



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y PATRONES DE
SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA EN *Fusarium* spp. CAUSANTES
DE INFECCIÓN OCULAR

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

PRESENTA:

RODRIGO ABRAHAM PÉREZ GARCÍA



DRA. MARÍA DE LOS ANGELES PATRICIA MANZANO
GAYOSSO

CD. UNIVERSITARIA, CDMX, 2019



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.

Este trabajo fue realizado en la Unidad de Micología del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

FMDI-133-2017

Laboratorio de Microbiología, Asociación para Evitar la Ceguera en México A.C.,
CDMX.

Jurado asignado:

Presidente: Dra. Francisca Hernández Hernández

Vocal: Dr. Luis Javier Méndez Tovar

Secretario: M. en C. María de los Angeles Patricia Manzano Gayosso

1° Suplente: Dr. Sigfrido Sierra Galván

2° Suplente: Biól. Elva Bazán Mora

Agradecimientos académicos

A la Q. F. B. Virginia Vanzzini Zago por el apoyo para la obtención de los aislados clínicos de *Fusarium* spp.

A la M. en C. Jamie Zabicky por sus enseñanzas en las técnicas de cuantificación de la actividad de los antifúngicos realizadas en este trabajo de tesis.

Índice

1. Introducción	1
1.1. Género <i>Fusarium</i>	1
1.1.1. Historia y datos relevantes	1
1.1.1.1. Importancia en la agricultura	1
1.1.1.2. Importancia en la medicina	2
1.1.2. Ubicación taxonómica	3
1.1.2.1. Taxonomía molecular de <i>Fusarium</i>	4
1.1.2.2. Morfología de <i>Fusarium</i> spp.	6
1.1.2.2.1. Macroconidios	7
1.1.2.2.2. Microconidios	8
1.1.2.2.3. Clamidoconidios	8
1.1.2.2.4. Fiálides	9
1.1.3. Hábitat y ecología	11
1.1.3.1. Patógeno de cultivos de importancia agrícola	12
1.1.3.2. Patógeno de animales no humanos	13
1.1.4. Factores de virulencia	14
1.1.4.1. Micotoxinas	15
1.1.4.2. Enzimas	16
1.1.4.3. Formación de biopelículas	16
1.1.4.4. Resistencia a antifúngicos	17
1.2. Formas clínicas de las infecciones por <i>Fusarium</i> spp.	18
1.2.1. Superficiales	19
1.2.2. Oculares	20
1.2.2.1. Queratitis micótica	20

1.2.2.2. Endoftalmitis	21
1.2.3. Subcutáneas	21
1.2.4. Profundas	22
1.2.5. Factores de riesgo	22
1.3. Epidemiología	25
1.3.1. Infecciones superficiales	25
1.3.2. Queratomicosis	26
1.3.2.1. Queratitis por <i>Fusarium</i> spp. en México	27
1.3.3. Infecciones diseminadas	27
1.3.4. Principales agentes etiológicos	28
1.3.5. Pronóstico	28
1.4. Tratamiento de las infecciones por <i>Fusarium</i> spp.	31
1.4.1. Infecciones superficiales	32
1.4.2. Infecciones oculares	32
1.4.3. Fusariosis subcutáneas y diseminadas	33
1.4.4. Mecanismos de acción de los antifúngicos	34
2. Justificación	35
3. Objetivos	36
3.1. Objetivo general	36
3.2. Objetivos particulares	36
4. Material y métodos	37
4.1 Purificación de aislados clínicos	37
4.2. Estudio morfológico e identificación de los aislados	37
4.3. Prueba de sensibilidad a antifúngicos	39
4.3.1. Preparación de soluciones madre de los antifúngicos	39

4.3.2. Preparación de las placas	39
4.3.3. Preparación del inóculo	41
4.3.4. Inoculación de las placas	42
4.3.5. Lectura de placas y registro de datos	42
4.3.6. Determinación de la Concentración Mínima Fungicida (CMF)	43
4.4. Efecto letal del voriconazol (VRZ)	44
4.5. Análisis estadístico	45
5. Resultados	46
5.1. Datos epidemiológicos y agentes etiológicos	46
5.1.1. Pacientes	46
5.1.2. Identificación y características fenotípicas de las especies de <i>Fusarium</i>	51
5.2. Prueba de sensibilidad a antifúngicos	56
5.2.1. Análisis estadístico	57
5.3. Efecto letal del VRZ	59
6. Discusión	60
7. Conclusiones	64
8. Abreviaturas	65
9. Referencias	69
10. Anexo	84

1. Introducción

1.1. Género *Fusarium*

1.1.1. Historia y datos relevantes del género *Fusarium*

El género *Fusarium* fue descrito por el naturalista alemán Johann Heinrich Friedrich Link en 1809 y acuñó este neolatinismo, haciendo referencia a la forma en huso o fusiforme de los conidios (*fusus*, huso) [47, 62].

1.1.1.1. Importancia en la agricultura

Las especies de este género se caracterizan por ser fitopatógenas causantes de la descomposición del sistema vascular de los cultivos de importancia agrícola, así como ser patógenos oportunistas de humanos y ser productores de micotoxinas de importancia médica [4, 28, 39, 62, 65, 75, 103]. Una de estas especies de importancia agrícola es *F. oxysporum*, pues a finales de la década de 1950, la cepa tropical 1 (TR1, por sus siglas en inglés) de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, provocó la llamada enfermedad de Panamá, la cual afectó considerablemente los cultivos de plátano Gros Michel [32]. En 2014, la cepa TR4 de este hongo afectó considerablemente los plantíos de plátano variedad Cavendish en varios países de los continentes de Asia, Oceanía y África [32]. Algunos usos benéficos que se trataron de dar a estos hongos fue como control biológico de malezas en los campos de cultivo de jitomate (*Solanum lycopersicum*) [12], así como la destrucción de plantíos de coca (*Erythroxylum coca* var. *coca*) [14]. *Fusarium oxysporum* f. sp. *erythroxyli* fue usado como control biológico por el gobierno de los Estados Unidos de América para la destrucción de este tipo de

plantíos en Sudamérica en su combate contra el narcotráfico. Sin embargo, se considera que el uso de este hongo provocó una plaga conocida como “seca-seca” que afectó cultivos de otras plantas en el valle de Huallaga, Perú, en 1984 [16]. Por ésta y otras razones (como ser un patógeno oportunista de individuos inmunocomprometidos) fue que se discontinuó su uso como micoherbicida.

1.1.1.2. Importancia en la medicina

Diversas especies se han descrito como causantes de infección en el humano. El primer caso reportado de una infección humana causada por *Fusarium* fue por Mikami y Stemmermann en 1958 [70]. Igualmente fue el primer caso reportado de infección ocular en el mundo. Se trató de un caso de queratomicosis en un granjero filipino de 45 años. La vía de entrada fue por una herida causada por la cola de una vaca [68] y probablemente agravado por el uso de corticosteroides y la tardía identificación del patógeno. Zapater y Arrechea, en 1978, publicaron una revisión de 112 casos de queratitis por *Fusarium* spp. [109]. En las últimas décadas, los casos de infecciones oculares por *Fusarium* han aumentado [4, 35, 39, 77, 103]. Anteriormente se consideraba que había mayor frecuencia de infecciones oculares causadas por *Fusarium* en granjeros. Sin embargo, se considera que la frecuencia ha aumentado afectando a personas con otras ocupaciones debido al uso generalizado de lentes de contacto y a malas prácticas higiénicas de los mismos [4].

En 1973, Cho *et al.* reportaron el primer caso de fungemia causada por *Fusarium* en un paciente con leucemia aguda [18, 35, 75]. De igual forma se ha incrementado el número

de casos reportados de infecciones sistémicas causadas por *Fusarium*, por el aumento en los factores que causan inmunosupresión en los pacientes [35].

1.1.2. Ubicación taxonómica

En sus inicios, el género *Fusarium* fue considerado un hongo anamorfo perteneciente al *phylum* artificial Deuteromycota; no fue hasta la década de 1990, con el surgimiento de las técnicas de secuenciación de DNA y de taxonomía filogenética, que éste y los demás géneros de Deuteromycota fueron reubicados dentro del *phylum* Ascomycota [100]. De igual forma, dentro de Ascomycota se encuentran los géneros *Nectria*, *Gibberella*, *Microdochium*, de los cuales algunas especies son teleomorfos de *Fusarium* [108].

