosis, sobre todo causada por *C. albicans*, la cual tiene diversos factores de virulencia que son responsables de la invasividad y proliferación de hongos, causados por la destrucción de tejidos del huésped en el que los organismos se proveen de nutrientes por los tejidos del huésped.

El aumento de la resistencia a los fármacos antifúngicos por parte de esta especie, contribuyen al fracaso recurrente en el tratamiento de esta enfermedad.

Artículos reportan hallazgos en los cuales cepas aisladas de *Candida spp* en pacientes con tuberculosis y con VIH tienen significativamente mayor producción de fosfolipasas, caseinasas y lipasas, que aquellos pacientes que sólo presentan alguna de estas enfermedades. La producción de estas enzimas proteolíticas es responsable de la proliferación y la penetración en los tejidos del huésped.

Como se puede observar en la tabla 4, en el caso de los pacientes con una micosis pulmonar, el 13.75% de los pacientes (22/160) no tuvieron un padecimiento descrito, el 76.87% (123/160) tuvieron un padecimiento, el 8.75% de los pacientes (14/160) presentaron dos padecimientos y el 0.63% (1/160) presentaron 3 padecimientos concomitantes, en cuanto a los pacientes que no desarrollaron una micosis pulmonar, el 18.80% de los pacientes (53/282) no tuvieron un padecimiento descrito, el 70.57% (199/282) tuvieron un padecimiento, el 10.88% de los pacientes (29/282) presentaron dos padecimientos y el 0.35% (1/282) presentaron 3 padecimientos concomitantes.

Es importante señalar que en los casos en que se presentaron dos o tres padecimientos, para ambos grupos de pacientes, algunos de los padecimientos referidos eran datos clínicos, por lo que para realizar el conteo para la obtención porcentajes finales en los padecimientos concomitantes, se refirió solamente el padecimiento de base.

Como se mencionó anteriormente el principal género aislado fue *Candida spp*, siendo *C. albicans* la especie principal, seguida de *C. glabrata* y *C. parapsilosis*. *C. albicans* desarrolló en casi todos la padecimientos salvo en la sarcoidosis de pulmón, en el cual sólo hubo desarrollo de *C. parapsilosis*, sin embargo es importante recordar que ésta enfermedad que se produce como resultado de una inflamación y puede convertirse en fibrosis pulmonar, padecimiento en el cual se obtuvo crecimiento de ambas especies. Para el caso de *C. glabrata* hubo crecimiento en los principales padecimientos como son VIH, neumonía, tuberculosis y EPOC. *C. tropicalis* también tuvo desarrollo en los primeros cuatro padecimientos y en fibrosis pulmonar. *C. krusei* sólo tuvo desarrollo en aquellos pacientes que presentaron infección por VIH o

neumonía y finalmente *C. kefyr* desarrolló en una candidosis mixta junto con *C. albicans* en un paciente con VIH.

Candida spp es la causa principal de infecciones nosocomiales en todo el mundo, *C. albicans* es la especie más común causante de candidosis (representa aproximadamente el 75% de todas las levaduras aisladas de especímenes clínicos), seguida de *C. glabrata*, y puede ser aislada sola o de manera mixta con otras especies de *Candida*, sin embargo la frecuencia de *C. albicans* ha ido en disminución por diversos factores, entre ellos la resistencia a fármacos, de manera que hoy en día el grupo denominado *Candida no albicans* está en aumento.

Las especies no *albicans* representan la microbiota normal de áreas cutáneas y mucocutáneas y aunque son de patogenicidad muy limitada, se les considera mucho más agresivas que *C. albicans* debido a la resistencia que algunas de ellas generan hacia los fármacos, algunas especies presentan resistencia al fluconazol, como *C. glabrata* o *C. krusei*, ésta última tiene resistencia intrínseca, lo que en algunos casos sobre todo cuando las especies no se encuentran tipificadas correctamente, puede resultar en un fracaso terapéutico.

Aunque se han reportado más de 17 especies patógenas, el 90% de las infecciones se atribuyen a: *C. albicans* (50%), *C. glabrata*, *C. parasilopsis*, *C. tropicalis* y *C. krusei* (15-30% en total). También se reportan casos de *C. guilliermondii* y *C. lusitaniae* (menos del 1%). En el presente estudio los porcentajes de estas especies se presentan en la figura 31 y coinciden con las frecuencias descritas en la literatura.

