



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**Facultad de Medicina
División de Estudios de Posgrado**

**Instituto Mexicano del Seguro Social
UMAE Hospital de Cardiología, CMN Siglo XXI**

**“DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS EN
VEGETACIONES DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO
DE ENDOCARDITIS”**

***TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALIDAD
MÉDICA EN PATOLOGÍA CLÍNICA***

**PRESENTA
DRA. GLADYS GALICIA CASTELÁN**

**ASESOR DE TESIS
DR. LUIS J. MÉNDEZ TOVAR**
Unidad de Investigación Médica en Epidemiología Clínica,
Hospital de Especialidades, CMN Siglo XXI, IMSS.

**ASESOR METODOLÓGICO DE TESIS
DRA. MARÍA DEL CARMEN JIMÉNEZ GONZÁLEZ**
Médico adscrito al Servicio de Transfusiones.
UMAE Hospital de Cardiología Centro Médico Nacional
Siglo XXI IMSS.



Ciudad de México, julio de 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

INDICE

PARTE I

I.1.- Resumen	9
I.2.- Introducción	11
I.3.- Antecedentes	12
I.4.- Epidemiología	14
I.5.- Clasificación y etiología	15

PARTE II

II.1.- Justificación	18
II.2.- Planteamiento del problema	19
II.3.- Pregunta de investigación	19
II.4.- Objetivos	19
II.4.1.- Generales	19
II.4.2.- Particulares	19
II.5.- Hipótesis	20
II.6.- Material y métodos	20
II.6.1.- Tipo de estudio	20
II.6.2.- Universo de trabajo	20
II.6.3.- Periodo de estudio	20
II.6.4.- Criterios de inclusión	20
II.6.5.- Criterios de exclusión	20
II.6.6.- Diseño de la muestra	20
II.6.7.- Tamaño de la muestra	20
II.6.8.- Descripción general del estudio y análisis estadístico	20
II.7.- Definición de variables	23
II.8.- Recursos humanos, materiales, financieros y factibilidad	25
II.8.1.- Recursos humanos	25

II.8.2.- Recursos materiales	25
II.8.3.- Recursos financieros	25
II.8.4.- Factibilidad	25
II.9.- Aspectos éticos	26

PARTE III

III.1.- Resultados	27
III.2.- Discusión	39
III.3.- Conclusiones	43
III.4.- Referencias	44

ANEXOS

1.- Consentimiento informado	47
2.- Hoja para registro de pacientes	49

HOJA DE FIRMAS

Dr. Guillermo Saturno Chiu
Director General
UMAЕ Hospital de Cardiología, CMN Siglo XXI, IMSS

Dr. Sergio Claire Guzmán
Director Médico
UMAЕ Hospital de Cardiología, CMN Siglo XXI, IMSS

Dr. Eduardo Almeida Gutiérrez
Director de Educación e Investigación en Salud
UMAЕ Hospital de Cardiología, CMN SXXI, IMSS

Dra. Karina Lupercio Mora
Jefe de la División de Educación en Salud
UMAЕ Hospital de Cardiología, CMN SXXI, IMSS

Dr. Luis J. Méndez Tovar
Asesor de Tesis
Unidad de Investigación Médica en Epidemiología Clínica
Hospital de Especialidades, CMN Siglo XXI, IMSS

Dra. María del Carmen Jiménez González
Asesor Metodológico
Médico Adscrito al Laboratorio de Cardiología.
UMAЕ Hospital de Cardiología, CMN SXXI, IMSS

ABREVIATURAS.

ADSA: Agar dextrosa Sabouraud adicionado con antibióticos.

ADSS: Agar dextrosa Sabouraud simple.

CMN: Centro Médico Nacional.

DM: Diabetes mellitus.

EF: Endocarditis fúngica.

EI: Endocarditis infecciosa.

HAS: Hipertensión arterial sistémica.

H.C: Hospital de Cardiología.

HCCMNSXXI: Hospital de Cardiología Centro Médico Nacional Siglo XXI.

HECMNSXXI: Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI.

IMSS: Instituto Mexicano del Seguro Social.

INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía.

PCR: Reacción en cadena polimerasa.

ETE: Ecocardiograma trans esofágico.

VIH: Virus de inmunodeficiencia humana.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación en Salud 1902 con número de registro 17 CI 19 039 130 ante COFEPRIS y número de registro ante
CONBIOÉTICA CONBIOÉTICA 19 CEI 001 2018022.
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES NUM. 34 CENTRO MEDICO NACIONAL DEL NORESTE

FECHA Jueves, 05 de julio de 2018.

M.C. MARIA DEL CARMEN JIMENEZ GONZALEZ
P R E S E N T E

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

Detección e identificación de hongos en vegetaciones de pacientes con diagnóstico de endocarditis

que sometió a consideración para evaluación de este Comité Local de Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro Institucional:

No. de Registro
R-2018-1902-014

ATENTAMENTE


BEATRIZ MALDONADO ALMARAZ
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 1902

IMSS
SEGURIDAD Y SALUD SOCIAL

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por mostrarme que nada es imposible y que si la dirección de mi vida cambia es por que viene algo mejor.

Agradezco a mi madre Silvia R. Castelán y a mi padre Virgilio S. Galicia por creer siempre en mi y apoyarme a cumplir todos mis sueños y metas, por ser mi pilar de fuerza y consejeros de vida. A mis hermanos Christian M. Galicia y Michael U. Galicia por cuidarme y apoyarme siempre en las buenas y en las malas. Los amo y son lo mejor de mi vida.

A Nelly R. García por escucharme y apoyarme incondicionalmente, hiciste de mi estancia en una ciudad desconocida llena de alegría y de grandes aventuras, nuestras metas se van cumpliendo poco a poco y estoy feliz de que estés conmigo. ¡Te quiero mucho!

A Alejandro Acosta por apoyarme todo este tiempo lejos de mi hogar y darme ánimos para terminar esta etapa en mi vida, me motivaste a seguir cuando quería abandonar y te agradezco todos tus cuidados.

A Priscila Rangel que en esta trayectoria fue más que un R mayor para mi, aprendí cosas de ti y contigo, en las buenas y en las malas siempre estuviste conmigo escuchándome, apoyándome y orientándome, eres parte de mi familia por siempre. ¡Te quiero mucho!

A Rosa I. Nafarrate, por estar a mi lado cuando los tiempos se volvieron difíciles, eres una gran amiga que compartió la carga y las risas conmigo, gracias por tu ayuda, siempre tendrás una amiga en mi.

A mis R menores Dalma, Alejandra, Berenice, Alan, Raúl, Alma, Ixchel e Israel gracias por hacer de esta especialidad un segundo hogar para mi, por su apoyo incondicional y esfuerzo para estudiar, los aprecio y el día de mañana que nos encontremos todos como colegas y amigos estaré feliz de compartir una cerveza y una buena platica con ustedes.

Al Dr. Méndez Tovar por ser mi mentor y apoyo, por compartir sus conocimientos y por tenerme paciencia en este camino de preparación, sus consejos y amistad, los llevare conmigo siempre.

A la Dra. Carmen Jiménez por su apoyo esencial, paciencia y experiencia para la realización de este proyecto.

Al Dr. Alberto J. Treviño, a la Dra. Roxana B. Rivera y a la Dra. Guadalupe Souto les agradezco su apoyo incondicional y el contagiarnos sus ganas para estudiar y hacer de esta especialidad un merecido reconocimiento y competencia para el beneficio de la salud de las personas con un diagnostico oportuno y de utilidad para los especialistas clínicos. Gracias infinitas.

QFB. Erika Córdova Martínez, Unidad de Micología, Facultad de Medicina de la UNAM, por el procesamiento de muestras para identificación de cultivos con Técnicas Moleculares.

Biol. Armando Zepeda Rodríguez y Biol. Francisco Pasos Nájera, Laboratorio de Microscopía Electrónica, Depto. de Biología Celular, Facultad de Medicina, UNAM, por el procesamiento y microfotografías de barrido de las muestras valvulares.

“Detección e identificación de hongos en vegetaciones de pacientes con endocarditis”

I.1.- RESUMEN

Introducción. La endocarditis micótica es una patología de baja frecuencia, pero de alta mortalidad. De acuerdo a normas internacionales, el diagnóstico se sustenta en estudios de imagen, aislamiento del agente infeccioso en hemocultivos y biología molecular, sin embargo, es posible que los agentes aislados a partir de la sangre no necesariamente estén formando parte de las vegetaciones intracardiacas características de esta patología, pues los agentes bacterianos o micóticos aislados podrían ser microorganismos en tránsito por el torrente sanguíneo.

Planteamiento del problema. Hasta el momento no se ha investigado intencionadamente por microscopia de luz ni electrónica si en las vegetaciones se encuentran los agentes micóticos aislados, en caso de que estos formaran parte de la vegetación, es importante determinar si tienen una arquitectura definida (formando biopelículas).

Hipótesis. Los hongos formarán parte de las vegetaciones y adoptaran una estructura definida que podrá demostrarse por microscopia electrónica.

Objetivos. Identificar los agentes micóticos y demostrar su presencia en las vegetaciones estudiando la arquitectura dentro de ese material.

Material y métodos. Se obtuvieron muestras de las vegetaciones extirpadas quirúrgicamente, una parte se maceró en solución salina y se hizo examen directo, frotis y cultivo en medios de agar dextrosa Sabouraud simple (**ADSS**) y agar dextrosa Sabouraud adicionado con antibióticos (**ADSA**). Otra parte, se fijó en glutaraldehído y se estudió por microscopia electrónica y finalmente otro fragmento se estudiará con técnica de PCR para detectar el material nuclear de los hongos que se detecten en estudios microbiológicos y de imagen.

De cada paciente se registraron variables epidemiológicas como edad, genero, procedencia, comorbilidad y evolución de la enfermedad y se establecieron las correlaciones pertinentes por medio del programa de IBM SPSS, Statistics Editor versión 24 para Windows.

Resultados. Se estudiaron 16 muestras obteniendo un total de 12 cultivos positivos (75%). Dentro de los factores de riesgo analizados, destacaron: uso de catéteres para hemodiálisis en 10 pacientes y lesión cardíaca previa en 6 pacientes. Sin dejar de lado las comorbilidades asociadas, presentando en la mayoría de los casos hipertensión arterial sistémica en 12 casos seguida de lesión renal en tratamiento sustitutivo con hemodiálisis en 11 y diabetes mellitus en 10 casos. Se obtuvieron 7 cultivos positivos; observando crecimiento de hongos en 3 casos y 4 para bacterias. Por medio de microcopia electrónica se identificaron como positivos para hongos en las vegetaciones en cuatro casos (25%), dos de los cuales no se obtuvo crecimiento en medio de cultivo y dos con crecimiento para *Candida* spp. y *Aspergillus* spp.