De acuerdo con Ma *et al.* (2016), el género actualmente se encuentra clasificado de la siguiente manera [65]:

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Nectriaceae

Género: *Fusarium*

Especies: *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. dimerum*,

F. subglutinans, *F. chlamydosporum*.

Las primeras especies descritas de este género se hicieron en base a sus características morfológicas. Sin embargo, no existía una nomenclatura y una

sistemática establecida para la identificación del género, lo cual dio como resultado un exceso de especies descritas [62]. Distintos autores [62, 103] explican que Wollenweber y Reinking en 1935 describieron la clasificación de especies de acuerdo a sus características morfológicas, como el tipo y forma de los conidios, quedando el género dividido en 16 secciones, 65 especies y 77 subespecies. No obstante, la clasificación sufrió cambios a lo largo del siglo pasado. En los trabajos de Snyder y Hansen (1941) redujeron el número de especies a nueve, basados en las variaciones observadas dependiendo del medio de cultivo usado. Posteriormente se describieron modificaciones en la clasificación como la de Raillo (1950), la cual se basó en la morfología de los cultivos monospóricos. Bilai (1955) realizó revisiones a las clasificaciones y tomó en cuenta la influencia de aspectos fisiológicos en el crecimiento como la temperatura óptima de crecimiento, la humedad del medio y la composición. Booth (1971) retomó la importancia de la morfología de la célula conidiógena en la identificación de las especies, basado en la clasificación de Wollenweber y Reinking. Finalmente, Nelson, Toussoun y Marasas (1983) elaboraron una guía de identificación de *Fusarium*, la cual recopiló diversos datos de anteriores clasificaciones, lo cual llevó a una herramienta más completa de identificación de especies, pero también más complicada [34, 62].

1.1.2.1. Taxonomía molecular de *Fusarium*

Actualmente las clasificaciones de las especies de *Fusarium* se basan en las técnicas moleculares de secuenciación de DNA para definir especies y la creación de filogenias, empleando secuencias conservadas como espaciadores entre secuencias codificantes de RNA ribosomal (ITS por sus siglas en inglés) y secuencias codificantes como

factores de elongación permitieron la identificación más completa de las especies. Sin embargo, en el 2012, después de la reunión de expertos taxónomos de la Asociación Internacional para la Taxonomía de Plantas (IAPT, por sus siglas en inglés) en el décimo octavo Congreso Internacional de Botánica, fue modificado el Código Internacional de Nomenclatura de Algas, Hongos y Plantas, designando el nombre de la fase teleomorfa como el nombre oficial del holomorfo. Debido a que *Fusarium* estaba compuesto por anamorfos de distintas especies, a que hay especies de *Fusarium* que tienen relevancia en distintos campos de estudio [47, 103], a que no se ha descrito el teleomorfo en todas las especies de *Fusarium* [62] y con el propósito de mantener la estabilidad en la nomenclatura, en esta reunión los taxónomos determinaron conservar el género [47].

Las técnicas moleculares han permitido la identificación de especies crípticas o complejos de especies. Éstos son conjuntos de especies relacionadas estrechamente e indistinguibles morfológicamente [4]. El género *Fusarium* contiene veinte complejos de especies, de los cuales siete son de importancia médica [4, 103]. Estos son el complejo de especie *F. solani* (FSSC, por sus siglas en inglés), el de *F. oxysporum* (FOSC), el de *F. dimerum*(FDSC) el de *F. fujikuroi* (FFSC), el de *F. incarnatum-equiseti*(FIESC), el *F. chlamydosporum* (FCSC), y el de *F. sporotrichioides* (FSAMSC). En el cuadro 1, sólo se incluyen las especies más frecuentes causantes de infección en humanos.

Cuadro1. Complejos de especies de *Fusarium* causantes de enfermedades en el humano.

Complejo de especies	Especies
FSSC	<i>F. solani</i> , <i>F. keratoplasticum</i> , <i>F. petroliphilum</i>
FOSC	<i>F. oxysporum</i>
FDSC	<i>F. dimerum</i> , <i>F. delphinoides</i> , <i>F. penzigii</i> .
FIESC	<i>F. incarnatum</i> , <i>F. equiseti</i>
FFSC	<i>F. proliferatum</i> , <i>F. verticillioides</i>

Tomada de Van Diepeningen *et al.* (2014)

1.1.2.2. Morfología de *Fusarium* spp.

Las características morfológicas de las hifas del género *Fusarium* son hialinas, miden de 3 a 8 μm de diámetro, presentan un septo simple con la presencia de un poro que comunica cada célula, y cuyo paso está restringido por los cuerpos de Woronin. La ramificación de las hifas es en ángulo agudo o recto. El tamaño y los extremos de los conidios tienen valor taxonómico, ya que son estables y varían de acuerdo con la especie [39, 75]. A nivel macroscópico, las colonias de *Fusarium* spp. se caracterizan por tener aspecto algodonoso-aterciopelado y presentar, en algunos casos, pigmentos de diversos colores como rojo, amarillo o púrpura. (Fig. 1)

El micelio aéreo puede conjuntarse en cúmulos llamados sinemas, en los cuales se da la formación de estructuras reproductoras.



Figura 1. Diferencias en la morfología macroscópica de dos especies de *Fusarium* en agar dextrosa Sabouraud a los cinco días de crecimiento. Izquierda, *F. solani* (colonia vellosa, centro ligeramente elevado, de color rojo-vino y blanco en la periferia). Derecha, *F. dimerum* (colonia de aterciopeladas a vellosa, blanca, con pigmento amarillo difundido al medio).

1.1.2.2.1. Macroconidios

Los macroconidios son multicelulares, largos y presentan de 2 a 8 septos. El número de éstos puede modificarse por variaciones ambientales o del cultivo [62, 75]. La forma general también es diferencial, y varía entre cada especie. Macroconidios rectos, de forma aciculada (semejante a una aguja) y con una curvatura pronunciada a lo largo de la estructura. Finalmente están los que muestran una curvatura dorsoventral en una porción (basal o apical) de la estructura, donde las células del centro son más anchas que las de los extremos. Las células apicales tienen forma de gancho, con papilas o en forma roma, presentan cierta curvatura y son de tamaño variable. Las células basales presentan un menor grado de curvatura, y hay cuatro formas generales: forma de pie, forma de pie elongada, con una muesca notoria y una muesca ligera. El tamaño de los macroconidios de algunas especies de importancia médica (*F. solani*, *F. verticillioides*,

F. oxysporum) varía de acuerdo a la especie; existe un intervalo de entre 20-65 μm x 2-6 μm (Fig. 2).

1.1.2.2.2. Microconidios

Los microconidios, generalmente son unicelulares o con un septo, aunque algunas especies pueden presentar dos; el tamaño varía según la especie. En especies de importancia médica (*F. solani*, *F. verticillioides*, *F. oxysporum*) el tamaño es aproximadamente de 5-16 μm x 2.3-5 μm . La forma varía de acuerdo a la especie: ovalada, obovada (ancha en el ápice y de base más estrecha o trunca), piriforme (forma de pera), napiforme (forma de nabo), reniforme (forma de riñón), fusiforme (en huso), esférica y globosa. Sin embargo, en un mismo cultivo puede haber microconidios de formas diversas (Fig. 2). Especies como *F. dimerum* o *F. equiseti* no presentan microconidios [62].

Los microconidios se originan de una célula conidiógena o fiálide, y se disponen de forma solitaria, concatenada o en racimo, formando falsas cabezas, similares a las cabezas aspergílicas. El largo de las cadenas de macroconidios varía según la especie y las condiciones ambientales. (Fig. 2)

1.1.2.2.3. Clamidoconidios

Algunas especies de *Fusarium* forman clamidoconidios, los cuales son esféricos, de pared gruesa, lisa o rugosa, y con alto contenido de nutrientes y lípidos como materiales de reserva [62, 75]. La disposición es en forma solitaria, en pares, en racimos o de forma concatenada. Pueden disponerse de manera apical o intercalar en

la hifa. El tamaño es variable; en *F. oxysporum* el tamaño de los clamidoconidios es de 5 a 13 μm de diámetro. (Fig. 3)

1.1.2.2.4. Fiálides

Las células conidiógenas producen a los microconidios y a los macroconidios. Se dividen en dos tipos: monofiálides (una sola apertura de conidiación) y polifiálides (varias aperturas de conidiación). En el caso de las especies de *Fusarium*, la forma y disposición de las fiálides son caracteres que permiten la identificación de las mismas. [34, 62, 75]. Las formas varían desde monofiálides con forma de aguja hasta cilíndricas, cortas e hinchadas. La mayoría se distribuyen lateralmente en ángulo de 90°. Hay especies que forman tanto monofiálides como polifiálides. En estos casos, estas especies forman más monofiálides que polifiálides (Fig. 2).