C. albicans se considera una especie con politropismo, *C. glabrata* causa principalmente vaginitis, candidosis oral o broncopulmonar, *C. krusei* afecta mucosas o

enfermedades sistémicas, *C. parapsilosis* causa onicomiasis y candidemias (sobre todo en neonatos) y es una de las especies de *Candida spp* que forman mayor cantidad de *biofilms*. *C. tropicalis* provoca vaginitis y candidosis broncopulmonar y aunque es la especie que produce más pseudohifas es muy sensible al tratamiento.

C. kefyr es una levadura que se encuentra en algunos alimentos, sobre todo en los productos lácteos, está reportada en algunos artículos como un patógeno emergente en pacientes con enfermedades hematológicas (sobre todo en pacientes neutropénicos y con leucemia aguda bajo tratamiento con quimioterapia). La leucemia aguda es la enfermedad más común en niños, esta comúnmente se presenta con neutropenia, el cual es un factor de riesgo para infecciones secundarias en este tipo de pacientes.

La razón por la que este patógeno tiene predilección hacia estos pacientes inmunocomprometidos es aún desconocida, aunque hay especulaciones de que la mucositis, inducida por agentes quimioterapéuticos, favorece su colonización e infección, los hábitos alimentarios pueden jugar un papel importante, al menos algunos estudios lo han demostrado, sobre todo en productos lácteos.

En el 86.4% de los casos se ha encontrado colonizando junto con otras especies de *Candida spp*. La colonización con múltiples especies de *Candida* no se considera un factor de riesgo aunque es importante señalar que *Candida* “permite” el desarrollo en el huésped sobre todo en poblaciones de neutropénicos con antibióticos de amplio espectro.

De acuerdo con la literatura. *Candida spp* es conocida por causar neumonía en estos pacientes, aunque la incidencia ha ido disminuyendo por la terapia profiláctica.

Se ha demostrado que *C. kefyr* es menos virulenta que *C. albicans* y *Candida tropicalis*.

Algunos artículos mencionan también que es propensa a desarrollar resistencia a toda clase de antifúngicos, aunque actualmente es susceptible a fluconazol y voriconazol. Se ha encontrado que la mayoría de los casos se dan en época de verano.

C. kefyr debe ser considerada como un posible agente causante de neumonía en pacientes con enfermedades hematológicas y no debe ser considerado como un mero colonizador.

Los pacientes con tumores sólidos son más propensos a tener *C. albicans* mientras que los hematológicos levaduras no *albicans*. Pacientes de alto riesgo son: aquellos que están colonizados por *Candida spp* en dos o más sitios, aquellos que tienen o son propensos de tener ruptura de la integridad de las mucosas y pacientes inmunosuprimidos (localmente incluidos aquellos que recibieron un trasplante o sistémicamente por aquellos que siguen una terapia inmunosupresiva). Neonatos, adultos enfermos gravemente (quemados, hemodiálisis), pacientes con cáncer, trasplante de médula ósea, y aquellos con etapas avanzadas de SIDA. Neutropenia y defectos en la función de los neutrófilos predisponen a candidosis invasiva.

Algo que vale la pena señalar es que el único padecimiento en el cual hubo desarrollo de todas las especies de *Candida* fue la infección por VIH. Los hongos frecuentemente causan enfermedades en estos pacientes. El riesgo de desarrollar una infección fúngica depende principalmente de: la severidad del deterioro de la inmunidad celular, el riesgo de exposición, uso reciente u ocurrente de antifúngicos y neutropenia.

Generalmente pacientes con bajas cuentas de linfocitos CD4 son los de mayor riesgo de desarrollar una infección fúngica.

La infección por VIH es el mayor factor predisponente de riesgo en las personas para las infecciones serias fúngicas. Los neutrófilos de los pacientes con SIDA tienen dañada la actividad fungicida contra *C. albicans* y *C. neoformans*.

En el caso de la neumonía hubo desarrollo de las 5 principales especies de *Candida* además de *Trichosporon spp.* Este hongo ha sido reconocido como un agente oportunista emergente que causa infecciones invasivas en hospitales de tercer nivel en todo el mundo y se ha reconocido como una causa rara pero emergente de la infección diseminada específicamente en pacientes leucémicos.