Discusión. En este trabajo y varios publicados en las últimas dos décadas se demuestra la importancia de la EF debido entre otros factores a: mortalidad, agentes involucrados, sitio de afectación, y los factores asociados, estas condiciones predisponentes han presentado variación importante en los últimos años. En el Hospital de Cardiología los egresos por defunción de esta patología correspondieron al 25% en un año y se observa una mortalidad del 20% de los casos de EF. De los 16 pacientes estudiados la mayoría de los afectados fueron del sexo masculino con una relación de 3:1 coincidiendo con lo descrito en la literatura mundial. Las vegetaciones se presentaron en la válvula nativa en 13 ocasiones (81.3%) como se menciona en la literatura y con predominio en la válvula mitral en 9 casos (56%). Es importante mencionar que los hongos se involucraron en un porcentaje mayor a lo referido por la literatura correspondiendo al 31.3%, anteriormente en un trabajo hecho en este hospital se obtuvo un porcentaje de 17% para EF por hemocultivo con el método de lisis centrifugación el cual muestra un gran porcentaje de recuperación de los hongos, además de estar por encima de lo publicado en la literatura nacional e internacional el cual reportan de un 1 a un 10% de etiología fúngica.

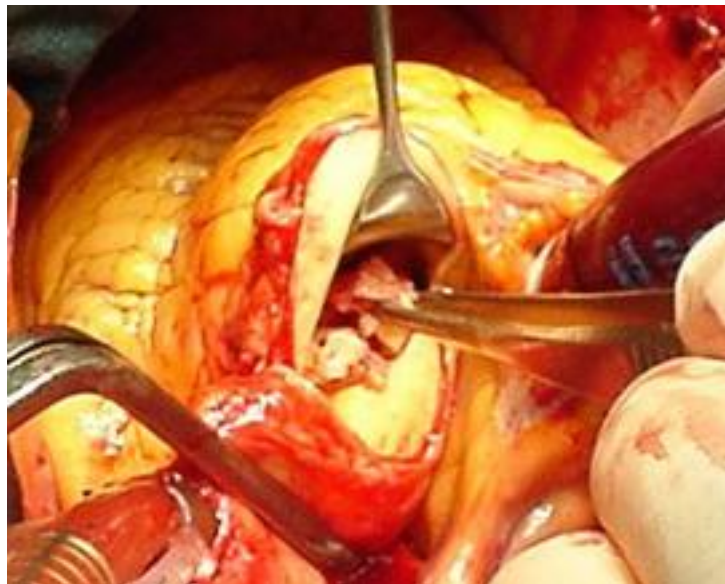
Conclusiones. La frecuencia de endocarditis bacteriana obtenida fue de 50% mientras que en la EF fue de 31.3%. Los métodos automatizados son deficientes para detectar los agentes de EF ya que quedó demostrado que solamente detectaron uno de los cinco casos de endocarditis causada por hongo. La microscopía electrónica aun siendo un procedimiento de costo elevado, debería incluirse en la metodología de estudio diagnóstico en estos pacientes por que detecta casos positivos aún cuando, con otras técnicas son negativos.

I.2.- INTRODUCCION

La endocarditis es una infección que afecta el revestimiento interno del corazón y las válvulas. Generalmente la infección inicia en las áreas expuestas a trauma mecánico o dispositivo protésico¹. Las alteraciones anatómicas y hemodinámicas pueden lesionar la superficie endotelial, formándose un trombo fibrino-plaquetario sobre el que los microorganismos circulantes, pueden adherirse^{1,2}. Una vez colonizado el trombo por dichos microorganismos, éstos pueden proliferar y sobrevivir en su interior dando lugar a la vegetación (Figura 1) característica de las endocarditis infecciosas (**EI**)².

De manera general, existen dos tipos de tratamiento: el médico a base de medicamentos; y el quirúrgico reemplazando las válvulas afectadas, si la patología no se trata puede ser fatal como lo reportó Robert y cols.¹. La endocarditis por bacterias y hongos es una amenaza continua para la vida ya implica la liberación continua de agentes infecciosos al torrente sanguíneo¹. Algunos autores mencionan a los virus también como agentes etiológicos en esta patología, sin embargo, hasta el momento no se han estudiado con precisión^{3,4}.

Figura 1. Foto intraoperatoria de un caso de endocarditis aórtica.



I.3.- ANTECEDENTES

La cirugía es necesaria en 25-30% de los casos de infección aguda y en 20-40% en fases posteriores. Las principales indicaciones para la cirugía incluyen insuficiencia cardiaca refractaria causada por insuficiencia valvular, sepsis persistente causada por un foco quirúrgicamente removible o un anillo valvular o absceso miocárdico, y una embolización persistente que amenaza la vida^{1,5}.

El diagnóstico preciso y en consecuencia el tratamiento de **EI**, depende en gran medida de hallazgos microbiológicos, siendo importantes para un buen resultado clínico⁶. **EI** diagnóstico definitivo de la EI sólo puede establecerse con absoluta certeza por medio del examen histológico y microbiológico de las vegetaciones obtenidas en el acto quirúrgico o en la necropsia^{2,7-9}. Entre las herramientas disponibles para la clasificación taxonómica de los agentes está el uso de la reacción en cadena de la polimerasa, la técnica ofrece varias ventajas, incluyendo la sensibilidad y especificidad que puede ser variable, pero en general exceden el 90% en ambos rubros. Existen tres circunstancias generales en las que se pueden utilizar enfoques moleculares:

- Identificación de agentes en casos de **EI** negativa en cultivo (Uso reciente de antibióticos, agentes fastidiosos o no cultivables o por hongos)^{7,9-12}
- Caracterización de agentes cultivados para determinar la significancia clínica
- Determinación de la resistencia a los antibióticos.

Debido a su exactitud, de la PCR, se ha propuesto su incorporación como uno de los criterios de Duke modificado, esta propuesta aún no oficial, cuenta con un amplio apoyo entre los especialistas. Ver Tabla 1, Tabla 2.

En los últimos años la aplicación de PCR en pacientes con **EI** se ha vuelto habitual principalmente en los países desarrollados como Estados Unidos de América, Francia, Alemania, Japón, donde, numerosos informes reportan un impacto clínico significativo, pero en países con carencias médicas como es el caso de México, la disponibilidad de éstas herramientas es limitada, y únicamente se cuenta con el cultivo y el estudio histológico para el diagnóstico de **EI**⁷⁻⁹.

La reacción en cadena de la polimerasa en el tejido valvular y de la sangre ha aumentado significativamente la sensibilidad y la especificidad sobre los métodos microbiológicos convencionales. Sin embargo, la histología de la válvula sigue siendo el gold standard. F. Syed y cols. mencionan que existe una buena correlación entre el cultivo y la PCR en la identificación de patógenos de acuerdo a una comparación de diferentes estudios realizados en el desempeño de la PCR en estudios diagnósticos de

endocarditis infecciosa. Además, la PCR ofrece las ventajas adicionales de un posible genotipado y diagnóstico precoz (<8 horas y dentro de las 48 horas si la secuenciación es necesaria en un estudio)⁷.

Tabla1. Definición de endocarditis infecciosa según el criterio de Duke modificado ⁽¹³⁻¹⁵⁾
<p>Endocarditis infecciosa definitiva</p> <p>Criterios patológicos</p> <p>(1) Microorganismos demostrados por cultivos o examen histológico de una vegetación, vegetación embolizada o un absceso intracardiaco; o</p> <p>(2) Lesiones patológicas; Vegetación o absceso intracardiaco confirmado por examen histológico mostrando endocarditis activa</p> <p>Criterios clínicos</p> <p>(1) 2 criterios mayores; o</p> <p>(2) 1 criterio mayor y 3 criterios menores; o</p> <p>(3) 5 criterios menores</p>
<p>Posible endocarditis infecciosa</p> <p>(1) 1 criterio mayor y 1 criterio menor; o</p> <p>(2) 3 criterios menores</p>
<p>Rechazado</p> <p>(1) Diagnóstico alternativo firme explicando evidencia de endocarditis infecciosa; o</p> <p>(2) Resolución del síndrome de endocarditis infecciosa con tratamiento con antibióticos durante ≤ 4 días; o</p> <p>(3) No hay evidencia patológica de endocarditis infecciosa en cirugía o autopsia; o</p> <p>(4) No cumple con los criterios para una posible endocarditis infecciosa, como se ha descrito anteriormente</p>

Tabla 2. Definición de los términos utilizados en los criterios de Duke modificados para el diagnóstico de la endocarditis infecciosa (EI), con las modificaciones⁽¹³⁻¹⁵⁾

<p>Criterios Mayores</p> <p>I.- Hemocultivo positivo para EI</p> <p>a) Los microorganismos típicos consistentes con EI de 2 hemocultivos separados: <i>Streptococcus viridans</i>, <i>Streptococcus bovis</i>, grupo HACEK, <i>Staphylococcus aureus</i>; o Los enterococos adquiridos en la comunidad, en ausencia de un foco primario; o</p> <p>b) Microorganismos consistentes con EI de hemocultivos persistentes positivos, definidos como: Al menos dos cultivos positivos de muestras de sangre extraídas >12h de distancia; o Todos los 3 o la mayoría de ≥4 cultivos separados de sangre (con la primera y última muestra extraída al menos 1 hora aparte)</p> <p>c) Un único hemocultivo positivo para <i>Coxiella burnetii</i> o título IgG>1:800</p> <p>II.- Evidencia de compromiso endocárdico</p> <p>III.- Ecocardiograma positivo para EI (ETE recomendado en pacientes con válvulas protésicas, clasificado al menos como "posible EI" por criterios clínicos, o "complicada EI" [absceso paravalvular], ETE como primera prueba en otros pacientes), definida como sigue:</p> <p>a) Masa intracardiaca oscilante sobre la válvula o estructuras de soporte, o sobre material implantado en ausencia de una explicación anatómica alternativa; o</p> <p>b) Absceso; o</p> <p>c) Nueva dehiscencia parcial de la válvula protésica</p> <p>IV.- Nueva regurgitación valvular (empeoramiento o cambio de soplo preexistente insuficiente)</p>
<p>Criterios Menores</p> <p>I.- Condición cardiaca predisponente o uso de drogas inyectables</p> <p>II.- Fiebre, temperatura >38°C</p> <p>III.- Fenómenos vasculares, embolias arteriales mayores, infartos pulmonares sépticos, aneurisma micótico, hemorragia intracraneal, hemorragias conjuntivales y lesiones de Janeway</p> <p>IV.- Fenómenos inmunológicos: glomerulonefritis, ganglios de Osler, manchas de Roth y factor reumatoide</p> <p>V.- Evidencia microbiológica: hemocultivo positivo pero no cumple un criterio mayor como se ha indicado anteriormente o evidencia serológica de infección activa con el organismo compatible con EI</p> <p>VI.- Criterios menores ecocardiográficos eliminados</p>

EI= Endocarditis infecciosa; ETE= Ecocardiograma transesofágico

I.4.- EPIDEMIOLOGÍA

La EI es una enfermedad grave con un alto índice de morbilidad y mortalidad, con una incidencia mundial de 30 a 100 episodios por millón de pacientes-años de acuerdo a diferentes estudios y bibliografía^{1,16}. La incidencia depende de los criterios utilizados para identificar los casos y existen sesgos de referencia y publicación¹. En una revisión bibliográfica Moreillon y cols., en Suiza reportaron que la proporción de hombres a mujeres fue de alrededor de dos a uno, y la tasa de mortalidad hospitalaria mediana fue del 16% (rango 11-26)^{5,17}.