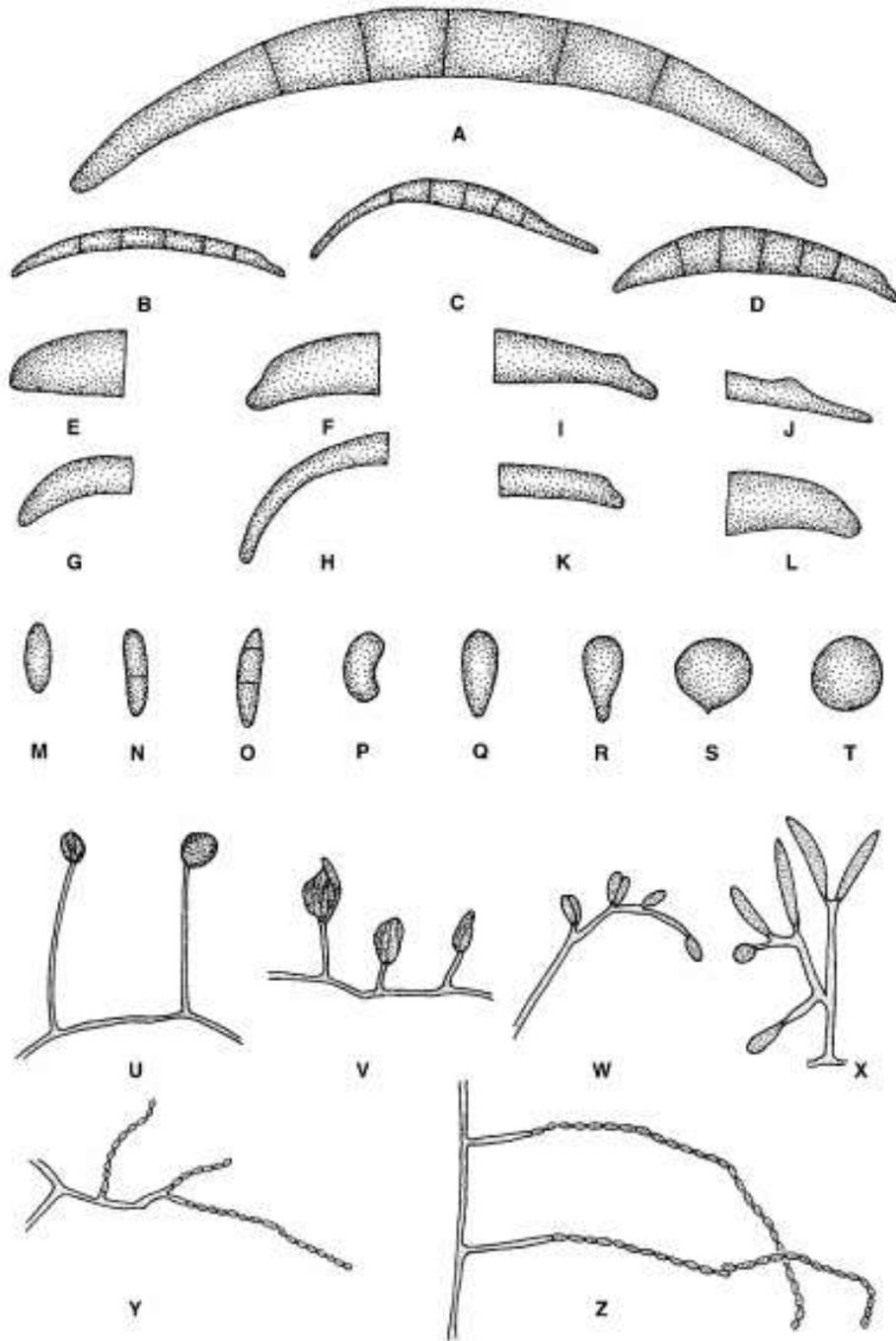


Figura 2. Morfología general de los conidios de *Fusarium* spp.; A-D: Formas generales de los macroconidios. E-H: Formas de las células apicales de macroconidios. I-L: Formas de las células basales de los macroconidios. M-T: Formas generales de los microconidios. U-X: Formas de las fiálides. Y-Z: Cadenas de microconidios. Tomada de Leslie y Sumerell (2006)

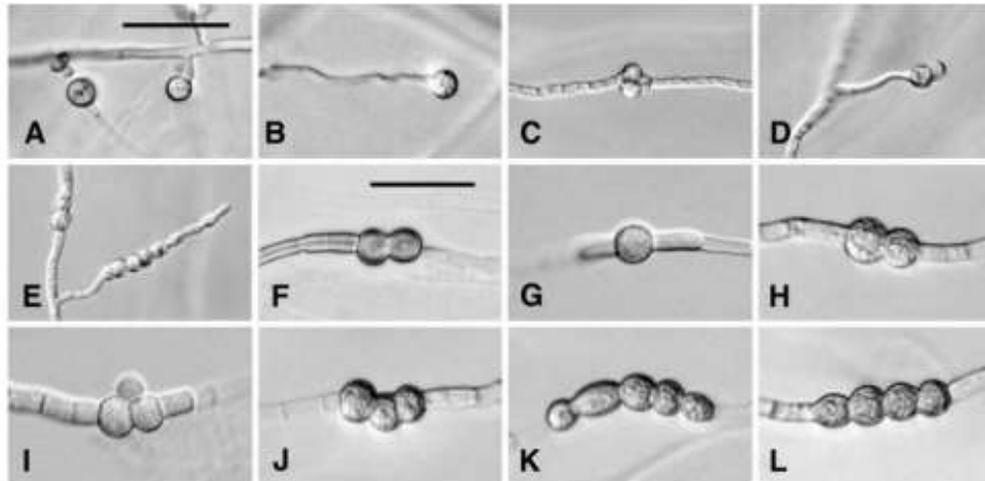


Figura 3. Forma general de clamidoconidios de distintas especies de *Fusarium*. Tomada de Leslie y Sumerell (2006).

1.1.3. Hábitat y ecología

Las especies del género *Fusarium* en general son euricoras; sin embargo algunas especies sólo han sido aisladas en ciertas partes del mundo [24]. Principalmente se distribuyen en zonas cálidas y húmedas. Son considerados como hongos degradadores y/o patógenos de gran variedad de plantas y animales. Se han aislado diversas especies de gran diversidad de ambientes y sustratos: suelos arenosos, arcillosos y calcáreos, agua dulce y agua de mar, partes de animales vivos y muertos, así como de plantas vivas y muertas y sus derivados [41, 95]. Esto puede deberse a la producción de diversas enzimas catalíticas, así como de metabolitos secundarios (como micotoxinas) que les permiten resistir condiciones adversas, antimicrobianos y otras sustancias tóxicas [62, 95].

Fusarium spp. ha sido aislado de muestras de aire, aunque también puede ser transportado por suelo. Los clamidoconidios representan en gran medida los

reservorios de *Fusarium* spp. en el suelo [95]. En el caso de las especies del complejo *F. solani*, la forma infectante en plantas es el clamidoconidio. Se ha estudiado el mecanismo de infección en plantas de chícharo y se ha observado que los exudados radiculares de ésta promueven el crecimiento dirigido de las hifas del hongo [28, 95]. Esto desencadena la invasión al sistema vascular de la planta y la muerte de la misma. Durante la infección y la muerte del hospedero, el hongo puede reproducirse, formando conidios y clamidoconidios que pueden persistir en la tierra y permanecer viables por años [62]. De igual forma puede permanecer como saprobio en los restos de materia vegetal muerta. Esto puede contribuir a su diseminación en suelos agrícolas, así como en las infecciones en animales por inoculación traumática [39, 95].

1.1.3.1. Patógeno de cultivos de importancia agrícola

En la literatura mundial, algunos autores han reportado que las especies del complejo de especies de *Fusarium solani* (FSSC) son causantes del síndrome de muerte súbita en los cultivos de soya (*Glycine max*) [47] en todo el mundo. De igual forma, algunas de estas especies afectan cultivos de chícharo común (*Pisum sativum*), frijol (*Phaseolus vulgaris*), y miembros de la familia Cucurbitaceae como la sandía (*Citrullus lanatus*), calabaza (*Cucurbita pepo*) y chayote (*Sechium edule*) [28]. En el caso del trigo (*Triticum* sp.), la enfermedad de la espiga blanca es causada, principalmente, por *F. graminearum*, *F. avenaceum* y *F. poae* [66]. En el maíz (*Zea mays*) la degradación de la raíz y las espigas está relacionada con el hongo *F. verticillioides*, transmitido a través de la tierra o de la espiga a la semilla [63]. En Papantla, Veracruz, se ha observado que *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* es la especie más común causante de la degradación de la raíz y el tallo de la vainilla (*Vainilla planifolia*) [1]. Por otra parte, en estados como

Aguascalientes, Guanajuato y Zacatecas se han asociado a diversas especies de *Fusarium* con la pudrición basal en plantíos comerciales de ajo (*Allium sativum*) [36].

1.1.3.2. Patógeno de animales no humanos

Por otra parte, las especies del género *Fusarium* son patógenas oportunistas de animales, en ocasiones se le ha considerado como un patógeno emergente en los humanos. Actualmente, en los casos de infección por *Fusarium* en otros animales se ha observado un aumento. Especialmente en Brasil, *F. solani* está estrechamente relacionado con infecciones invasivas fatales en el escorpión amarillo (*Tityus stigmurus*) [92]. En estudios sobre la patogénesis de las infecciones invasivas en las larvas de la polilla de la cera (*Galleria mellonella*) se ha observado que la virulencia de *F. solani* es mayor a temperaturas menores a 37°C [29]. Los mismos autores hacen referencia a las infecciones causadas por estos hongos en insectos del orden Lepidoptera. En criaderos de camarón kuruma (*Penaeus japonicus*) se ha observado que especies de *Fusarium* son causantes de la enfermedad de las agallas negras, que provocan además opacidad en el cuerpo de los individuos y la muerte [89].