En varios estudios se ha reportado que las especies más comunes son *T. asahii*, *T. inkin*, *T. mucoides* y *T. cutaneum*.

Los principales factores de riesgo son: leucemia, neutropenia, quimioterapia, linfomas, VIH, trasplantes y quemaduras. Lo que explica porque en este estudio no hubo, salvo en un caso, crecimiento de éste hongo, ya que ningún paciente fue reportado con ninguna enfermedad hematológica como leucemia o neutropenia.

Se han reportado más casos en pacientes pediátricos. Los infantes con bajo peso al nacer pueden desarrollar tricosporonosis, a pesar de ser una causa rara de sepsis en neonatos.

Se ha descrito que el género *Trichosporon*, además de las infecciones que causan, es el principal agente etiológico de la neumonitis por hipersensibilidad tipo verano en

Japón, una enfermedad pulmonar inducida inmunológicamente, con mecanismos de la patogénesis que implican una lesión pulmonar inicial inmune, mediada por complejos seguido de daño tisular mediado por células con infiltración masiva de linfocitos en los pulmones.

Trichosporon spp puede representar el segundo o tercer lugar dentro de las levaduras causante de enfermedades invasivas en pacientes con cáncer hematológico.

De 167 cepas de *Candida* hubo 10 casos en los cuales se presentaron candidosis mixtas (6%, 10/167) y por lo tanto 157 con una sola especie (94%, 157/167). Dentro de estas la especie predominante fue *C. albicans*, seguida de *C. tropicalis* y *C. glabrata*. También hubo casos de candidosis mixtas con *C. parapsilosis*, *C. krusei* y como se había mencionado anteriormente el único caso de *C. kefyr* fue en un paciente con VIH y fue de manera mixta con *C. albicans*.

La existencia de más de una especie de *Candida* en las muestras biológicas puede tener efectos importantes en la respuesta terapéutica, tipo de antimicóticos administrados y en el tiempo del tratamiento, así como complicaciones en el cuadro clínico, debido a las diferencias en sensibilidad o resistencia a los medicamentos, los factores de virulencia de las levaduras y las características del paciente que originaron la candidosis.

De acuerdo la literatura, las candidosis mixtas se presentan del 3 al 6%, en el caso de este estudio corresponde al 6%.

En la tabla 7 se muestra que *C. albicans* fue la especie que se tipificó con mayor frecuencia en los casos mixtos (35%), seguida de *C. tropicalis* (25%), *C. glabrata* (20%), *C. parapsilosis* (10%), *C. krusei* (5%) y *C. kefyr* (5%).

Las asociaciones de más de una especie de *Candida* implicadas en procesos infecciosos causados por estas levaduras repercuten de manera importante en el pronóstico de la evolución de los cuadros clínicos y la posible respuesta terapéutica, lo que genera fracasos terapéuticos totales o alivio parcial sin curación adecuada o, bien, complicaciones subsecuentes ante los procesos de infecciones con cepas con diferentes características de virulencia.

El hecho de poder detectar candidosis mixtas tiene mayor importancia cuando, según el origen de la muestra clínica, se sospeche una variedad clínica sistémica (pulmonar, orina, sangre, etcétera), así como el padecimiento inicial del paciente que la originó, ya que de esto dependerá el tratamiento a elegir y el éxito o fracaso de éste, debido a que, según los resultados obtenidos, alrededor de 5% de las candidosis en cualquier forma clínica serán mixtas.

Artículos reportan que la mayoría de los casos mixtos son sistémicos, principalmente cuando se trata de casos pulmonares.

En este estudio *C. albicans* se tipificó en la mayoría de los casos mixtos, sin embargo *C. glabrata* que es resistente al fluconazol se encontró mayoritariamente con *C. tropicalis*, *C. albicans* sólo se encontró en un caso con *C. glabrata* y *C. krusei* (resistencia intrínseca al fluconazol). Debe tenerse cuidado en estas combinaciones ya que el fluconazol es el antifúngico que se prescribe como tratamiento de elección y como profiláctico en la mayoría de los casos en pacientes inmunodeprimidos e inmunocompetentes.

Hubo 8 casos de pacientes subsecuentes, salvo en un caso, siempre volvió a crecer el mismo agente etiológico, en 6 casos se trató de *C. albicans* y en uno de *C. glabrata*. Esto nos habla de una resistencia al tratamiento por parte de estas especies, sobre

todo en el caso de *C. albicans*, en la cual hubo varios pacientes de los cuales se recibieron muestras subsecuentes en dos o tres ocasiones y siguió habiendo presencia del hongo.