La enfermedad cardíaca reumática crónica, era un factor de riesgo primario, antes de 1940 la llamada era pre-antibiótica a nivel mundial, sin embargo, actualmente en los países industrializados esta condición es rara. Este grupo de pacientes de riesgo ha sido reemplazado por nuevos grupos como los usuarios de drogas intravenosas, ancianos con esclerosis valvular, pacientes con prótesis intravasculares, pacientes expuestos a enfermedades asociadas a cuidados de la salud y pacientes en hemodiálisis⁵.

Antes de 1945, la endocarditis fúngica era una enfermedad desconocida. Sin embargo, a partir de los primeros reportes, su incidencia ha ido aumentando constantemente y actualmente se estima que 1.2% a 2.6% de todos los casos de endocarditis son causados por hongos y este se eleva cuando los pacientes son sometidos a reemplazo valvular cardíaco^{10,17}.

Los hombres son más comúnmente afectados que las mujeres con un pico de incidencia durante la tercera y cuarta décadas de vida¹⁷.

En una serie de 270 endocarditis fúngicas entre 1965 y 1995, se detectaron 135 episodios (50%) que se presentaron en prótesis valvulares y fueron causadas por *C. albicans*, aunque también en otros casos se cultivaron *Candida* spp y *Aspergillus* spp. En la literatura médica, se han publicado casos causados por *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum* y una amplia variedad de hongos, patógenos infrecuentes en el ser humano. Los hemocultivos suelen ser positivos principalmente para levaduras como *Candida* spp. o *C. neoformans*, mientras que, suelen ser negativos para hongos filamentosos. En estos casos es muy importante las tinciones y cultivos de los émbolos o de las vegetaciones cardíacas para llegar al diagnóstico^{2,10}.

I.5.- CLASIFICACIÓN Y ETIOLOGÍA

La **EI** se clasifica a menudo en cuatro categorías: endocarditis infecciosa de válvula nativa, endocarditis infecciosa de válvula protésica, endocarditis infecciosa en usuarios de drogas intravenosas y endocarditis infecciosa nosocomial⁵.

Muchos microorganismos son capaces de causar **EI**. Dentro de estos se encuentra la endocarditis infecciosa por hongos que aumenta su incidencia demostrado en diferentes estudios y bibliografía; Los hongos comprenden entre 1 y 10% de los organismos aislados en **IE**, incluyendo aproximadamente el 10% de los casos de endocarditis valvular protésica¹⁸. La endocarditis fúngica (**EF**) rara vez es una

enfermedad en individuos sin inmunosupresión evidente, excepto en consumidores de drogas intravenosas. Los principales factores para **EF** son anomalías cardíacas estructurales subyacentes y dispositivos cardíacos protéticos^{10,17,18}.

Aparte de la valvulopatía, otros factores predisponentes incluyen uso de antibióticos de amplio espectro, presencia de líneas centrales, nutrición parenteral, cirugía no cardíaca, abuso de drogas intravenosas e inmunosupresión¹⁰.

La intervención quirúrgica en la **EI** en los últimos años ha permitido disminuir la mortalidad global de ésta, siendo considerada como un tratamiento urgente para **EF** debido al riesgo de embolización séptica y la dificultad en la esterilización de una vegetación fúngica¹⁸. Al realizar la sustitución de una válvula, el tejido valvular (incluyendo la vegetación) debe ser examinado histológicamente y cultivado para aislamiento bacteriano y fúngico que permitan la identificación de microorganismos para normar el esquema terapéutico¹². Si se requiere intervención quirúrgica en un paciente con **EI** antes de la identificación de la causa microbiana, se debe examinar el material valvular por histopatología y cultivo.

Las especies de *Candida* y *Aspergillus* son los patógenos más comunes aislados en **EF**. Las infecciones por levaduras, que tienden a afectar a pacientes con dispositivos protésicos y accesos vasculares, suelen diagnosticarse más fácilmente y tienen un pronóstico relativamente favorable. Sin embargo, las infecciones de mohos afectan a los pacientes inmunosuprimidos, a menudo no se diagnostican temprano, y tienen un mal pronóstico^{10,18}.

La endocarditis por *Aspergillus* es cada vez más frecuente entre los pacientes hospitalizados debido al aumento del uso de dispositivos intracardíacos. La endocarditis por hongos afecta aproximadamente al 0,1% de todas las válvulas protésicas y el género *Aspergillus* contribuye a aproximadamente el 25% de todos los casos de endocarditis fúngica, después de las especies de *Candida* con una proporción de *Aspergillus* a *Candida* de 1: 3 a 1: 2¹⁷. La endocarditis por especies diferentes a *Candida albicans* suele tener una larga duración. En una revisión de la endocarditis aislada de la válvula tricúspide en pacientes no drogadictos, se encontró que era de 9 meses de duración en promedio. Por lo tanto, del tratamiento debe establecerse en a la vigilancia microbiológica con hemocultivos hasta que se documenta la esterilidad¹⁹.

La endocarditis de la válvula protésica, la endocarditis nosocomial, la endocarditis en los usuarios de drogas intravenosas y en los pacientes en hemodiálisis generalmente son causadas por estafilococos, bacterias gramnegativas y hongos^{5,16}.

Actualmente en las bacterias aisladas se ha demostrado resistencia a los antibióticos, este fenómeno, no se ha estudiado aún en los hongos¹⁶.

Se realizó un estudio en la Unidad de Investigación de Micología de CMN SXXI, analizaron 29 pacientes con endocarditis en los cuales por medio de dos técnicas de hemocultivo [(a) automatizado y b) manual complementado por hemolisis centrifugación)], demostraron 11 endocarditis asociadas a bacterias y 5 asociadas a hongos, demostraron una frecuencia del 17%, incluso en uno de los casos se cultivo *Histoplasma capsulatum* que es un hongo de micosis grave que por si mismo puede causar la muerte²⁰. En México aun no se aplica la técnica de **PCR** en las vegetaciones valvulares, lo cual puede contribuir a esclarecer la etiología de las endocarditis asépticas y obtener mejores resultados para la identificación fúngica.

PARTE II

II.1.- JUSTIFICACIÓN

La endocarditis es una causa de morbi-mortalidad, se calcula una incidencia de 1 a 6 casos por 100 000 pacientes por año de acuerdo a datos del **INEGI** (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). Habitualmente para diagnosticar la etiología se utilizan los hemocultivos del cual si no hay crecimiento de microorganismos se cataloga como endocarditis aséptica, sin embargo en los últimos años la aplicación de **PCR** en pacientes con EI se ha vuelto habitual principalmente en los países desarrollados como Estados Unidos de América, Francia, Alemania, Japón, donde, numerosos informes reportan un impacto clínico significativo, pero en países con carencias médicas como es el caso de México, la disponibilidad de éstas herramientas es limitada, y únicamente se cuenta con el cultivo y el estudio histológico para el diagnóstico de EI. Aprovechando que en **CMN** se tiene acceso a algunas de estas técnicas avanzadas se realizaran en los pacientes que son referidos por otras clínicas u Hospitales a la unidad de Micología de Centro Médico Nacional Siglo XXI, **IMSS**. Esto para realizar el aislamiento del agente etiológico en las vegetaciones obtenidas mediante procedimiento quirúrgico. Esto ayudara a una mejor comprensión de la fisiopatogenia, de esta enfermedad, es un paso importante para la mejor atención de los pacientes con esta patología.

II.2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los hongos comprenden entre 1 y 10% de los organismos aislados en **IE** en válvula nativa a nivel mundial, incluyendo aproximadamente el 10% de los casos de endocarditis valvular protésica. En México la endocarditis fúngica va de 3 a 6%, siendo una patología de alta mortalidad si no es operada ya que el 60% fallece si no es tratada oportunamente.

Si bien, en estudios previos en sangre periférica de pacientes con **EI**, se han aislado diversos hongos ¿realmente éstos hongos, forman parte de la vegetación? o bien, los aislados representan fungemias, permanentes o transitorias a las que se dice, todos los humanos estamos expuestos todos los días

Es necesario determinar si el agente etiológico de la endocarditis se encuentra en la válvula afectada mediante el cultivo microbiológico de la vegetación en medios especiales para el desarrollo fúngico, además de la búsqueda intencionada en **PCR** y microscopía electrónica, contribuyendo a esclarecer la etiología de las endocarditis asépticas y obtener mejores resultados para la identificación fúngica.

II.3.- PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿Cuál es la frecuencia de hongos en vegetaciones de pacientes con endocarditis?

II.4.- OBJETIVOS

II.4.1.- General

1. Determinar la frecuencia de hongos en vegetaciones de pacientes con endocarditis

II.4.2.- Específicos

1. Demostrar la presencia de hongos filamentosos o levaduriformes en las vegetaciones obtenidas en el acto quirúrgico
2. Identificarlos a los microorganismos por estudios microbiológicos, técnicas moleculares y microscopía electrónica.
3. Estudiar la estructura de la vegetación y la localización precisa de los hongos en el material obtenido durante la cirugía.

II.5.- HIPÓTESIS

La etiología fúngica se aísla en más del 10% de las vegetaciones de los pacientes con diagnóstico de **EI**, sometidos a procedimiento quirúrgico para remoción de esta.

II.6.- MATERIAL Y MÉTODOS

II.6.1.- Tipo de estudio: Retrospectivo, transversal, observacional.

II.6.2.- Universo de estudio: Hospital de cardiología de CMN SXXI, Ciudad de México.

II.6.3.- Periodo de estudio. Septiembre 2017- Junio 2018.

II.6.4.- Criterios de inclusión. Se incluyeron todos los pacientes con diagnóstico de endocarditis atendidos en el CMN SXX. A quienes se les detecten vegetaciones y éstas fueron retiradas quirúrgicamente.

II.6.5.- Criterios de exclusión. Paciente con endocarditis que no fueron intervenidos para retiro de vegetación.

II.6.6.- Diseño de la muestra. La muestra se obtuvo por conveniencia.

II.6.7.- Tamaño de la muestra. Todos los pacientes que cubran los criterios de inclusión.

II.6.8.- Descripción general del estudio y análisis estadístico

Las vegetaciones obtenidas posterior al evento quirúrgico se examinarán para su identificación taxonómica.

El material obtenido se dividirá en 4 partes:

- a) Un fragmento se envió embebido en formol al Departamento de Histopatología del Hospital de Cardiología CMN SXXI donde se solicitaron al menos tres tinciones: hematoxilina eosina; PAS y Gram.
- b) Un fragmento se maceró con solución salina isotónica y con el material obtenido se realizó examen directo, frotis y cultivo en los medios: agar dextrosa Sabouraud simple y adicionado con antibióticos, agar sangre y medio de infusión cerebro corazón (y se incubara a 37°C y 25°C).
- c) Otro fragmento se colocó embebido en glutaraldehído, y se envió para estudio de microscopia electrónica de barrido.
- d) Otro fragmento se estudió con técnica de PCR para detectar el material nuclear de los hongos que se detecten en estudios microbiológicos (en primer instancia se realiza amplificación por PCR, seguido de secuenciación y finalmente comparación con un “gene bank”, llevado a cabo en la Unidad de Micología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México).