En animales vertebrados, se han observado casos de infecciones superficiales en tortugas marinas. Desde 1997 (año en que se registró el primer caso por Cabañes *et al.* [20]) se han registrado casos de micosis superficiales causadas por *F. solani* en tortugas caguamas (*Caretta caretta*). Los mismos autores hacen referencia a casos de micosis superficiales causadas por *F. solani* en focas grises (*Halichoerus grypus*). En el 2011, Sarmiento-Cabañes *et al.* [94], en Boavista, Cabo Verde, demostraron que el mismo hongo es un patógeno mortal para los huevos de tortugas caguama, provocando

una alta tasa de mortalidad prenatal. De igual forma, este hongo se ha aislado en nidos e individuos no natos de tortuga carey (*Eretmochelys imbricata*), por lo que *F. solani* juega un papel importante como patógeno de esa especie de tortugas [76]. En el taxón de los elasmobranquios como el tiburón martillo (familia Sphyrnidae), *F. solani* causa infecciones superficiales, además de infecciones invasivas al sistema del canal lateral. Esto lleva a cambios conductuales y a la muerte de los individuos [31, 45, 87]. Además, en rayas moteadas (*Taenuria melanopsila*) el mismo hongo, además provoca ulceraciones y hemorragias que preceden a la muerte [45].

1.1.4. Factores de virulencia.

La mayoría de las especies de *Fusarium* presenta características celulares y/o moleculares intrínsecas que les otorgan la capacidad de infectar a un hospedero, las cuales le permiten tener un amplio espectro de hospederos animales y vegetales [29]. Los ensayos realizados en modelos animales sobre la virulencia con aislados clínicos y ambientales, demostraron que los aislados ambientales son igualmente virulentos. Otro hecho demostrado acerca de la virulencia fue con los aislados de *Fusarium* patógenos de plantas, los cuales son de igual forma virulentos en los humanos [28, 69, 111]. El origen de estos factores de virulencia es desconocido, pero se considera que la virulencia se dio de manera accidental. Las presiones selectivas (representadas por los mecanismos de defensa de los hospederos) fomentan la conservación de caracteres que favorecen la infección. Dichos caracteres adquiridos accidentalmente permitieron que el hongo fuera capaz de infectar hospederos distintos, lo que dio lugar a nuevas presiones que promovieron la conservación de nuevos caracteres, provocando una virulencia accidental [29].

1.1.4.1. Micotoxinas

Estas sustancias son metabolitos secundarios de bajo peso molecular y termoestables producidas por algunas especies de *Fusarium*. Estas causan alteraciones fisiológicas, principalmente en hígado y riñón [43, 67]. Los principales complejos de especies productoras de micotoxinas son el FFSC y el complejo de especies de *F. graminearum* (FGSC) [12, 63, 67]. Generalmente estas micotoxinas se encuentran en los cereales de consumo humano y animal. El tipo de micotoxina más frecuente en el género *Fusarium* son los tricotecenos, de los cuales los más comunes son la toxina T2, el nivalenol, el deoxinivalenol (DON) y las formas acetiladas de este último como el 15-acetil-DON y el 3-acetil-DON [43, 66]. Otros tipos de micotoxinas producidas por *Fusarium* spp. son la zearalenona, así como la fumosina B y las fusarinas [11, 19, 82].

La intoxicación con estos compuestos pueden tener efectos agudos y crónicos y dependen de la dosis así como de la edad del individuo, el tiempo de exposición y el tipo de micotoxina [11, 43]. Los efectos agudos se caracterizan por síntomas como vómito, diarrea, malestar general, distensión del abdomen y/o la muerte. Por otro lado, los efectos crónicos se caracterizan por inhibición de la síntesis de proteínas, desórdenes hormonales, interrupción de la respuesta inmune y la modificación de la permeabilidad del epitelio intestinal, lo cual tiene efectos carcinogénicos y puede llevar a la muerte [11, 19, 37, 43, 82]. Además, se ha observado que las micotoxinas tienen un papel relevante en la patogenia de algunas especies de *Fusarium*, pues estas sustancias alteran la respuesta inmune y pueden propiciar el daño tisular y prevalencia del hongo en el hospedero [39, 50, 67, 75, 77].

1.1.4.2. Enzimas

Las especies de *Fusarium* pueden producir enzimas catalíticas que les permiten invadir los tejidos de distintos tipos de hospederos, desde vegetales hasta animales [29]. Pueden producir cutinasas, las cuales ayudan en la penetración de la cutina en la pared vegetal, así como quitinasas, capaces de degradar la quitina del exoesqueleto de insectos [28, 71]. De igual forma producen lipasas como fosfolipasas y estearasas, las cuales son cruciales para la infección de los tejidos pues ayudan con la degradación de las membranas de las células del hospedero y lípidos residuales [55].

Finalmente, la producción de proteasas y colagenasas son un factor clave para la patogénesis del hongo en animales como el humano [39, 50, 55, 75, 79] al permitir la degradación de proteínas en aminoácidos de los tejidos del hospedero, así como de proteínas residuales de otras reacciones catalíticas [71]. Por poner un ejemplo, las gelatinasas promueven la degradación de las matrices extracelulares de las córneas, lo cual es de gran importancia durante el desarrollo de las queratomicosis por *Fusarium* spp. [110].

1.1.4.3. Formación de biopelículas

Las biopelículas son comunidades de microorganismos embebidos en una matriz extracelular compuesta principalmente de polisacáridos y proteínas, las cuales se encuentran adheridas a una superficie y le confieren a la colonia resistencia a condiciones adversas, así como la capacidad de propagarse y colonizar nuevos ambientes [53, 74, 81]. Varias especies de *Fusarium*, como *F. solani* y *F. oxysporum*, son capaces de generar estas estructuras, lo que les permite adherirse a distintas

superficies, que van desde fuentes de agua potable hasta prótesis y tanques y hábitats de acuarios [6,39,45]. Dada esta capacidad, se ha observado que los sistemas de aguas de las ciudades funcionan como reservorios de especies patógenas de *Fusarium* [6]. De igual forma, se ha visto que la formación de biopelículas es un factor clave en la patogénesis de infecciones como la queratomycosis, pues el hongo es capaz de adherirse a lentes de contacto y formar colonias que son resistentes a los líquidos limpiadores y a ciertos antifúngicos [81]. Esto permite la persistencia del hongo en la superficie contaminada [53].

1.1.4.4. Resistencia a antifúngicos

Múltiples aislados de *Fusarium* spp. presentan resistencia intrínseca a diversos antifúngicos de uso clínico y uso agrícola [4, 15, 39]. En plantas se ha observado que la resistencia a fitotoxinas forma parte del proceso infeccioso del hongo, pues éste: 1) puede degradar el compuesto, 2) puede expulsar el compuesto al exterior celular y/o 3) presenta modificaciones estructurales en el sitio blanco [28]. Los mecanismos de resistencia a antifúngicos de *Fusarium* spp. no están aún completamente comprendidos, pero se considera que tiene mecanismos homólogos a los que se han estudiado en otros hongos filamentosos como *Aspergillus* sp. o *Neurospora crassa* [4, 27, 96]. Estos mecanismos están descritos específicamente para la resistencia a azoles y a equinocandinas.

La resistencia a azoles está dada por mutaciones puntuales en el gen CYP51A que codifica para la enzima 14 α -lanosterol desmetilasa, y que pertenece a la superfamilia de genes P450. Estas sustituciones provocan que la enzima se vea modificada

estructuralmente y sea menos afín a la molécula azólica, lo cual disminuye el efecto del fármaco [15]. De igual forma, se puede dar la sobre-expresión del gen CYP51A por la inserción de transposones o repeticiones en tándem en el promotor del gen. Por otro lado, se ha visto que mutaciones en el gen que codifica en la proteína integral de membrana *Fks1* (considerada como la posible subunidad catalítica de la enzima 1,3- β -glucano sintetasa) otorgan la resistencia a equinocandinas que presenta *Fusarium* spp. [58]. Finalmente, se ha descrito que las especies de *Fusarium* poseen bombas de eflujo de las familias de dominos de unión al ATP (ABC, por sus siglas en inglés) y el facilitador mayor de transportadores [15, 28]. Estas bombas de eflujo reducen las concentraciones de fármaco y otras toxinas en el interior de la célula fúngica, evitando que tengan efectos tóxicos sobre la misma.

Las respuestas adaptativas ante antifúngicos (específicamente azoles) están mediadas por factores de transcripción, como los homólogos de CCG-8, que desencadenan la sobreexpresión de genes relacionados con bombas de eflujo y enzimas como la 14 α -lanosterol desmetilasa [96].

Actualmente se considera que uno de los factores más relevantes en la resistencia de *Fusarium* y otros hongos oportunistas a los triazoles es el uso de pesticidas azólicos como el tetraconazol en campos de cultivo [4, 15]. Su uso puede ser considerado una presión selectiva que elimina cepas no resistentes, permitiendo la proliferación de cepas con resistencia cruzada a antifúngicos de uso clínico [15].

1.2. Formas clínicas de las infecciones por *Fusarium* spp.

Fusarium spp. pueden causar desde infecciones superficiales hasta fungemias [77, 91, 103]. El estado inmune es un factor que determina la forma clínica de la infección, pues en las superficiales y subcutáneas se pueden presentar, tanto en pacientes inmunocompetentes como en inmunocomprometidos, mientras que el requisito en las formas profundas es que el paciente esté inmunocomprometido [39]. En el cuadro 2 se resume las principales formas clínicas.

Cuadro 2. Formas clínicas de las infecciones causadas por *Fusarium* spp.