Hubo un caso en el cual además del principal agente etiológico en muestras subsecuentes hubo crecimiento de otras tres especies, principalmente hubo desarrollo de *C. parapsilosis*, seguido de un caso mixto de *C. tropicalis* y *C. glabrata* y finalmente en una tercera muestra se aisló *C. albicans*.

Esto nos habla de una posible resistencia al medicamento, lo que explicaría porque no lograba erradicarse el agente etiológico y en el último caso, porque es que además de este fueron agregándose otros. De ahí la importancia de poder realizar una tipificación adecuada sobre todo en las candidosis mixtas.

Desafortunadamente aunque algunos escenarios pueden relacionarse con ciertos hongos los signos y síntomas clínicos frecuentemente no son de ayuda para distinguir entre infecciones bacterianas y fúngicas. La examinación microscópica es el método más rápido, útil y costo-efectivo para el diagnóstico de estas infecciones. En algunos casos las infecciones son causadas por organismos que pueden ser específicamente identificados por el examen directo porque poseen una morfología distintiva, en la candidosis y la tricosporonosis, el aspecto morfológico puede conducir al diagnóstico del tipo de infección pero no a la identificación del agente etiológico.

El aislamiento del hongo en medios de cultivo es el medio más sensible para el diagnóstico de una infección, sin embargo se necesitan métodos más rápidos de diagnóstico.

Las recomendaciones para el tratamiento para levaduras poco comunes aún no están estandarizados del todo debido a su relativa rareza de ocurrencia.

La principal consideración para prevenir la enfermedad es la profilaxis con un antifúngico. Sin embargo en algunas investigaciones la profilaxis primaria de rutina no es recomendada en pacientes con VIH debido a las preocupaciones de la resistencia a los fármacos, toxicidad, interacción entre fármacos y costo. Por ejemplo, la resistencia al fluconazol de las especies de *Candida* está asociada con el amplio uso de éste fármaco en la profilaxis.

En este estudio se buscó conocer los principales géneros de levaduras causante de micosis pulmonares, resultando ser el más común *Candida spp* y en segundo lugar *Trichosporon spp*.

Para el caso de *Cryptococcus neoformans* y *Geotrichum*, no son hongos tan comunes en este tipo de micosis.

El presente estudio puede ser de gran utilidad en la implementación de protocolos y guías para pacientes con probabilidad de presentar una micosis pulmonar. De esta manera, cuando haya un paciente con datos clínicos de una enfermedad pulmonar y que tenga de fondo alguna enfermedad que abata la respuesta inmune celular, sobre todo, neumonía, VIH o tuberculosis deberán realizarse estudios en busca de una probable micosis pulmonar lo cual repercutirá en un diagnóstico precoz y adecuado para evitar la diseminación de la enfermedad y desenlaces fatales, permitiendo además una sobrevida con calidad.

Finalmente podemos decir que los pacientes con un alto riesgo de desarrollar alguna enfermedad fúngica deben de:

- 1) Reconocimiento de los factores de riesgo, la magnitud del riesgo y el periodo de riesgo.
- 2) Minimizar la exposición al hongo evitando: sitios altamente contaminados (ej en criptococosis, sitios con excreta de aves, evitar tener pájaros como mascota en casa, actividades relacionadas con el cuidado de mascotas, como limpiar jaulas de pájaros, evitar estar en sitios con eucaliptos), evitar fumar ya que se ha demostrado en pacientes con VIH que reduce la actividad antifúngica de los macrófagos alveolares.
- 3) Prevenir la infección a través de la profilaxis.
- 4) Promover el diagnóstico temprano en pacientes asintomáticos de cuentas bajas de linfocitos CD4, a fin de prevenir una inmunosupresión severa y prolongada.

8. CONCLUSIONES

De los hongos levaduriformes reportados en la literatura causantes de micosis pulmonares, los géneros predominantes son *Candida* y *Trichosporon* spp, siendo *Candida albicans* la especie más común.

Infección por VIH, neumonía y tuberculosis son las principales condiciones de predisposición del hospedero (paciente).