En cada caso, se registraron los antecedentes epidemiológicos de los pacientes: y se analizaron contra la presencia de hongos en las vegetaciones, se utilizó la prueba Chi cuadrada y la prueba exacta de Fisher para las variables nominales. Se analizó la asociación entre comorbilidades, edad y género con aislamiento de hongos. Se utilizó para realizar los cálculos estadísticos el programa de IBM SPSS, Statistics Editor versión 24 para Windows.

Tabla 3. Variables y escala de medición de datos que deben obtenerse de cada paciente

VARIABLE	TIPO	ESCALA	UNIDAD DE MEDICION	EQUIPO
Edad	Cuantitativa discreta	Numérica	Años	Evaluador
Genero	Cualitativa dicotómica	Nominal dicotómica	Femenino masculino	Evaluador
Endocarditis Fúngica	Cualitativa dicotómica	Nominal dicotómica	Positivo negativo	Cultivo
Tratamiento Antibiótico	Cualitativa dicotómica	Nominal dicotómica	Si no	Evaluador
Tratamiento Inmunosupresor	Cualitativa dicotómica	Nominal dicotómica	Si no	Evaluador
Comorbilidades	Cualitativa nominal		1.- Diabetes mellitus 2.- Lesión renal 3.- Alcoholismo 4.- VIH 5.- Cáncer. 6.- Uso de esteroides. 7.- Uso de drogas por vía parenteral o antibióticos. 8.- Manipulación dental.	Evaluador
Vegetación	Cualitativa dicotómica	Nominal dicotómica	Si no	Evaluador
Sitio de donde se obtuvo	Cualitativa Politómica		1.- Válvula mitral nativa 2.- Válvula aortica nativa 3.- Válvula tricúspide nativa 4.- Válvula protésica	Evaluador

II.7.- DEFINICIÓN DE VARIABLES.

Variable dependiente: Aislamiento de hongos en vegetaciones

Variable independiente: Pacientes con endocarditis

Covariables: Edad, género, comorbilidades, tratamiento antibiótico, tratamiento con inmunosupresores.

EDAD.

Definición conceptual: Tiempo entre la fecha de nacimiento y la fecha de la cirugía cardiovascular.

Definición operacional: Se considerarán años cumplidos transcurridos y once meses después del último año cumplido.

GÉNERO.

Definición conceptual: categoría a la cual se asigna un individuo según el sexo al que pertenece.

Definición operacional: se consideran el sexo femenino y el sexo masculino.

ENDOCARDITIS FÚNGICA.

Definición conceptual: infección fúngica del endocardio, demostrada por aislamiento en cultivo, PCR y microscopía electrónica.

TRATAMIENTO.

Definición conceptual: exposición a fármaco ingerido por el paciente en el último mes.

Definición operacional: se documentará a los pacientes expuestos a fármacos antibióticos o antimicóticos en el último mes previo al diagnóstico de endocarditis.

COMORBILIDAD.

Definición conceptual: presencia de una o más enfermedades además de la endocarditis bacteriana o micótica.

Definición operacional: Se determinará como presencia o ausencia de enfermedad concomitante. Las cuales de presentarse se les darán un valor nominal 1 Diabetes mellitus, 2 Lesión renal, 3 Alcoholismo, 4 VIH, 5 Cáncer, 6.- Uso de esteroides, 7 Uso de drogas por vía parenteral o antibióticos, 8 manipulación dental.

VEGETACIÓN

Definición conceptual: Lesiones valvulares granulomatosas y pueden ubicarse en cualquier porción del endocardio producidas por infección de microorganismos

Definición operacional: presentes o no presentes por ecocardiograma.

SITIO DE DONDE SE OBTUVO

Definición conceptual: Sitio quirúrgico de donde se obtuvo la vegetación.

Definición operacional: 1.- Válvula mitral nativa, 2.- Válvula aortica nativa, 3.- Válvula tricúspide nativa, 4.- Válvula protésica

II.8.- RECURSOS HUMANOS, MATERIALES, FINANCIEROS Y FACTIBILIDAD.

II.8.1.- Recursos humanos

1. Médico residente en Patología Clínica del Hospital de Cardiología CMN Siglo XXI Dra. Gladys Galicia Castelán.
2. Médico Patólogo Clínico del Hospital de Cardiología CMN Siglo XXI Dra. María del Carmen Jiménez González.
3. Investigador en Micología Médica Luis J. Méndez Tovar CMN Siglo XXI.
4. QFB Israel Silva Gonzáles, Laboratorio Central CMN Siglo XXI.

II.8.2.-Recursos materiales

1. Laboratorio Central de Diagnóstico y Laboratorio de Investigación Médica en Dermatología y Micología CMNSXXI.

II.8.3.- Recursos financieros.

1. Propios de la unidad.

II.8.4.- Factibilidad.

1. Los asesores cuentan con los conocimientos para llevar a buen término el estudio, aunado a esto se cuenta con los pacientes y recursos propios de la unidad por lo que se considera factible.

II.9.- ASPECTOS ÉTICOS

El desarrollo del protocolo está regido por los principios especificados en la Declaración de Ginebra y la Declaración de Helsinki. En apego con los apartados de la normatividad nacional y del Instituto Mexicano del Seguro Social que regula la investigación:

Este protocolo se considera como "**Investigación sin riesgo**", según los criterios del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, Título Segundo, Capítulo Único, Artículo 17, Inciso I. Se realiza la carta de consentimiento informado de acuerdo a los lineamientos del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, Título Segundo, Capítulo Único, Artículo 21 y 22.

Nos apegaremos a la normativa del Comité de Ética del Instituto Mexicano del Seguro Social, en el cual se estipula que a pesar de ser un estudio observacional, deberá asegurar a los involucrados la plena confidencialidad de sus datos y el buen uso de estos.

Estamos conscientes de los procedimientos normalizados de operación, los cuales son responsabilidad del investigador y que consiste en:

- Hacer lo dispuesto en los estatutos del Instituto Mexicano del Seguro Social.
- Conservar los datos y mostrarlos en caso de auditoría.
- Establecer un sistema de control y materiales del estudio.
- Conservar los documentos del protocolo durante un mínimo de 1 año, como lo marca la ley.

PARTE III

III.1.- RESULTADOS

Este estudio se realizó de septiembre del 2017 a Junio del 2018, en el cual se incluyeron 16 muestras de vegetaciones de los pacientes con diagnóstico de endocarditis atendidos en el CMN SXXI a quienes se les retiraron quirúrgicamente, una de las cuales se cultivo en dos ocasiones. En la tabla 4 se muestra el resumen de las principales características que presentó la muestra estudiada.

Tabla 4. Características del estudio

Características	N= 16 (%) (DE±)
Masculino (género)	12 (75%)
Edad (años)	49.94 (21.53)
Válvula nativa	13 (81.3%)
HAS+IRC (Comorbilidad)	4 (25%)
DM+HAS (Comorbilidad)	4 (25%)
DM+HAS+IRC (Comorbilidad)	4 (25%)
Tratamiento antibiótico	12 (75%)
Microscopía electrónica (Dx)	4 (25%)
Negativo (Microbiología)	7 (43.8%)
Hongo	5 (31.3%)

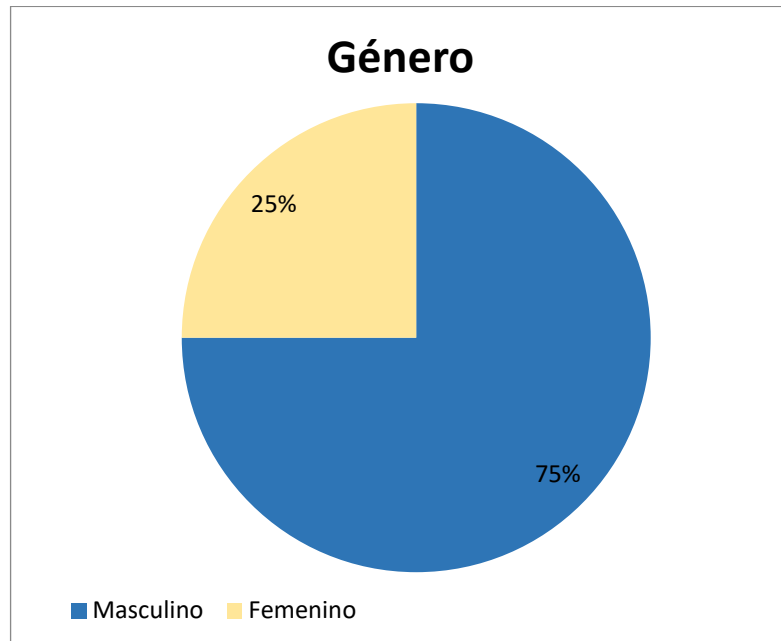
Dx= Diagnóstico

A) CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DE LOS ENFERMOS

Género

De 16 muestras, 12 correspondieron a pacientes del género masculino y 4 a pacientes del género femenino, con una relación de 3:1 (**Gráfico 1**).

Gráfico 1. Proporción de endocarditis infecciosa de acuerdo a género



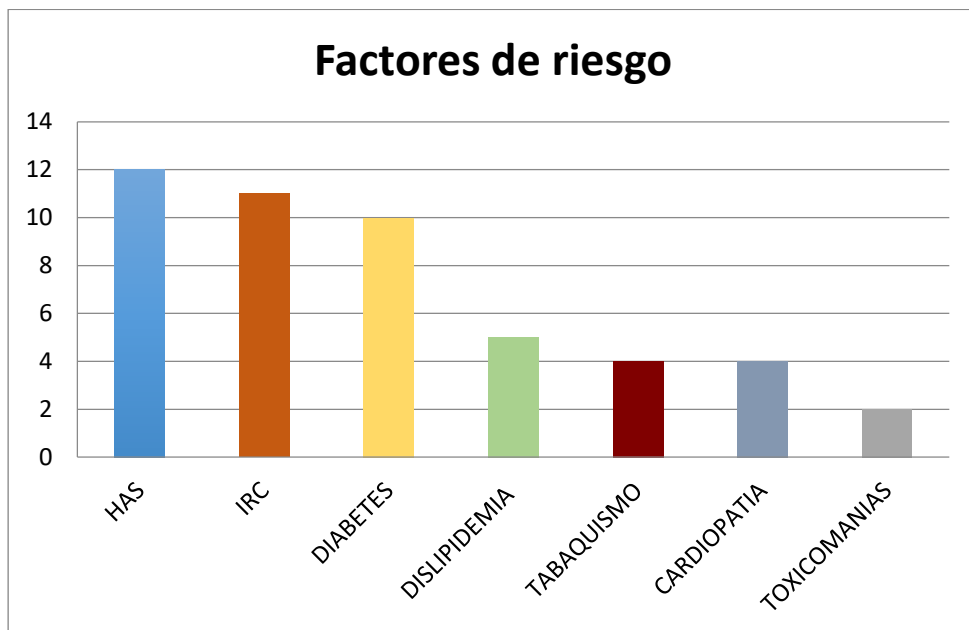
Edad

La edad de la población estudiada va de los 20 años a los 82 con una media de 49.93 años y una desviación estándar de ± 21.52 .