Forma clínica	Padecimiento	Órganos/tejidos afectados
Superficial	Queratitis	Ojos (córnea)
	Onicomycosis	Uñas
	Celulitis, intertrigo	Piel (Epidermis)
Subcutánea	Osteomielitis	Huesos
	Hialohifomicosis	Dermis y tejido subcutáneo
	Eumicetoma	Piel y órganos subyacentes
Profunda	Fungemia	Sangre
	Neumonía	Pulmones
	Endoftalmitis	Ojo

1.2.1. Superficiales

Los casos de onicomycosis causadas por *Fusarium* spp. se distinguen porque los pacientes manifiestan leuconiquia superficial o leuconiquia subungueal distal y proximal,

incluso distrofia total de la uña [22, 72]. Existen pocos reportes de melanoniquia por *F. solani* [50]; esta infección generalmente va acompañada de inflamación periungueal (paroniquia). Otras afecciones cutáneas por *Fusarium* spp. son celulitis, placas infiltradas con eritema intenso y dermatomicosis, especialmente de localización en los pies, clínicamente indistinguible de la tiña de los pies; también se presenta afección de pliegues generando intertrigo interdigital [67, 104].

1.2.2. Oculares

1.2.2.1. Queratitis micótica

La córnea humana es la capa del ojo que funge como la lente del sistema ocular y está integrado por tres capas: el epitelio, estroma y el endotelio corneal. El epitelio está conformado de células con microvellosidades que permiten la retención de lágrimas; el estroma corneal es la zona cristalina constituido de fibras de colágeno distribuidas de manera regular y homogénea. Debajo de ésta se encuentra el endotelio corneal que tapiza la cara interna de la córnea. Está formado por células hexagonales que fungen como una membrana semipermeable que evita que el humor acuoso del ojo se infiltre en el estroma [48].

Las queratomicosis causadas por *Fusarium* spp. son infecciones corneales indistinguibles de las queratitis bacterianas. Estas infecciones causan disminución de la agudeza visual, la aparición de una úlcera corneal con infiltrados estromales de color blanco grisáceo con aspecto lanoso, de bordes elevados, además de estar acompañadas de lesiones satélite con márgenes de aspecto plumoso [40, 93]. Estas ulceraciones van acompañadas de inflamación, enrojecimiento y dolor en el ojo

infectado. En los casos avanzados puede haber la presencia de hipopion y un anillo inmune blanquecino alrededor del iris, abscesos corneales y supuración de la zona afectada, así como la perforación de la córnea [10, 42] (Fig. 4).

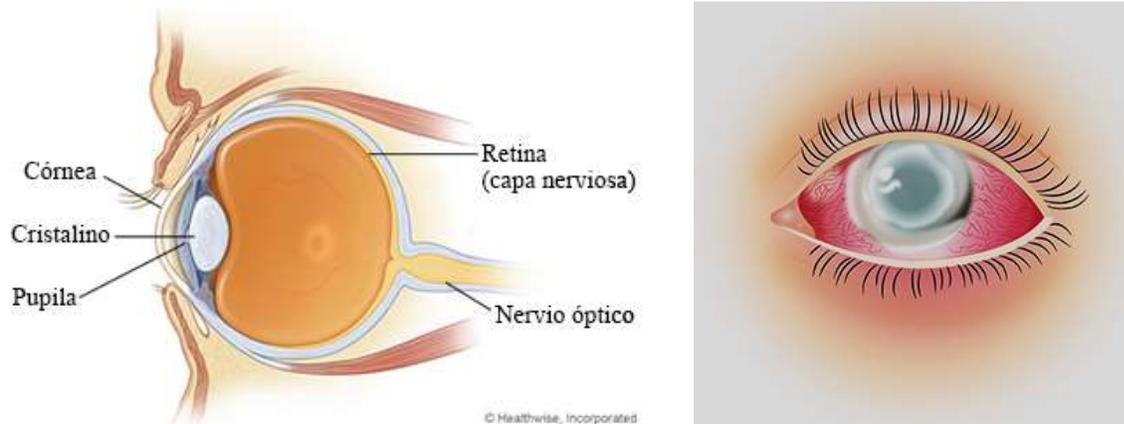


Figura 4. a) Esquema que representa algunas partes del ojo. b) Esquema que ejemplifica una úlcera corneal. Tomada de <https://www.pinterest.com.mx/pin/489133209519568246>.

1.2.2.2. Endoftalmitis

La endoftalmitis es otra de las formas clínicas causadas por las especies de *Fusarium* caracterizada por la inflamación del interior del ojo producida por el proceso infeccioso y puede ser adquirida de manera exógena o endógena, como el agravamiento de una queratitis o por infección diseminada, respectivamente. Es una infección grave que puede llevar a ceguera irreversible [8, 77, 98].

1.2.3. Subcutáneas

Los eumicetomas son infecciones crónicas y localizadas a la dermis media o profunda y tejido subcutáneo. Las manifestaciones clínicas son: aumento de volumen, endurecimiento del área afectada y trayectos fistulosos por los que drenan exudados

serohemáticos con la estructura parásita en forma de “granos” [17, 21]. Además, *Fusarium* spp. puede causar hialohifomicosis en pacientes inmunocomprometidos, caracterizadas por la formación de nódulos, ulceraciones y granulomas en la piel [26, 39, 56, 59, 86].

1.2.4. Profundas

La forma más relevante de éstas es la fungemia, ya que el hongo puede diseminarse y afectar a distintos órganos. Las manifestaciones clínicas generales de la infección diseminada por *Fusarium* spp. son inespecíficas y se caracterizan por fiebre, mialgias y lesiones anulares necróticas en la piel, las cuales generalmente indican infección diseminada [49]. Las fungemias por *Fusarium* spp. pueden desencadenar infección y manifestarse de acuerdo al órgano afectado como rinocerebral, abscesos en múltiples órganos, neumonía, artritis, sinusitis y peritonitis [39, 86]. Muchas de estas formas clínicas podrían tener un desenlace fatal, con la muerte del paciente.

1.2.5. Factores de riesgo

Para que *Fusarium* spp. puedan generar una infección es necesario que el hospedero presente ciertos factores que lo predispongan a la colonización por el hongo. Estos factores son en su mayoría intrínsecos al hospedero, aunque también pueden ser factores extrínsecos y en varios casos se relacionan entre sí (Cuadro. 3).

Cuadro 3. Relación entre los principales factores de riesgo en las infecciones por *Fusarium* y las formas clínicas.

Factor de riesgo	Forma clínica/padecimiento
Inmunosupresión	Profundas (fungemia)
	Subcutáneas (nódulos micóticos)
	Superficiales (lesiones necróticas en piel)
Trauma	Superficiales (queratitis)
	Subcutáneas (eumicetoma)
	Profundas (endofthalmitis)
Lentes de contacto	Queratitis
	Endofthalmitis
Cirugías/trasplantes	Queratitis, endofthalmitis
	Hialohifomicosis, osteomielitis
	Fungemia
Infecciones crónicas por <i>Fusarium</i> spp.	Fungemia

El estado inmune del paciente es determinante, por lo que la inmunosupresión es uno de los factores de riesgo más relevantes para el desarrollo de infecciones diseminadas. La inmunosupresión puede estar causada por enfermedades hemato-oncológicas como leucemia, deficiencia de células inmunes T, neutropenia, uso de corticosteroides o inmunosupresores y diabetes [57, 73, 77, 91].

Las heridas con material contaminado representan una vía de entrada para *Fusarium* spp., por lo que son un factor de riesgo relevante en las infecciones en pacientes

inmunocompetentes, pues pueden generar infecciones oculares, así como eumicetomas [21, 102, 105]. De igual forma, lesiones severas en la piel como quemaduras fungen como una vía de entrada para el desarrollo de fusariosis superficiales y diseminadas [39, 50, 67, 77]. Otros factores serían posterior a cirugías oftálmicas o trasplantes como de médula ósea o de órganos sólidos, como de hígado o intestino [8, 49, 56, 59]. En ambos casos, se trata de un trauma quirúrgico que propicia la infecciones como queratitis de origen endógeno y exógeno [42, 52]. En caso de los trasplantes, se le suma la inmunosupresión causada por el rechazo del injerto o por el uso de inmunosupresores [77, 90].

Por otro lado, el uso prolongado de lentes de contacto es un factor de riesgo importante, debido al material para la elaboración de los lentes como poli-metil-metacrilato, el cual es utilizado comúnmente; otros serían el poliéster, polietileno, poliamidos (*nylon*) (Fig. 5). Esto ha contribuido al incremento en el número de casos de infecciones oculares por *Fusarium* spp. a nivel mundial, por la capacidad de producir biopelículas [52, 74, 103].



Figura 5. Lentes de contacto de diversos materiales

También el uso prolongado de catéteres puede generar infecciones por *Fusarium* spp. [39, 46].

Finalmente, las infecciones crónicas por especies de *Fusarium*, como la onicomicosis crónicas, pueden fungir como una vía de entrada para infecciones diseminadas en pacientes con diversos factores de inmunosupresión [18, 22, 98].