En la actualidad, especialmente en los pacientes inmunocomprometidos con infecciones crónicas, el diagnóstico precoz (tanto del género como de la especie) y el tratamiento rápido son imperativos para prevenir las complicaciones. Y es importante recordar que la recuperación depende de la gravedad o disminución de las defensas del huésped.

En casos de candidosis mixtas, la identificación de la especie es de suma importancia, debido a las especies que presentan resistencia intrínseca o adquirida, particularmente al grupo de los azoles.

La sospecha clínica, antecedentes clínicos del paciente, la exploración física (de la piel, mucosas y lesiones) así como obtener una muestra apropiada para el laboratorio, son pasos críticos en el diagnóstico.

El presente trabajo pretende apoyar en la implementación de protocolos y guías de manejo en el tipo de pacientes aquí estudiados para un adecuado diagnóstico y manejo terapéutico.

La mejor estrategia es enfocarse en la identificación de la población con alto riesgo de desarrollar la enfermedad, implementando simples pero efectivas medidas de control de la infección y cuando sea necesario proveyendo profilaxis antifúngica. Se pueden emplear programas de dosis menores en la profilaxis, en pacientes con inmunosupresión grave.

9. BILIOGRAFÍA

1. Bonifaz A. *Micología Médica Básica*. 4ª edición. McGraw-Hill, México D.F. 2012.
2. Yang YL, Chu WL, Lin CC, *et al.* An emerging issue of mixed yeast cultures. *J Microbiol Immunol Infect.* 2014;47:339-344.
3. Rivas-Llamas R, Cervera-Ceballos E, Selva Pallares JE, *et al.* Consenso Mexicano para el Abordaje de Infecciones Fúngicas en el Paciente Neutropénico. *Rev Hematol.* 2010;11:56-59.
4. Latarjet M, Ruiz A. *Anatomía Humana*. Volumen 2. 4a edición. Médica Panamericana. México D.F. 2007.
5. Tortora G, Derrickson B. *Principios de Anatomía y Fisiología*. 13ª edición. Médica Panamericana. México D.F. 2013.
6. Dirección General de Epidemiología. Secretaría de Salud. Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica del VIH · SIDA. 2012 [actualizado 01 Noviembre 2012; citado 15 Marzo 2015]. Disponible en: http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/infoepid/vig_epid_manuales/30_2012_Manual_VIH-SIDA_vFinal_1nov12.pdf
7. Cano F. *Enfermedades del aparato respiratorio*. 3ª edición. Méndez Editores. México D.F. 2013.
8. Organización Mundial de la Salud. Consultado: 15/Marzo/2015 a las 13:55. Disponible en: <http://www.who.int/es/>
9. Pérez R. *Enfermedades respiratorias*. 1ª edición. Trillas. México D.F. 2007.

10. Río M, Jiménez L. Actualización en el carcinoma broncogénico. Volumen 19. 1^a edición. Ergon. Madrid. 2012.
11. Xaubet A, Ancocheac J, Bollo E, *et al.* Normativa sobre el diagnóstico y tratamiento de la fibrosis pulmonar. *Elsevier Doyma*. 2013;49:343-353.
12. A Mussetti, L Vignoli, P Curbelo, *et al.* Sarcoidosis pulmonar. Neumología y Cirugía de Tórax. *Medigraphic Artemisa*. 2006;65(S3):S36-46.
13. Rubio P, Riesco S. Pancitopenia, valoración clínica y diagnóstica. *An Pediatr Contin*. 2012;10:217-221.
14. Rippon J. Tratado de micología básica. 3^a edición. Mc Graw Hill. México D.F. 1990.
15. Méndez-Tovar LJ, López-Martínez R, Hernández Hernández F. Actualidades en Micología Médica. 4^a edición. Ed. Facultad de Medicina. UNAM, México, D.F. 2008.
16. Anaisse J, McGinnis M, Pfaller M. Clinical Mycology. Churchill Livingstone. Philadelphia. 2003.
17. Pappas PG. Invasive candidiasis. *Infect Dis Clin North Am*. 2006;20:485-506.
18. Odds FC. *Candida* and Candidosis. 2^a edition. Bailliere-Tindall, London, Reino Unido, 1988.
19. Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis*. 2003;3:685-702.
20. Subramanian S, Mathai D. Clinical manifestations and management of cryptococcal infection. *J Postgrad Med*. 2005;51(S1):S21-26.
21. Severo CB, Gazzoni AF, Severo LC. Chapter 3. Pulmonary cryptococcosis. *J Bras Pneumol*. 2009;35:1136-1144.