Comorbilidad

Dentro de los factores de riesgo analizados, destacaron en el presente estudio: uso de catéteres para hemodiálisis en 10 pacientes y lesión cardíaca previa en 6 pacientes. Sin dejar de lado las comorbilidades asociadas, presentando en la mayoría de los casos hipertensión arterial sistémica en 12 ocasiones seguida de lesión renal en tratamiento sustitutivo con hemodiálisis presente en 11 y diabetes mellitus presente en 10 casos (**Gráfico 2**).

Gráfico 2. Factores de riesgo

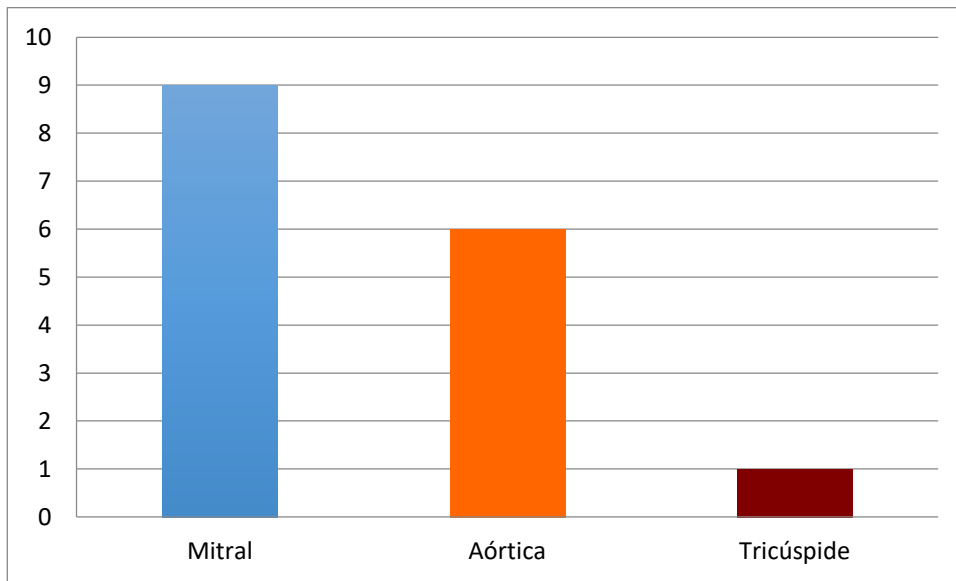


Localización de la lesión

Al analizar el sitio de localización de la vegetación, en 13 (81.3%) de estos casos se encontró sobre una válvula nativa y en 3 (18.8%) en válvula protésica.

La válvula que se encontró afectada en la mayoría de las veces fue la válvula mitral con 10 casos, seguida de la válvula aórtica con seis casos y la válvula tricúspide en un caso (**Gráfico 3**).

Gráfico 3. Válvula afectada por frecuencia



B) RESULTADOS DE MICROBIOLOGÍA E IMAGEN

A los 16 pacientes que se estudiaron, se les realizó cultivo de la vegetación, cultivo de la válvula en el H.C., hemocultivo, examen directo, microscopia electrónica y PCR obteniendo un total de 12 cultivos positivos (75%).

Examen directo

De los exámenes directos realizados al material quirúrgico en 2 casos (12.5%) se observaron hifas y en 1 (6.3%) levaduras, en 6 casos (37.5%) bacterias cocoides y en 7 casos (43.8%) el resultado fue negativo.

Cultivo

Mediante el cultivo de la vegetación en los medios: agar dextrosa Sabouraud simple incubados a 37°C y 25°C se obtuvieron siete cultivos positivos; observando crecimiento de hongos en tres casos y cuatro para bacterias. Las bacterias no se estudiaron ya que no era objetivo de esta tesis, sin embargo, se reporta el resultado obtenido en los equipos automatizados del H.C.

En el cultivo de válvula en el H.C. CMN SXXI, se obtuvieron 9 cultivos positivos; de los cuales 8 corresponden a bacterias Gram positivas (89%) [*Staphylococcus aureus* (3), *Streptococcus mitis*/ *Streptococcus oralis*, *Enterococcus faecalis*, *Kocuria rosea* / *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus warneri*, *Staphylococcus haemolyticus* / *Streptococcus gallolyticus* ssp.] y 1 a hongo correspondiendo a *Candida parapsilosis* (11%).

A continuación, se muestran las características macroscópicas de los agentes micóticos aislados.

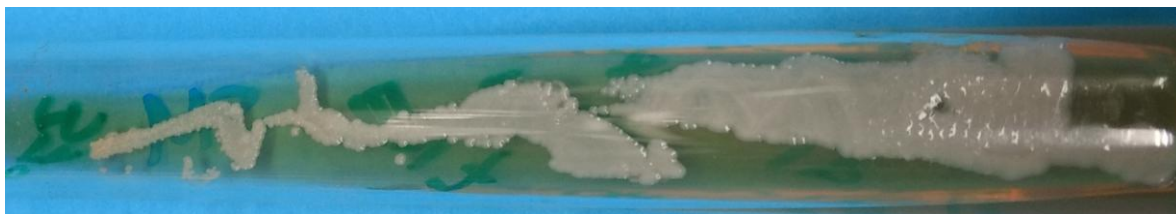


Figura 2. Aislado del caso No.7 *Candida parapsilosis*. Se observan colonias cremosas, lisas, brillantes, de color blanco o ligeramente beige.



Figura 3. Aislado del caso No. 8 *Aspergillus* spp. Se observa una colonia de aspecto aterciopelado, inicialmente de color verde olivo y que posteriormente se tornó marrón. El halo de la periferia es la zona de crecimiento.

Hemocultivos

Siete hemocultivos fueron positivos mediante el sistema BACT ALERT 3D Signature® en el H.C. CMN SXXI, de los cuales 6 bacterias (86%) y en una ocasión hongo (14%); cinco de las bacterias (83%) se identificaron como bacterias Gram positivas [*S. aureus* (4), *Staphylococcus coagulasa* negativo] y una bacteria (17%) como Gram negativa (*Burkholderia cepacia*); el hongo identificado corresponde a *Candida* spp.

Anatomía patológica

Solo en 7 de estos pacientes, las vegetaciones fueron enviadas al servicio de Anatomía Patológica del Hospital de Cardiología CMNSXXI, donde mediante el análisis de cortes histológicos únicamente se detectó la presencia de bacterias en 5 casos (tabla 5).

Tabla 5. Resultados emitidos por el servicio de Anatomía Patológica

NÚMERO DE REGISTRO MICOLOGÍA	REPORTE DE PATOLOGÍA
2	COCOS GRAM POSITIVOS
6	COCOS GRAM POSITIVOS Y CAMBIOS HISTOLOGICOS SUBAGUDOS
9	COCOS GRAM POSITIVOS
10	CAMBIOS POSINFLAMATORIOS CRÓNICOS INESPECÍFICOS
13	COCOS GRAM POSITIVOS
14	COCOS GRAM POSITIVOS
15	CAMBIOS INFLAMATORIOS CRÓNICOS INESPECÍFICOS

Microscopia electrónica

Es importante mencionar que por medio de microscopia electrónica de las vegetaciones se detectaron hongos en 4 casos (25%); en dos de los ellos se obtuvo crecimiento uno fue *Candida* spp. y el otro, *Aspergillus* spp, las otras dos válvulas positivas a la microscopía electrónica fueron negativas en el cultivo. Estos estudios se realizaron en la Unidad de Micología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México.

A continuación, se muestran las características microscópicas de los agentes micóticos aislados.

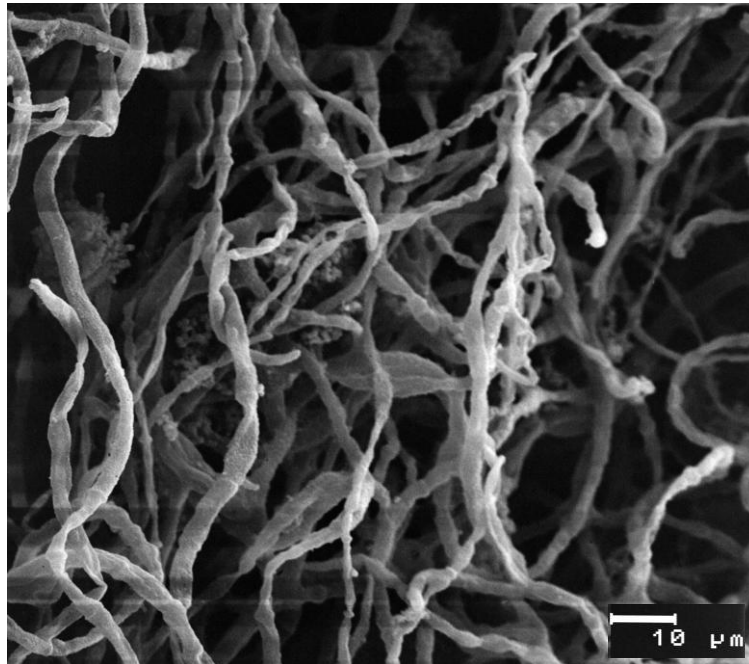


Figura 4a. Microscopia electrónica del caso No. 6. Se observan filamentos en la válvula formando una red intrincada que podría ser el inicio de una biopelícula, es notable la ausencia de conidios o cualquier estructura reproductora.

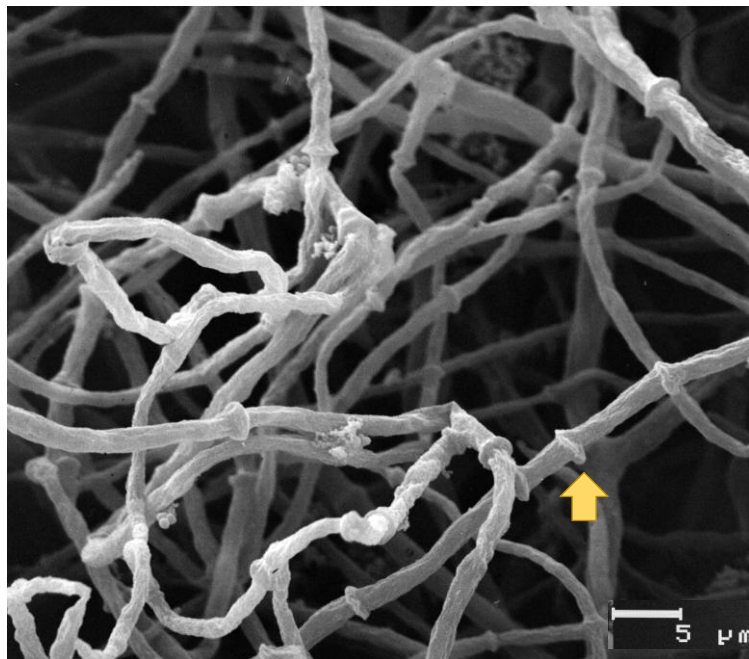


Figura 4b. Microscopia electrónica del caso No. 6. Se observan filamentos de aproximadamente 2 μm de diámetro en los que se observan septos prominentes.