1.3. Epidemiología

1.3.1. Infecciones superficiales

En las infecciones superficiales por *Fusarium* spp., la onicomicosis es la segunda infección más frecuente a nivel global. En la literatura existen publicaciones de Suiza, Italia, Colombia y Tailandia sobre la frecuencia de infección de la uña por hongos no dermatofitos que va del 9-50 % [22, 72, 103, 104]. En general se estima que la onicomicosis por *Fusarium* spp. se presenta entre el 1 y el 7.5 % de los casos. Sin embargo existen diferencias regionales, en Europa la frecuencia varía del 1 al 6 % de los casos, mientras que en Asia del 1.4 al 8 %; finalmente, en América la frecuencia va desde 3.7 al 7.8 %, aunque en Colombia se han registrado valores de hasta 13.8 % [72, 104]. La especie causal más común de onicomicosis por *Fusarium* ha sido *F. oxysporum*; aunque para algunos autores como Chabasse *et al.* [22] indicaron que *F. solani* fue más común en onicomicosis, mientras que *F. oxysporum* en casos de dermatomicosis de los pies. Finalmente, se estima que la frecuencia de *F. oxysporum* en casos de onicomicosis y dermatomicosis de los pies fue del 4 al 56 %; mientras que por *F. solani* del 31 al 82 % [103]. Existen además diferencias regionales en la frecuencia de los agentes etiológicos que causan onicomicosis, en Europa son más frecuentes las onicomicosis por *F. oxysporum* (35-56 %), a diferencia de Asia y América que fue por *F. solani* (65-76 %) [104].

1.3.2. Queratomicosis

La queratitis micótica es el padecimiento más común causado por *Fusarium* spp. a nivel mundial, seguido de *Aspergillus* y *Candida* [9, 10, 23, 39, 42, 51, 52].

En las últimas décadas, el uso de lentes de contacto ha sido un factor de riesgo muy importante en el desarrollo de este padecimiento. En el periodo comprendido entre los años 2004 y 2007 se observó un aumento en los casos de queratitis por *Fusarium* spp. en usuarios de lentes de contacto en Estados Unidos de América (EUA) y en países como Hong Kong y Singapur [6, 23, 53, 60, 74]. La gran mayoría de los casos fueron debido al uso de lentes de contacto suaves tratados con solución limpiadora ReNu con MoistureLoc, la cual se encontraba contaminada con *Fusarium* spp. De acuerdo con el estudio de Keay *et al.* (2011) [60] en EUA, el 60.5 % de los casos de queratitis en usuarios de lentes de contacto fueron causados por especies de *Fusarium* durante el periodo 2004-2006. Para finales de junio de 2006, el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés), con sede en Georgia, EUA. había recibido un total de 318 casos de queratitis por *Fusarium* spp. relacionados al uso del limpiador contaminado [23].

Este hongo es el principal causante de queratitis infecciosa en regiones tropicales y subtropicales [23, 52, 79]. En la India el 44 % de los casos de queratomicosis está causado por *Fusarium* spp. y *Aspergillus* spp., y en zonas rurales se considera que afecta principalmente a los agricultores, aunque no hay datos de la prevalencia, ni de la incidencia [79, 103].

1.3.2.1. Queratitis por *Fusarium* en México

En México, las queratitis infecciosas son causadas por hongos en el 7-33 % de los casos, y de éstos, el 37.1-50 % es causado por *Fusarium* spp. Estos hallazgos corresponden a revisiones realizadas en distintos centros de salud, en intervalos que van de 1981 al 2014 [30, 51, 79, 84, 105]. Este tipo de infecciones suele afectar a personas en edades de 20 a 40 años, siendo el principal agente etiológico *F. solani*, con frecuencias de 26.5-83.6 % de los casos, seguido de *F. dimerum* en el 4.6 %-9.9 % de los casos [79, 84, 105]. Vanzzini-Zago *et al.* (2010) [105] reportaron que 32.8 % de 76 pacientes requirieron trasplante de córnea y al 23.6 % se les realizó evisceración del ojo.

1.3.3. Infecciones diseminadas

Las infecciones diseminadas por *Fusarium* spp. son comunes en pacientes inmunocomprometidos, especialmente en pacientes con neutropenia y/o enfermedades hemato-oncológicas (leucemia), siendo el segundo hongo más frecuente en casos de infección diseminada después de *Aspergillus* [46, 56, 86, 91]. En EUA, de 1975 a 1995 la incidencia en pacientes con leucemia aumentó de 0.5 a 3.8 casos por año, mientras que en países como Italia la incidencia (0.06 %) permaneció estable en el mismo periodo [39]. Actualmente se considera que el 56-90 % de los pacientes con fusariosis diseminada presentan antecedentes de enfermedades hemato-oncológicas [46, 56, 77]. Sin embargo, en trabajos como el de Muhammed *et al.* (2013) [73] se ha visto que la prevalencia ha sido más baja (19.2-62 %). Por otro lado, otro de los factores relacionados fue en aquellos pacientes que han sido sometidos a trasplantes (23.1-34

%). Algunos autores han reportado la frecuencia en pacientes con quemaduras severas (2-25 %) y pacientes con diabetes melitus (10.3 %) [73, 91].

1.3.4. Principales agentes etiológicos

El principal agente etiológico causante de fusariosis diseminada y de queratitis ha sido *F. solani*, con frecuencias que van del 50 al 75 %, y del 75 al 82 %, respectivamente; seguido por *F. oxysporum* (en fusariosis diseminada) en el 2.27 al 21 % y por *F. dimerum* (queratitis) en el 9 al 12% de los casos [46, 56, 73, 91, 103].

1.3.5. Pronóstico

El pronóstico del paciente con infección por *Fusarium* spp. dependerá de las diferentes formas clínicas, de los factores de riesgo y del estado inmune. En particular las queratitis por *Fusarium* spp. tienen un mal pronóstico visual, ya que del 27 al 34 % de los pacientes han requerido queratoplastia, llegando al 100 % donde se observa resistencia a antifúngicos, especialmente los casos causados por *F. solani* [10, 42]. Las tasas de mortalidad tienden a ser altas. En general, los pacientes con fusariosis diseminada presentan tasas de mortalidad 30-80 %, que varían de los 90 a los 120 días después del diagnóstico [46, 56, 77, 86]. En pacientes con enfermedades hemato-oncológicas se han calculado valores hasta 70-75 %, mientras que las de pacientes con trasplante de órgano sólido la mortalidad es de 30 %, incrementándose hasta 70 % si se administran antifúngicos como anfotericina B en bajas concentraciones [56, 77].

En el cuadro 4 se muestra una revisión de diversos reportes obre infecciones por *Fusarium* spp., el tratamiento establecido y la respuesta obtenida.

Cuadro 4. Revisión de la literatura sobre diversas infecciones causadas por *Fusarium* spp. de 2010 a 2017

Género/ Edad (años)	Enfermedad subyacente/ Factor de riesgo	Especie	Forma clínica	Tratamiento	Respuesta	Cura	Autores
Hombre/38	LMA	<i>Fusarium</i> sp.	Fungemia, paroniquia	FLZ	indiferente	-	Bourgeois <i>et al.</i> , 2010 [18]
				AMB+VRZ	Favorable		
				VRZ	Favorable		
Hombre/58	Trasplante de hígado	<i>Fusarium</i> sp.	Hialohifomicosis ,celulitis, onicomicosis	VRZ	Desfavorable	+	Halpern <i>et al.</i> , 2010 [49].
				AMB lip	Favorable		
Hombre/59	DM, onicomicosis crónica, metil prednisona	<i>Fusarium</i> sp.	EES	FLZ	Indiferente	+	Tamez-Peña <i>et al.</i> , 2010 [98].
				FLZ+NTM	~ Favorable		
				FLZ+NTM+ AMB	Favorable		
Mujer/52	LLA	<i>F. solani</i>	Fungemia	CSF	indiferente	+	Labois <i>et al.</i> , 2011 [61].
				CSF+VRZ	Favorable		
				VRZ	Favorable		
Hombre/52	Lentes de contacto	<i>F. solani</i>	Queratitis, endofthalmitis	NTM+AMB, FLZ	Indiferente	-	Edelstein <i>et al.</i> , 2012 [42].
				VRZ+PSZ	Indiferente		
Hombre/18	LLA	<i>F. solani</i>	Fungemia, artritis	MCF	indiferente	-	Kawashima <i>et al.</i> , 2012 [59].
				VRZ+AMB	Favorable		
				VRZ	Favorable		
Hombre/14	Trauma	<i>F. solani</i>	Queratitis	VRZ+NTM+ KTZ	Indiferente	+	Taylan- Sekeroglu <i>et al.</i> , 2012 [99]
				VRZ+AMB+ CSF	~ Favorable		
				VRZ iny	Favorable		

Cuadro 4. Continuación.