22. Lindell RM, Hartman TE, Nadrous HF, Ryu JH. Pulmonary cryptococcosis: CT findings in immunocompetent patients. *Radiology*. 2005;236:326-331.
23. Saghrouni F, Abdeljelil J, Youssef Y, *et al.* *Geotrichum capitatum* septicemia in patients with acute myeloid leukemia. Report of three cases. *Med Myc Case Rep*. 2012;1:88-90.
24. Oerfect JR, Casadevall A. *Cryptococcosis*. *Infect Dis Clin North Am*. 2002;16:837-840.
25. Pappalardo MC, Melhem MS. Cryptococcosis: a review of the Brazilian experience for the disease. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2003;45:299-305.
26. Fouassier M, Joly D, Cambon H, *et al.* *Geotrichum capitatum* infection in a neutropenic patient. *Rev Med Inter*. 1998;19:431-433.
27. Corrado G, Livio P, Martino B, *et al.* Invasive infections caused by *Trichosporon* species and *Geotrichum capitatum* in patients with hematological malignancies: a retrospective multicenter study from Italy and review of the literature. *J Clin Microbiol*. 2005;43:1818-1828.
28. Rodríguez G, Ubatuba R, Guazzelli L, *et al.* Infección nosocomial por *Trichosporon asahii*. *Rev Iberoam Micol*. 2006;23:85-89.
29. Ellis D, Davis S, Alexiou H, *et al.* Descriptions of medical fungi. 2^a edition. National Library of Australia. Adelaide, Australia. 2007.
30. López-Martínez R. Candidosis, a new challenge. *Clin Dermatol*. 2010;28:178-184.
31. Dignani MC, Solomkin JC, Anaissie EJ. Candida. En: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA (eds.). *Clinical Mycology*. Churchill Livingstone, Philadelphia, 2003, pp.: 195-239.

32. Manual de Toma de muestras para estudio bacteriológico, parasitológico y micológico. Selección, recolección, conservación y transporte. Departamento de laboratorio clínico. Hospital de clínicas, Facultad de Medicina. Montevideo-Uruguay. 2004. Consultada el 17/marzo/2015, 15:00. Disponible en: <http://www.bvsops.org.uy/pdf/laboratorio.pdf>
33. Arango M, Castañeda E. Micosis Humanas. Procedimientos diagnósticos Exámenes directos. 2ª edición. Instituto Nacional de Salud. Colombia. 2003.
34. BBL™ CHROMagar™ Candida. Consultada el 17/marzo/2015, 16:30. Disponible en: <http://www.bd.com/ds/productCenter/254093.asp>
35. Buchanan K, Murphy W. What Makes *Cryptococcus neoformans* a Pathogen?. *Emerging Infect Dis.* 1998;4:71-83.
36. Arendrup MC. *Candida* and candidaemia. Susceptibility and epidemiology. *Dan Med J.* 2013;60:11.
37. Roman Ad, Salvaña EM, Guzman-Peñamora MA, et al. Invasive trichosporonosis in an AIDS patient: case report and review of the literature. *Int J STD AIDS.* 2014;25:70-75.
38. Ourari-Dhahri B, Ben J, El G, et al. Lung mycosis in no neutropenic patients. *J Mycol Med.* 2012;22:217-120.

39. Kurosawa M, Yonezumi M, Hashino S, *et al.* Epidemiology and treatment outcome of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies. *Int J Hematol.* 2012;96:748-757.
40. Nedel WL, Moraes VD, Falci DR, *et al.* *Geotrichum capitatum* fungaemia: an unusual pathogen in critically-ill-related infections. *Anaesth Intensive Care.* 2013;41:685-687.
41. Martínez M, Pintos-Fonseca A, Quintana C, *et al.* Invasive infection in an immunosuppressed patient. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29:545-546.
42. Masur H, Rosen P, Armstrong D. Pulmonary disease caused by *Candida* species. *American Journal of Medicine.* 1977; 63:914-925.
43. Dufresne SF, Marr KA, Sydnor E, *et al.* Epidemiology of *Candida kefyr* in patients with hematologic malignancies. *J Clin Microbiol.* 2014;52:1830-1837.
44. Colombo A, Padovan A, Chaves G. Current Knowledge of *Trichosporon* spp. and Trichosporonosis. *Clin Microbiol Rev.* 2011;24:682-700.
45. Smith J, Kauffman C. Pulmonary fungal infections. *Respirology.* 2012;17:913-926.
46. Ramya TG, Sabitha B, Geetha RK. Pulmonary infection by *Geotrichum candidum*. *Int J Adv Med.* 2014; 1: 171-172.
47. Pal M, Sejra S, Sejra A, Tesfaye S. Geotrichosis - An Opportunistic Mycosis of Humans And Animals. *Int. J. Livest. Res.* 2013;3:38-44.