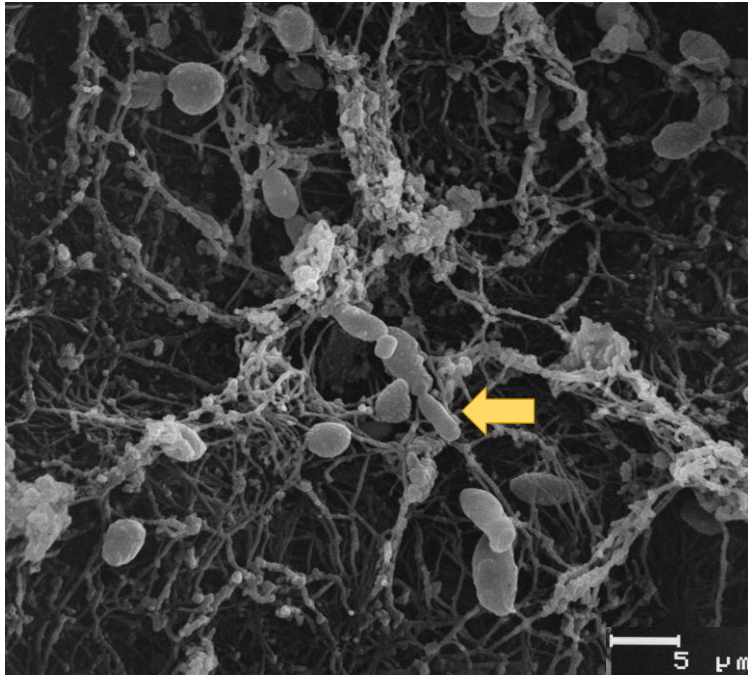


Figura 5a. Microscopia electrónica de caso No. 7. Se observan en la válvula levaduras, algunas aisladas y otras formando cadenas cortas. La superficie de era espiculada con dimensiones aproximadas de $4 \times 2 \mu\text{m}$. El cultivo de éstas estructuras se identificó como *Candida parapsilosis*.

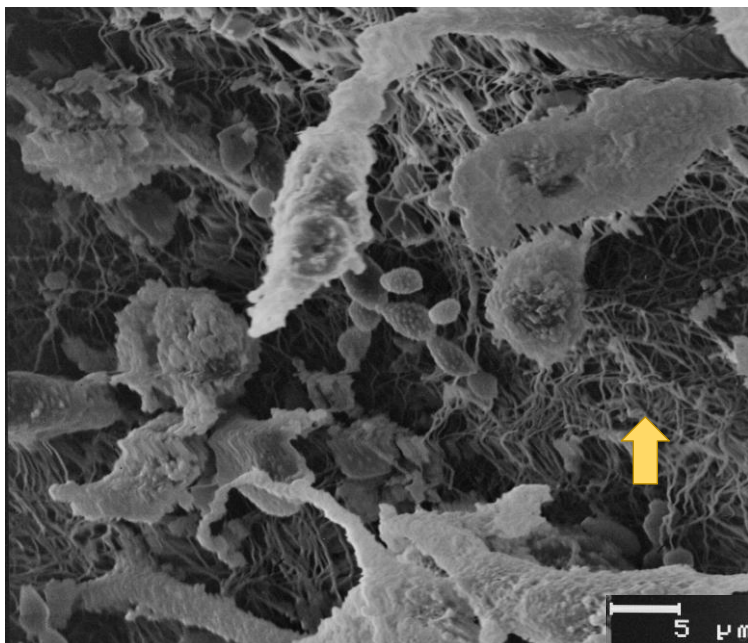


Figura 5b. De observan levaduras espiculadas en gemación de *Candida parapsilosis* en la válvula, embebidos por un material fibrilar abundante.

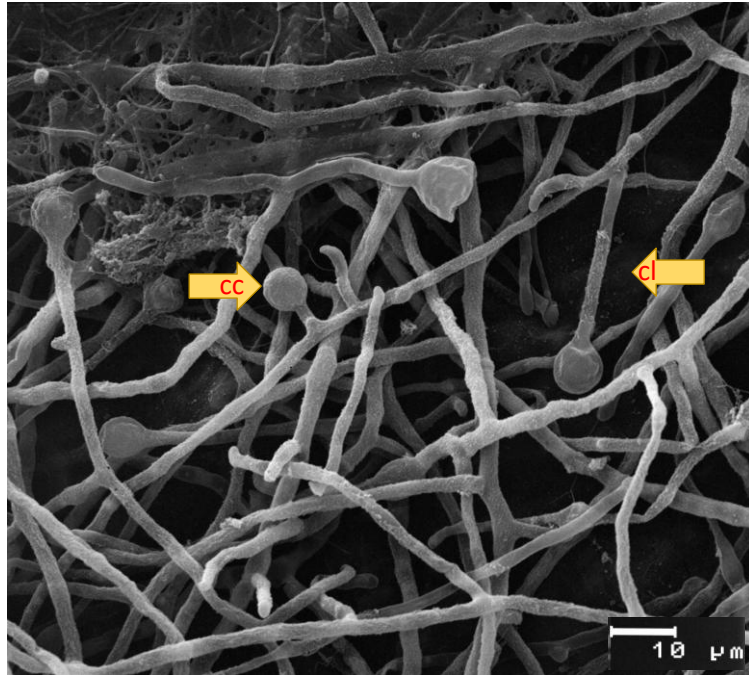


Figura 6a. Microscopia electrónica del caso No. 8 donde también se obtuvo por cultivo *Aspergillus* spp. se observan filamentos septados de aproximadamente 3 a 4 micrómetros y estructuras redondas que probablemente corresponden a microconidios originados de conidióforos cortos (cc) o largos (cl).

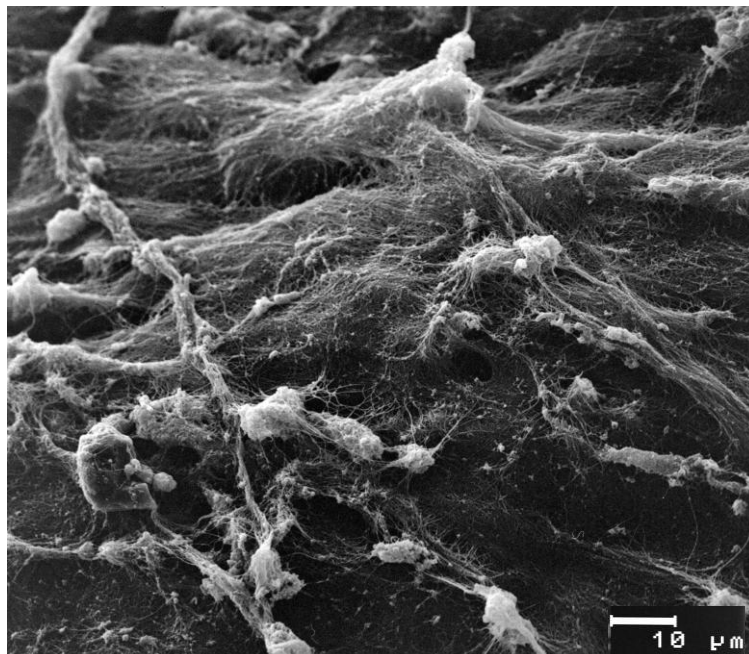


Figura 6b. Microscopia electrónica del caso No. 8 en otra sección donde se observan filamentos fúngicos, embebidos por un material fibrilar abundante y escasos microconidios, existe la posibilidad que estemos observando el nacimiento de una biopelícula.

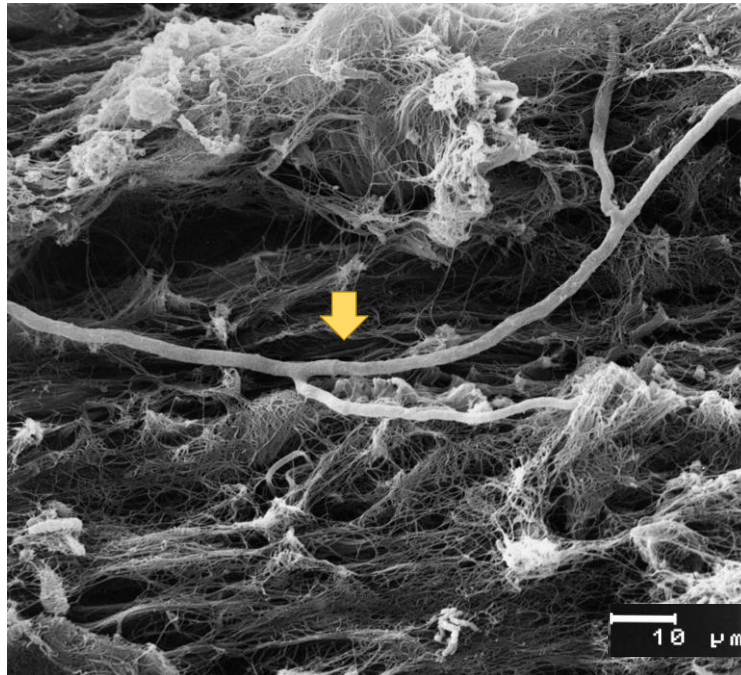


Figura 7a. Microscopia electrónica. Caso No. 10 se observan filamentos septados en la válvula algunos de ellos ramificados a 45° como ha sido descrito en *Aspergillus*, aunque la identificación precisa de este agente está en curso.

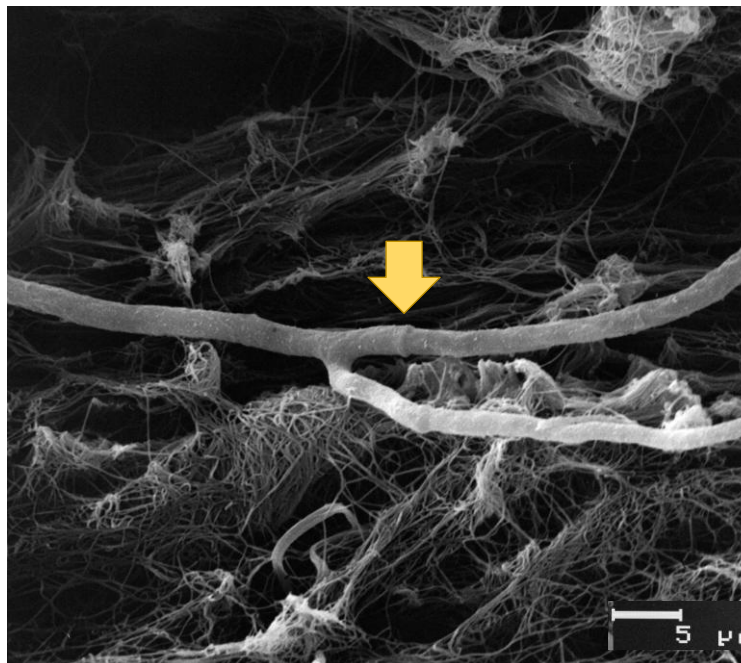


Figura 7b. Un acercamiento de la imagen anterior donde se observa claramente el septo y la ramificación en ángulo agudo ya mencionada.