Género/ Edad (años)	Enfermedad subyacente/ Factor de riesgo	Especie	Forma clínica	Tratamiento	Respuesta	Cura	Autores
Hombre/29	¿?	<i>F. subglutinans</i>	Eumicetoma	ITZ	Favorable	+	Campos-Macías <i>et al.</i> , 2013 [21].
Hombre/21	LBA	<i>F. solani</i>	Fungemia	AMB lip	Indiferente	-	Pereira <i>et al.</i> , 2013 [83].
Mujer/68	LMA	<i>Fusarium sp.</i>	Fungemia	AMB lip+VRZ	Favorable	+	Perini <i>et al.</i> , 2013 [85].
			EES	VRZ	Indiferente	- (EN)	
Hombre/?	Trauma	<i>F. temperatum</i>	Queratitis	NTM+ITZ	Favorable	+	Al-Hatmi <i>et al.</i> , 2014 [2].
Hombre/20	LLA	<i>Fusarium sp.</i>	Fungemia	FLZ + MCF	Indiferente	-	Liu <i>et al.</i> , 2014 [64].
				CSF	Indiferente		
Mujer/33	¿?	<i>Fusarium sp.</i>	Absceso intracraneal	TBF+VRZ+	Favorable	+	Peterson <i>et al.</i> , 2014 [86].
				AMB	Favorable		
				VRZ	Indiferente		
Mujer/60	Cirugía ocular	<i>Fusarium sp.</i>	Endoftalmitis	VRZ iny + VRZ	Favorable	+	Alves da Costa Pertuset y Logroño, 2015 [8].
				VRZ	Indiferente		
Mujer/62	Lentes de contacto	<i>F. solani</i>	Queratitis	AMB lip+CSF	Indiferente	-	Antequera <i>et al.</i> , 2015 [10].
				AMB iny+	Indiferente		
				VRZ iny			

Cuadro 4. Continuación.

Género/ Edad (años)	Enfermedad subyacente/ Factor de riesgo	Especie	Forma clínica	Tratamiento	Respuesta	Cura	Autores
Mujer/49	Trasplante multivisceral, corticosteroides	<i>F. solani</i>	Diseminada	AMB lip	Indiferente	-	Kandeel <i>et al.</i> , 2015 [56].
				AMB+VRZ+	~ Favorable		
				AMB lip	~ Favorable		
				AMB lip+VRZ	~ Favorable		
				MCF+VRZ+	~ Favorable		
Mujer/81	Trauma	<i>F. penzigii</i>	Queratitis	VRZ	Favorable	+	do Carmo <i>et al.</i> , 2016 [40].
Hombre/46	¿?	<i>F. solani</i>	Queratitis	VRZ	Indiferente	-	Sara <i>et al.</i> , 2016 [93].
				VRZ+NTM+ AMB	Indiferente		
Mujer/16	Lentes de contacto	<i>Fusarium</i> sp.	Queratitis	NTM	Favorable	+	Amadasi <i>et al.</i> , 2017 [9].
Mujer/65	DM, cirrosis	<i>Fusarium</i> sp.	Sinusitis infecciosa, abceso cerebral	AMB	Indiferente	-	Chen <i>et al.</i> , 2017 [26].
				AMB lip	~ Favorable		

Abreviaciones:

AMB=Anfotericina B; **AMB lip**=AMB liposomal; **AMB iny**= AMB (inyección intravítrea); **NTM**=Natamicina **VRZ**=Voriconazol; **VRZ iny**= VRZ (inyección intravítrea); **PSZ**=Posaconazol; **ITZ**=Itraconazol; **FLZ**=Fluconazol; **KTZ**=Ketoconazol; **CSF**=Caspofungina; **MCF**=Micafungina; **TBF**=Terbinafina; **LLA**=Leucemia linfoblástica aguda; **LMA**=Leucemia mieloide aguda; **LBA**=Leucemia bifenotípica aguda **EES**=Endofthalmitis endógena secundaria; **DM**=Diabetes melitus

Simbología: **+** = Cura; **-** = Muerte; **- (*)** =Muerte no debida a infección; **- (EN)** = Eucleación ocular; **~** = Ligeramente

Los tratamientos desfavorables fueron los que causaron nefrotoxicidad o hepatotoxicidad.

1.4. Tratamiento de las infecciones por *Fusarium* spp.

Aun no hay guías terapéuticas específicas para el tratamiento de las infecciones por *Fusarium* spp. Algunos autores han planteado el iniciar un tratamiento de acuerdo a la forma clínica de la infección y a la especie identificada [3, 4, 5]. Las especies de este

género son resistentes al triazol de primera generación como fluconazol (FLZ) y en general frente a las equinocandinas, pues en estudios *in vitro* se ha visto que los valores de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) han sido muy altas contra estos hongos [5, 46, 61, 99].

1.4.1. Infecciones superficiales

En los casos de infección en piel y uñas se han empleado por vía tópica la preparación de fórmulas magistrales utilizando los principios activos de voriconazol (VRZ), posaconazol (PSZ), Itraconazol (ITZ), así como tratamientos tópicos con terbinafina (TBF), en asociación con terapias sistémicas en pulsos con otros triazoles diferentes a FLZ [3, 50]. En casos de onicomycosis, se emplea la combinación de queratolíticos (urea) para la avulsión química de la uña y mejorar la penetración de los fármacos antifúngicos en presentación laca (amorolfina, ciclopiroxolamina) [3, 22].

1.4.2. Infecciones oculares

En los casos de queratitis por *Fusarium* spp. los principales antifúngicos empleados son natamicina (NTM), anfotericina B (AMB) y VRZ en fórmulas magistrales [3]. Sin embargo la NTM funciona mejor en casos incipientes de queratitis, pues al ser de uso exclusivamente tópico pierde su efectividad en estados avanzados de queratitis o endoftalmitis [80]. Sin embargo, la AMB llega a ser irritante el epitelio ocular [10], por lo que limita su uso. En el caso de VRZ se tiene poca experiencia, aunque se ha indicado en aplicación tópica en combinación con tratamiento sistémico. Algunos autores han descrito una buena actividad, ya que evita que la infección se disemine y se agrave a endoftalmitis [8, 40, 86]. De igual forma, se pueden aplicar inyecciones intravítreas de

VRZ o AMB en el ojo afectado, con buena respuesta al tratamiento [8]. Estos mismos autores mencionan el uso de PSZ tópico y de administración sistémica con buenos resultados en algunos casos, a pesar de que presenta actividad *in vitro* variable. Desafortunadamente, muchas veces los tratamientos incluyen procedimientos quirúrgicos como la debridación de la córnea, con la finalidad mejorar la penetración del fármaco, por lo que el pronóstico visual es malo y en los pacientes con mala respuesta al tratamiento se decide la enucleación del ojo [8, 9, 10, 93].

1.4.3. Fusariosis subcutáneas y diseminadas

Finalmente, para el tratamiento de infecciones subcutáneas y/o diseminadas los antifúngicos considerados más adecuados para limitar la infección son AMB y VRZ, con resultados variables [73], debido a que presentan buena actividad contra varias especies de *Fusarium*, siendo AMB la que tiene los valores de CMI más bajos (0.025-4 µg/mL) [42, 46]. Sin embargo, la AMB, es nefrotóxica [80], por lo cual se emplean formas menos tóxica de ésta, como la AMB liposomal. A pesar de ello, en varios casos se prefiere el uso de VRZ, especialmente en los que involucran pacientes inmunocomprometidos, que a pesar de sus valores de CMI altas (2-8 µg/mL) han tenido buena respuesta con este fármaco [42, 46]. Al comparar la respuesta observada a la administración de AMB contra VRZ en los pacientes con infección por *Fusarium*, la mejoría fue del 32-46 % y del 45 % de los casos, respectivamente [3, 46, 77]. Sin embargo, la tasa de supervivencia en los pacientes que recibieron VRZ fue del 60 %, mientras que con AMB en su forma liposomal fue del 28-53 % [4]. Estos resultados acompañados de tratamientos alternativos o de apoyo como la resolución de la

neutropenia en pacientes inmunocomprometidos con factores estimulantes de colonias de granulocitos-macrófagos, así como la remoción quirúrgica del tejido infectado [56].

1.4.4. Mecanismos de acción de los antifúngicos

Los antifúngicos actúan interrumpiendo alguna ruta metabólica específica de la célula fúngica, teniendo un efecto fungicida o fungistático sobre la misma [68]. En el cuadro 5 se resumen los mecanismo de acción de los tipos de antifúngicos más usados actualmente.

Cuadro 5. Mecanismos de acción de los principales antifúngicos de uso clínico.

	Polienos ¹	Triazoles ²	Equinocandinas ³	Amilaminas y morfolinas ¹	Otros ¹
Procedencia	Producidos por <i>Streptomyces</i> spp.	Sintéticos	Neumocandinas de ascomicetos como <i>Lophium arboricola</i>	Sintéticos	Sintéticos
Sitio blanco	Membrana celular	Membrana celular	Pared celular	Membrana celular	Varios
Mecanismo de acción	<ul style="list-style-type: none"> ➢ Unión a ergosterol de membrana celular. ➢ Formación de poros. ➢ Aumento de permeabilidad de la membrana y filtración de citoplasma. 	<ul style="list-style-type: none"> ➢ Unión a la enzima P-450 desmetilasa. ➢ Inhibición de síntesis de ergosterol. ➢ Acumulación tóxica de lanosterol y otros esteroides. ➢ Formación de membrana celular defectuosa. 	<ul style="list-style-type: none"> ➢ Unión al complejo β-(1,3)-glucano sintasa. ➢ Inhibición de la síntesis de β-(1,3) glucanos. ➢ Formación de pared celular defectuosa. 	<ul style="list-style-type: none"> ➢ Unión a la enzima escualeno epoxidasa (amilaminas). ➢ Unión a esterol reductasas e isomerasas (morfolinas). ➢ Inhibición de síntesis de ergosterol. 	Inhibición de enzimas como quitinasas, topoisomerasas, ATPasas, así como de factores de elongación y síntesis de proteínas.
Ejemplos	Anfotericina B Natamicina Nistatina	Voriconazol Itraconazol Fluconazol	Caspofungina Anidulafungina Micafungina	Terbinafina Amorolfina	5-Fluorocitosina Nikomicinas Sordarinas
Referencias	¹ Mazu <i>et al.</i> , 2017 [68]; ² Berger <i>et al.</i> , 2017 [15]; ³ Patil y Majumdar, 2017 [80].				