48. Rizzetto, L., De Filippo, C. and Cavalieri, D. Richness and diversity of mammalian fungal communities shape innate and adaptive immunity in health and disease. *Eur. J. Immunol.* 2014; 44:3166–3181.
49. Bhutia TO, Adhikari L. Pulmonary mycoses among the clinically suspected cases of pulmonary tuberculosis. *Int J Res Med Sci.* 2015;3: 260-268.
50. Dinkar A, Bhattacharyya S, Kumar D, *et al.* Pneumonia caused by *Candida kefyr* in a Pediatric patient with Acute Lymphoblastic Leukaemia: Case Report. *Int. Res. J. Medical Sci.* 2013; 1:18-19.
51. Wieser A, Schneider L, Jung J, *et al.* MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics—identification of microorganisms and beyond (mini review). *Appl Microbiol Biotechnol.* 2012; 93: 965-974.
52. Stevenson L, Steven K, Shea Y, *et al.* Evaluation of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry for Identification of Clinically Important Yeast Species. *J Clin Microbiol.* 2010; 48:3482-3486.
53. Polke M, Hube B, Jacobsen ID. *Candida* survival strategies. *Adv Appl Microbiol.* 2015; 91:139-235.
54. Mayer F, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence.* 2013; 2: 119-128.
55. Shoham S, Levitz SM. The immune response to fungal infections. *Br J Haematol.* 2005;129:569-582.
56. Cornistein W, Mora A, Orellana N, *et al.* *Candida*: epidemiología y factores de riesgo para especies no *albicans*. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2013; 6:380-384.

57. Lau A, Chen S, Playford E, *et al.* *Candida* colonization as a risk marker for invasive candidiasis in mixed medical-surgical intensive care units: development and evaluation of a simple, standard protocol. *J Clin Microbiol.* 2015; 4: 1324-1330.
58. Romero-Lúevano AG, Araiza-Santibáñez J, Hernández MA, *et al.* Candidosis mixtas en aislamientos clínicos de pacientes procedentes del Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga; identificación e importancia. *Dermatol Rev Mex.* 2014; 58:239-246.
59. Castrillón-Rivera LE, Palma-Ramos A, Padilla-Desgarenes C. Factores de virulencia en *Candida sp.* *Dermatol Rev Mex* 2005;49:12-27
60. Al-Rawahi GN, Roscoe DL. Ten-year review of candidemia in a Canadian tertiary care centre: Predominance of non-*albicans* *Candida* species. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2013; 3:65-68.
61. Ramesh N, Priyadharsini M, Sumathi CS, *et al.* Virulence Factors and Anti Fungal Sensitivity Pattern of *Candida* Sp. Isolated from HIV and TB Patients. *Indian J Microbiol.* 2011; 3:273-278.
62. Kontoyiannis D, Reddy B, Torres H, *et al.* Pulmonary Candidiasis in Patients with Cancer: An Autopsy Study. *Clinical Infectious Diseases.* 2002; 34:400–403.

10. APÉNDICE

10.1 TÉCNICAS Y TINCIONES

10.1.1 REACTIVOS

❖ HIDRÓXIDO DE POTASIO AL 10%

Hidróxido de potasio (KOH) 10 g. Agua destilada 100 ml.

Uso: como solución aclarante para exámenes directos ⁽³³⁾.

10.1.2 COLORANTES

❖ AZUL DE ALGODÓN

Azul de algodón (de anilina) 0.05 g. Glicerol 40 ml. Fenol (cristales) 20 g. Acido láctico 20 ml. Agua destilada 20 ml.

Preparación: disolver el fenol en acido láctico, después agregar agua y glicerol, calentar ligeramente y, por último, adicionar el azul de algodón.