En la tabla 6 se muestra la relación de los resultados positivos y los microorganismos aislados en las diferentes técnicas empleadas.

Tabla 6. Microorganismos aislados en pacientes con endocarditis Infecciosa

M.E.	VEGETACIÓN	MICROBIOLOGÍA	CULTIVO DE VEGETACIÓN	HEMOCULTIVO	CULTIVO DE VALVULA H.C
	2	ED: Cocos	Positivo Bacterias	Negativo	<i>Streptococcus mitis/ Streptococcus oralis</i>
	3	ED: Cocos	Negativo	<i>Staphylococcus coagulasa negativo</i>	Negativo
	4	ED: Cocos	Negativo	Negativo	<i>Enterococcus faecalis</i>
	6	ED: Cocos	Positivo Bacterias	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Positivo	7	ED: Levadura	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida spp.</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
	9	ED: Cocos	Positivo Bacterias	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Positivo	10	ED: Negativo	En proceso	Negativo	<i>Kocuria rosea / Streptococcus sangis</i>
Positivo	12	ED: Hifas	<i>Aspergillus spp.</i>	Negativo	<i>Staphylococcus warneri</i>
	13	ED: Cocos	Positivo Bacterias	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Positivo	14	ED: Negativo	Negativo	<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus / Streptococcus gallolyticus ssp</i>
	15	ED: Hifas	Positivo	Negativo	Negativo
	17	ED: Negativo	Negativo	<i>Staphylococcus aureus</i>	Negativo

M.E.= Microscopía Electrónica, ED= Examen Directo; Se omitieron 4 resultados, los cuales en hemocultivo, examen directo, cultivo de válvula y vegetación fueron negativos.

Al analizar la correlación entre la microscopia electrónica de barrido y el aislamiento de hongos mediante el método estadístico utilizado se encontró asociación con una $p=0.003$ (Tabla 7), esto probablemente se debe a la sensibilidad $>85\%$ y especificidad $>95\%$ de la técnica. Finalmente, el aislamiento de hongos en relación con las comorbilidades, el género y el tipo de válvula no se encontró significancia estadística, lo que probablemente se puede esclarecer con una muestra más grande.

Tabla 7. Prueba de Chi- cuadrada

	HONGO
	MICROSCOPIA ELECTRÓNICA
Chi-Cuadrado de Pearson	.003
Prueba exacta de Fisher	.001

III.2.- DISCUSIÓN

En este trabajo y varios publicados en las ultimas dos décadas se demuestra la importancia de la EF debido entre otros factores a: mortalidad, agentes involucrados, sitio de afectación, y los factores asociados, estas condiciones predisponentes han presentado variación importante en los últimos años.

En algunos estudios previos se refiere que la EI tiene una mortalidad global de aproximadamente 80% (W.J. Steinbach et al. 2005). En el Hospital de Cardiología los egresos por defunción de esta patología correspondieron al 25% en un año. La tasa de supervivencia de la EF es aun más baja que la causada por bacterias, sin embargo, el pronóstico, ha mejorado considerablemente en las últimas cuatro décadas; pasando del 15% a fines de la década de 1960, aumentando al el 50% en la actualidad, ésta mejoría se debe al tratamiento quirúrgico y antifúngico cuando son diagnosticados oportunamente, en este estudio se observa una mortalidad del 20% de los casos de EF^{10,17}.

Un aspecto importante de la EF es que la tasa de supervivencia es significativamente mayor en los pacientes infectados con levaduras, en comparación con los pacientes con EF por mohos, los datos de sobrevida en pacientes infectados por levaduras muestran buen pronóstico en 68% de los pacientes mientras que la sobrevida en infecciones por mohos es de 10% a 20%. La incidencia mundial de endocarditis infecciosa es de 1 a 6 casos por 100,000 pacientes por año²⁰. Algunos investigadores observaron que no había diferencia en la mortalidad con el tratamiento antifúngico versus la intervención quirúrgica, pero la mortalidad disminuyó en los pacientes sometidos a terapia quirúrgica tanto de reemplazo quirúrgico como antifúngico¹⁸.

De los 16 pacientes estudiados en esta tesis, la mayoría de los afectados fueron del sexo masculino con una relación de 3:1 coincidiendo con lo descrito en la literatura mundial quienes reportan una relación de masculino-femenino de 3:1 a 5:1. Nadir and Rubinstein (2004) describen en la EF una relación aproximadamente de 2:1 siendo del mismo modo predominante en el género masculino^{1,5,10}.

En cuanto al rango de edad, la bibliografía refiere mayor frecuencia entre los 33 y 70 años con una media de 45, en nuestro estudio el rango de edad va de los 20 años a los 82 años con una media de 49.93 y una desviación estándar de 21.52 por lo que

queda demostrado que es una patología de adultos. Los pacientes con EF de válvula nativa son significativamente más jóvenes que los pacientes con prótesis valvular (mediana de edad de 33 y 53 años, respectivamente).^{1,10} Respecto a la población pediátrica Chelliah y col. (2012) estudiaron 84 pacientes pediátricos con una patología cardíaca de base quienes desarrollaron EI, los niños con cardiopatía cianótica eran más jóvenes que aquellos con cardiopatía acianótica (mediana de edad de 0.3 años versus 8.4 años respectivamente)^{1,15}. Este estudio se realizó en un hospital que sólo atiende población adulta, por lo que no tenemos ningún caso registrado en edades pediátricas.

Con relación a las comorbilidades la literatura refiere que los factores de riesgo son numerosos, sin embargo, en esta investigación los factores predisponentes detectados en la mayoría de los casos fueron únicamente tres: hipertensión arterial sistémica en 12 (75%), insuficiencia renal con uso de catéter para hemodiálisis en 11 (69%) y diabetes mellitus en 10 (69%). Es importante mencionar que varios de los pacientes presentaron más de un factor de riesgo por lo que aparentemente no hay diferencia con lo reportado en otras investigaciones mexicanas y extranjeras en las cuales reportan los factores predisponentes como terapia a largo plazo con antibióticos, nutrición parenteral total, uso de drogas por intravenosas, intubación prolongada, inmunosupresión, quimioterapia, procedimientos quirúrgicos complejos, cirugía cardíaca, catéteres venosos a largo plazo, marcapasos, desfibriladores y otros dispositivos intravasculares^{1,5-21,24,25}.

Como era de esperar, por reportes previos en la literatura las vegetaciones se presentaron principalmente en la válvula nativa con predominio en la válvula mitral,^{1,22,23} en nuestro estudio este dato se corroboró ya que se presentó en válvula nativa en 13 ocasiones (81.3%) y en 9 casos en la válvula mitral (56%).

Los agentes que predominan en los casos de EI referido por diferentes autores como Silverman M. et al.(2007) y Thuny F. Et al. (2012), son en su mayoría bacterias Gram positivas, principalmente *Staphylococcus aureus*,¹⁶⁻²⁶ lo cual correlaciona con los datos obtenidos en el Hospital de Cardiología CMN SXXI a través de hemocultivos automatizados con la identificación por medio del sistema BACT ALERT 3D Signature®, sin embargo es importante mencionar que la detección de hongos es inadecuada con los sistemas automatizados ya que en este estudio, solo se detectó en una ocasión la presencia de hongos por este método. En relación a los hallazgos microbiológicos fue muy importante incluir además de los procedimientos habituales

(frotis, cultivo de las vegetaciones, hemocultivo e histología) la detección con microscopía electrónica fue positiva en 4 pacientes, pero, en dos ellos, todas las otras técnicas fueron negativas.

En relación a los aislados, un cultivo fue de *Candida parapsilopsis*; otro fue *Aspergillus* spp. estos dos aislados concuerdan con lo publicado en la literatura mundial ¹⁰. Sin embargo, hubo un aislado de hongo filamentoso hialino cuya taxonomía es incierta ya que carece de estructuras de reproducción que permitan su identificación, actualmente se encuentra en estudio con técnicas moleculares para su clasificación precisa, pero de acuerdo a sus características de crecimiento, suponemos que es un hongo filamentoso hialino diferente a *Aspergillus*.

Aunque *C. albicans* es el principal agente micótico de la EF, en esta investigación, sólo se aisló un cultivo de *C. parapsilopsis*. Es necesario que los casos de EF aquí detectados sean vigilados durante varios años, ya que estas infecciones pueden ser recidivantes y se han publicado recaídas hasta 43 meses después de haber sido dados de alta ^{18,19}, esta será una de las recomendaciones que se harán en relación a los cuatro casos de EF aquí detectados.

También se han reportado pequeños brotes originados por las manos del personal quirúrgico contaminado con este agente al rasgarse los guantes durante la cirugía, se ha convertido en un importante agente etiológico de EF asociada a cuidados de la salud debido a su capacidad para sobrevivir en la piel y en las infusiones de glucosa y su capacidad de adherencia a los materiales sintéticos, como los dispositivos intravasculares ¹⁰, éste hecho, no se presentó en los enfermos incluidos en este estudio.

Aspergillus es un género de hongos con capacidad de invadir muchas áreas del cuerpo humano, y en reportes mundiales de EF ocupa el segundo lugar de frecuencia, causando hasta el 25% de los casos ^{10,17}. Su adherencia a la válvula cardíaca dañada es debido a su capacidad para unirse a la matriz de plaquetas y fibrina. Además, liberan varias proteasas que permiten la invasión y destrucción del revestimiento de las células endoteliales creando un medio inflamatorio y tiene capacidad para secretar metabolitos tóxicos, concretamente gliotoxinas por lo que puede colonizar e infectar la mayoría de los órganos del cuerpo, comenzando por los pulmones debido a la transmisión aérea. La endocarditis por *Aspergillus* spp. se desarrolla principalmente durante la cirugía, como consecuencia de la siembra por

esporas transportadas por el aire, aunque la enfermedad puede ocurrir con mucha menos frecuencia en pacientes sin cirugía cardíaca previa^{1,10,17}.

De los 16 pacientes estudiados, se detectó la presencia del hongo en el material extraído quirúrgicamente en 5 casos por microscopia electrónica y/o por cultivo. Llama la atención que en ninguno de estos 5 casos se observó material fúngico mediante las técnicas habituales de histología ya que no se reportó la presencia de hongos.