Uso: para exámenes directos de las cepas ⁽¹⁾.

10.1.3 TÉCNICAS

❖ EXAMEN DIRECTO CON KOH AL 10%

Se coloca una parte de la muestra sobre un portaobjetos y se le agrega una gota de KOH al 10%, se coloca un portaobjetos y se observa al microscopio (10X y 40X).

Uso: para la búsqueda de las estructuras parasitarias de los hongos.

❖ EXAMEN DIRECTO CON TINTA CHINA

Se coloca una parte de la muestra sobre un portaobjetos y se le agrega una gota de tinta china, se coloca un portaobjetos y se observa al microscopio (10X y 40X) ⁽³³⁾.

Uso: para la búsqueda de la cápsula de *Cryptococcus spp.*

❖ EXAMEN DIRECTO CON AZUL DE ALGODÓN

Esterilizar a la flama el asa bacteriológica y dejar enfriar, introducir el asa en tubos y/o cajas petri hasta tocar la colonia a investigar. Realizar un frotis con la colonia sobre un portaobjetos y añadir una gota de azul de algodón, colocar un cubreobjetos y observar al microscopio (10X y 40X).

Uso: para la observación y caracterización microscópica de las colonias.

10.1.4 MEDIOS DE CULTIVO

❖ HARINA DE MAÍZ + TWEEN 80 AL 1%.

Medio de harina de maíz 990 ml. Tween 80, 10 ml.

Preparación: esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Uso: se le conoce también como método Dalamau y sirve para formación de pseudomicelio y clamidoconidios del género *Candida* ⁽¹⁾.

❖ MEDIO DE ALPISTE NEGRO AGAR.

Alpiste negro o Niger (pulverizado) 70 g. Cloranfenicol 50 mg. Agar bacteriológico 20 g.

Agua destilada 1 000 ml.

Preparación: remojar el alpiste negro en 1 000 ml de agua, hervir durante 30 minutos; después filtrar en gasa y papel filtro. Aforar a 1 000 ml de agua. Esterilizar en autoclave a 110°C, por 15 minutos.

Uso: medio de identificación de *Cryptococcus neoformans* ⁽¹⁾.

❖ SABOURAUD DEXTROSA AGAR.

Dextrosa 20 g. Peptona 10 g. Agar bacteriológico 20 g. Agua destilada 1 000 ml. pH 6.5.

Preparación: se esteriliza en autoclave a 121°C, durante 15 minutos.

Uso: medio rutinario para el primoaislamiento y conservación de diversos hongos ⁽¹⁾.

❖ SABOURAUD MÁS ANTIBIÓTICOS AGAR (MICOSEL).

Medio de Sabouraud 1 000 ml. Actidione (cicloheximida) 400 mg. Cloranfenicol 500 mg. pH de 6.5.

Preparación: los antibióticos se adicionan de la siguiente manera: el actidione en 1 ml de acetona y el cloranfenicol en 1 ml de alcohol etílico; ambos se agregan cuando el medio ha hervido por uno o dos minutos. Se esteriliza en autoclave a 121°C, durante 15 minutos.

Uso: medio selectivo para hongos patógenos ⁽¹⁾.

❖ CHROMagar-*Candida*®.

Disolver 20 g de CHROMagar *Candida* en 250 mL de agua destilada estéril. Calentar la mezcla (< 100°) hasta disolución completa. El medio no requiere esterilización por autoclave, sin embargo, después de enfriado en baño de agua a 45°C, el agar debe ser

vertido en placas. Luego de solidificadas, las placas deben almacenarse a 4°C hasta su uso.

Composición: Cromopeptona 10,00 g, Glucosa 20,0 g, Mezcla cromogénica 2,0 g , Cloranfenicol 0,5 g, Agar 15,0 g, Agua destilada para 1000 mL. pH final 7,4 ± 0,2.

Uso: CHROMagar™ Candida es un medio selectivo para el aislamiento e identificación presuntiva de levaduras y mohos filamentosos y diferenciación *de especies de Candida spp.* Debido a las diferencias en morfología y color de las colonias de levaduras, este medio facilita la detección de mezclas de cepas de levaduras en la muestra analizada. También puede ser usado como un medio selectivo para el aislamiento de otras levaduras o mohos filamentosos en lugar de Agar Sabouraud Dextrosa ⁽³⁴⁾.