Finalmente es importante mencionar que los hongos se involucraron en un porcentaje mayor a lo referido por la literatura correspondiendo al 31.3%, anteriormente en un trabajo hecho en este hospital se obtuvo un porcentaje de 17% para EF por hemocultivo con el método de lisis centrifugación el cual muestra un gran porcentaje de recuperación de los hongos, además de estar por encima de lo publicado en la literatura nacional e internacional el cual reportan de un 1 a un 10% de etiología fúngica^{1,5,10,17,19,20}. Esto demuestra la importancia de hacer cada vez más, pruebas diagnósticas con alta sensibilidad y especificidad como es el caso de la microscopia electrónica en este estudio.

III.3.- CONCLUSIONES

- En el Hospital de Cardiología la frecuencia de endocarditis bacteriana obtenida en estos pacientes fue de 50% mientras que en la EF fue de 31.3%, cabe resaltar que es una frecuencia elevada de etiología micótica en comparación a reportes previos. En 18.7% de los enfermos no se determinó la causa.
- Los métodos automatizados son deficientes para detectar los agentes de EF ya que quedó demostrado que solamente detectaron uno de los cinco casos de endocarditis causada por hongo.
- La microscopía electrónica aun siendo un procedimiento de costo elevado, debería incluirse en la metodología de estudio diagnóstico en estos pacientes por que detecta casos positivos aún cuando, con otras técnicas son negativos.
- En el Centro Médico Nacional Siglo XXI, se requiere contar con un Laboratorio de Alta Especialidad para el Diagnóstico de Micosis, ya que, en los últimos años el número de infecciones fúngicas graves, incluyendo la EF se ha incrementado y las técnicas de diagnóstico y clasificación taxonómica de los agentes, así como los estudios de detección se han vuelto complejos.

REFERENCIAS.

1. Chan K. L. & Embil J.M. (2016). *Endocarditis: Diagnosis and Management*. 2nd ed. Ottawa, ON, Canada: Springer International Publishing.
2. Almirante B. & Miró J.M. (2008). Infecciones asociadas a las válvulas protésicas cardíacas, las prótesis vasculares y los dispositivos de electroestimulación cardíacos. *Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica*, 26(10), 647-64.
3. Fournier P. E., Charrel R. Et al. (2011). Viral Endocarditis or Simple Viral Disseminated Infection. *Clinical Infectious Diseases*, 53(12), 1298.
4. Burch G.E. & DePasquale N. P. (1964). Viral endocarditis. *American Heart Journal*, 67(1964), 721-723.
5. Moreillon P., Que Y. (2004). Infective endocarditis. *Lancet*, 363, 139–49.
6. Naber C. K. & Erbel R. (2007). Infective endocarditis with negative blood cultures. *International Journal of Antimicrobial Agents*, S32–S36.
7. Syed F. F., Millar B. C., et al. (2007). Molecular Technology in Context: A Current Review of Diagnosis and Management of Infective Endocarditis. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 50(3), 181-197.
8. Qin X. & Urdahl K. B. (2001). PCR and sequencing of independent genetic targets for the diagnosis of culture negative bacterial endocarditis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 40, 145-149.
9. Fernández Á. L., Varela E., et al. (2010). Evaluation of a Multiplex Real-Time PCR Assay for Detecting Pathogens in Cardiac Valve Tissue in Patients With Endocarditis. *Revista Española de Cardiología*, 63(10),1205-8.
10. Nadir E. & Rubinstein E. (2004). Fungal Endocarditis. *Current Infectious Disease Reports*, 6, 276–282.
11. Lang S., Watkin R.W., et al. (2004). Evaluation of PCR in the molecular diagnosis of endocarditis. *Journal of Infection*, 48, 269–275.

12. Watkin R. W., Lang S. Et al. (2003). The microbial diagnosis of infective endocarditis. *Journal of Infection*, 47, 1-11.
13. Li J.S., Sexton D. J., et al. (2000). Proposed Modifications to the Duke Criteria for the Diagnosis of Infective Endocarditis. *Clinical Infectious Diseases*, 30, 633–638.
14. Tak T. & Shukla S. K. (2004). Molecular Diagnosis of Infective Endocarditis: A Helpful Addition to the Duke Criteria. *Clinical Medicine & Research*, 2(4), 2006-2008.
15. Chelliaha A., Saiman L., et al. (2012). Applicability of the modified Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis in children with and without heart disease. *Journal of Pediatrics Infectious Diseases*, 7, 151-157.
16. Thuny F., Grisoli D., et al. (2012). Management of infective endocarditis: challenges and perspectives. *Lancet*, 379, 965–975.
17. El-Hamamsy I., Dürleman N., et al. (2005). Aspergillus Endocarditis After Cardiac Surgery. *The Annals of Thoracic Surgery*, 80, 359-364.
18. William J. S, John R. P., et al. (2005). A meta-analysis of medical versus surgical therapy for Candida endocarditis. *Journal of Infection*, 51, 230-247.
19. Khan M. U., Ali S., et al. (2007). Candida parapsilosis endocarditis 8 months after transient candidemia. *International Journal of Cardiology*, 118, e58–e59.
20. Méndez T.L.R. & Rangel D.P.M. (2017). *Frecuencia de aislamiento de hongos y susceptibilidad antifúngica en muestras de sangre de pacientes con endocarditis*. Tesis de grado de especialidad médica en Patología clínica. Universidad Nacional Autónoma de México.
21. Albrich C. W, Kraft C., et al. (2004). A mechanic with a bad valve: blood-culture- negative endocarditis. *Infectious Diseases*.
22. Rendón E. F., Campo A. J., et al. (2012). Surgical management of infective endocarditis: 10 years experience. *Elsevier*, 12(57), 196-204.

23. Habib G, Lancellotti P, Antunes M, Grazia-Bongiorni M, Casalta JP, Del-Zotti F, et al. (2015). European Heart Journal 2015. ESC Guidelines for the Management of infective endocarditis, 36, 3075-3123.
24. Guía de Práctica Clínica Diagnóstico y Tratamiento de la Endocarditis Infecciosa, México: Secretaría de Salud 2010.
25. Fernández H. N. & Almirante B. (2012). La Endocarditis Infecciosa en el siglo XXI: cambios epidemiológicos, terapéuticos y pronósticos. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Elsevier, 30(7), 294-406.
26. Silverman M.E & Upshaw C.B. (2007). Extracardiac Manifestations of Infective Endocarditis and Their Historical Descriptions. The American Journal of Cardiology. Elsevier.

ANEXO 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Nota: Se presenta como requisito de protección de datos personales de los sujetos que entraran a estudio, los cuales exige el comité de ética del IMSS



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN
Y POLITICAS DE SALUD
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD**

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO (ADULTOS)

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

Nombre del estudio:	Detección e identificación de hongos en vegetaciones de pacientes con diagnóstico de endocarditis
Patrocinador externo (si aplica):	No aplica
Lugar y fecha:	Hospital de Cardiología CMN SXXI, Septiembre 2017-Junio 2018
Número de registro:	
Justificación y objetivo del estudio:	<p>La capa interna del corazón, puede inflamarse por infecciones causadas por diferentes microorganismos y afectar las válvulas del corazón, los investigadores estamos interesados en conocer el número de infecciones causadas por hongos en las vegetaciones e identificarlos.</p> <p>No se le practicarán procedimientos adicionales a los habituales para su diagnóstico y tratamiento, y le informamos que los datos que le solicitamos como: edad, ocupación, sexo y enfermedades adicionales, serán manejados de manera confidencial sin ningún prejuicio para Usted.</p> <p>La etiología fúngica en la endocarditis infecciosa será mayor que la reportada en la literatura ya que solo existen reportes de países desarrollados, no siendo el caso de México. Los objetivos del estudio serán determinar la frecuencia de la endocarditis fúngica y la taxonomía de los agentes etiológicos.</p>
Procedimientos:	Las estructuras (vegetaciones) obtenidas en la cirugía se procesaran con el fin de conocer si Usted tiene una infección por hongos.
Posibles riesgos y molestias:	No aplica por ser un estudio observacional
Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:	Se obtendrá un diagnóstico mas preciso y completo, lo que brindara un tratamiento dirigido.
Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:	Nos comprometemos a aclarar cualquier duda durante el período de la recolección de sus datos y posterior a éste.
Participación o retiro:	No se le practicarán procedimientos adicionales a los habituales para su diagnóstico y tratamiento, y le informamos que los datos que le solicitamos como: edad, ocupación, sexo y enfermedades adicionales, serán manejados de manera confidencial sin ningún prejuicio para Usted.

En caso de quererse retirar de estudio al dejar de dar su consentimiento informado, lo puede hacer en cualquier momento, sin afectar su tratamiento, ni poniendo en riesgo la atención de calidad recibida por el médico tratante

Privacidad y confidencialidad: Nos comprometemos a resguardar sus datos, en nuestro estudio sólo serán apoyo a las estadísticas, no los usaremos para uso externo al que se está consintiendo por este medio, ni se publicarán en ningún medio los nombres de los participantes.

Disponibilidad de tratamiento médico en derechohabientes (si aplica): No aplica

Beneficios al término del estudio: Se obtendrá un diagnóstico mas preciso y completo, lo que brindará un tratamiento dirigido y con fines estadísticos sobre la etiología de endocarditis fúngica.

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a:
Investigador Responsable: Dra. María del Carmen Jiménez González. 99368733. Cel. 5523392305
Colaboradores: Dra. Gladys Galicia Castelán. 97370240. Cel. 2227094023

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comiteeticainv.imss@gmail.com

Nombre y firma del sujeto

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

Testigo 1

Testigo 2

Nombre, dirección, relación y firma

Nombre, dirección, relación y firma

Este formato constituye una guía que deberá completarse de acuerdo con las características propias de cada protocolo de investigación, sin omitir información relevante del estudio

Clave: 2810-009-013



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

U.M.A.E. Hospital de Cardiología Centro Medico Nacional Siglo XXI. Av. Cuauhtémoc Col.

Doctores 330 C.P. 06720. Teléfono: 56276900 ext. 22053

ANEXO 2

HOJA PARA REGISTRO DE PACIENTES

Del protocolo “Detección e identificación de hongos en vegetaciones de pacientes con diagnóstico de endocarditis”

Nombre: _____ Registro IMSS: _____ Edad: _____

_____ Genero _____

Fecha: _____ Registro protocolo: _____

Endocarditis diagnosticada por Clínica: _____

Vegetación en Ecocardiografía si _____ no _____ Hemocultivo _____

Tratamiento antibiótico: si _____ no _____

Tratamiento inmunosupresor: si _____ no _____

Comorbilidades:

- Diabetes mellitus
- Lesión renal
- Alcoholismo
- VIH
- Cáncer.
- Uso de esteroides.
- Uso de drogas por vía parenteral o antibióticos.
- Manipulación dental.

Sitio de donde se obtuvo:

- Válvula mitral nativa
- Válvula aortica nativa
- Válvula tricúspide nativa
- Válvula protésica

Agente(s) aislado(s) en vegetación: _____

Fechas de aislamiento: _____, _____, _____

OBSERVACIONES