2. Justificación

En México, el número de infecciones oculares por *Fusarium* spp. ha incrementado en la última década. Las complicaciones observadas en las queratitis por *Fusarium* spp. y la resistencia mostrada a diversos antifúngicos por las especies de este género ha propiciado que se presenten fallas en el tratamiento de los pacientes. Algunos autores han observado que la resistencia a ciertos antifúngicos es distinta y dependiente de la especie. Ante esta evidencia el médico clínico se enfrenta a un desafío para establecer un tratamiento específico y dirigido a los pacientes que cursan con infecciones por *Fusarium* spp., ya que el número de antifúngicos disponibles en las unidades hospitalarias es escaso y la falta de pruebas útiles para determinar la sensibilidad antifúngica de las especies y puntos de corte limita la conducta del médico para iniciar un tratamiento.

Por tanto es fundamental establecer patrones de sensibilidad a antifúngicos como medida importante para llevar a cabo tratamientos adecuados contra las infecciones por *Fusarium* spp. De igual manera, estos patrones de sensibilidad tienen relevancia epidemiológica y terapéutica, pues son útiles para detectar el surgimiento de cepas resistentes a antifúngicos y redirigir un tratamiento.

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

- Identificar los aislados de *Fusarium* spp. obtenidos de pacientes con infección ocular y determinar su sensibilidad *in vitro* a seis antifúngicos.

3.2. Objetivos particulares

- Identificar por características fenotípicas los aislados clínicos de *Fusarium* spp. y su frecuencia.
- Conocer la concentración mínima inhibitoria de itraconazol, fluconazol, voriconazol, posaconazol, anfotericina B y caspofungina frente a los aislados de *Fusarium* spp.
- Determinar la concentración mínima fungicida de los antifúngicos sobre los aislados de *Fusarium* spp.

4. Material y métodos

Este es un estudio transversal, observacional, realizado en aislados de *Fusarium* spp obtenidos de pacientes con datos de infección ocular atendidos en el Hospital de la Asociación para Evitar la Ceguera en México.

4.1 Purificación de aislados clínicos

Todos los aislados fueron resembrados en placas con agar dextrosa Sabouraud (ADS). Las placas se incubaron a 28°C por 5 días. De cada uno de los aislados crecidos se realizaron cultivos monospóricos. Esto se llevó a cabo preparando una suspensión de conidios y/o fragmentos de hifas en 1 mL de solución salina al 0.9 %; la suspensión del inóculo fue agitada y homogenizada por diez segundos. De la suspensión se tomaron 2 µL, los cuales fueron inoculados en el centro de una placa con ADS y distribuidos en toda la superficie por estría cerrada. Las placas se incubaron a 28°C por 48 horas. El pequeño crecimiento colonial detectado fue tomado con una aguja hipodérmica estéril y resembrado en agar papa dextrosa (APD). A partir del crecimiento de las colonias purificadas, de cada uno de los aislados se realizaron resiembras en APD, de las cuales unas se conservaron a 5°C y otras se conservaron en viales con solución salina al 0.9%.

4.2. Estudio morfológico e identificación de los aislados

La identificación de las especies de *Fusarium* se basó en las claves dicotómicas de identificación de De Hoog *et al.* (2000) [34] y de Leslie y Summerell (2006) [62]. Cada uno de los aislados se resembraron en ADS, APD y agar extracto de malta (AEM) para valorar las características morfológicas macroscópicas y microscópicas. En la

identificación macroscópica se evaluaron diferentes parámetros como: 1) el tiempo de crecimiento (diámetro alcanzado en cinco días); 2) aspecto de la colonia (algodonoso, velloso, aterciopelado o membranoso); 3) superficie (lisa, con elevación central, plegada, radiada); 4) presencia o ausencia de exudados sobre la colonia; 5) margen (regular o irregular); 6) color de la colonia (blanco o crema); 7) producción de pigmento (pigmentación rojo vino, marrón, amarilla, púrpura, anaranjada o sin pigmentación) en el anverso, reverso o difundido al medio.

Para la identificación microscópica se prepararon microcultivos de cada uno de los aislados, para lo cual se utilizaron placas con AEM, de las cuales se cortó un cuadro de agar de aproximadamente 1cm^2 y se colocó en el centro de la placa. Posteriormente se inocularon cada una de las aristas del cuadro con porciones de micelio tomadas con una aguja de disección; el cuadro de agar inoculado se cubrió con un cubreobjetos estéril. Las placas fueron incubadas a 28°C por siete días, con revisiones cada tercer día. Cada uno de los cubreobjetos fue retirado con pinzas de disección estériles y se colocaron sobre un portaobjetos, adicionando una gota de azul de algodón. Los microcultivos se observaron al microscopio y se evaluaron las siguientes características: presencia o ausencia de macroconidios, microconidios y clamidoconidios; el tipo, forma, tamaño y disposición de las fiálides. En el caso de los macroconidios se describió el número de septos, tamaño, la curvatura, la forma y tamaño. Con respecto a los microconidios se determinó la presencia y número de septos, la forma y el tamaño. En el caso de presentar clamidoconidios se describió el tamaño, forma, la superficie y el grosor de la pared.

4.3. Prueba de sensibilidad a antifúngicos

La prueba de sensibilidad a antifúngicos se realizó con base en el método de microdilución en caldo descrito en el documento M38-A2 del CLSI (2008). Se prepararon microdiluciones seriadas de seis antifúngicos: anfotericina B (AMB), voriconazol (VRZ), posaconazol (PSZ), itraconazol (ITZ), fluconazol (FLZ) y caspofungina (CSF), para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima fungicida (CMF) de cada antifúngico sobre cada uno de los aislados.

4.3.1. Preparación de soluciones madre de los antifúngicos

Para la preparación se emplearon dos solventes: agua ultrapura Milli-Q para los antifúngicos hidrosolubles (CSF y FLZ) y dimetilsulfóxido (DMSO) para los antifúngicos no solubles en agua (AMB, VRZ, ITZ y PSZ). Las soluciones se prepararon pesando la cantidad necesaria del antifúngico, de tal forma que en 10 mL de agua o DMSO se tuviera la concentración más alta a ensayar. Las soluciones madre fueron esterilizadas a través unidades filtro de 0.02 μm , se distribuyeron en alícuotas de 500 μL y se almacenaron en congelación a -20°C para su posterior uso. Las diluciones seriadas a partir de la solución madre se realizaron con caldo RPMI 1640 para los antifúngicos hidrosolubles y DMSO para los no solubles en agua (Cuadro 6). Posteriormente las diluciones finales fueron 1:5 y 1:50 para antifúngicos hidrosolubles y no solubles, respectivamente, en tubos de ensaye con caldo RPMI.

4.3.2. Preparación de las placas

De cada una de las diluciones se tomaron 100 μ L y se depositaron en los pozos de las columnas 1 (mayor concentración) a la 10 (menor concentración). Las columnas 11 y 12 correspondieron al control de crecimiento (CC) y control de esterilidad (CE), respectivamente. Para la columna 11, en el caso de los antifúngicos hidrosolubles, se llenaron con 100 μ L de caldo RPMI y para el caso de los no solubles, con 100 μ L de caldo RPMI con DMSO al 2 %. La columna 12 se llenó con 100 μ L de medio RPMI. Las placas de 96 pozos se conservaron a -20°C para su posterior uso.

Cuadro 6. Diluciones seriadas de los antifúngicos hidrosolubles e insolubles en agua (CLSI,2008)

Antifúngicos hidrosolubles						
Paso	Concentración (µg/mL)	Fuente	Volumen (mL)	Medio + (mL)	= Concentración intermedia (µg/mL)	= Concentración final a 1:10 (µg/mL)
1	5120	Stock	1 mL	7	640	64
2	640	Paso 1	1.0	1.0	320	32
3	640	Paso 1	1.0	3.0	160	16
4	160	Paso 3	1.0	1.0	80	8
5	160	Paso 3	0.5	1.5	40	4
6	160	Paso 3	0.5	3.5	20	2
7	20	Paso 6	1.0	1.0	10	1
8	20	Paso 6	0.5	1.5	5	0.5
9	20	Paso 6	0.5	3.5	2.5	0.25
10	2.5	Paso 9	1.0	1.0	1.25	0.125
11	2.5	Paso 9	0.5	1.5	0.625	0.0625
12	2.5	Paso 9	0.5	3.5	0.3125	0.03125
Antifúngicos no solubles en agua						
Paso	Concentración (µg/mL)	Fuente	Volumen (mL)	DMSO + (mL)	= Concentración intermedia (µg/mL)	= Concentración final a 1:10 (µg/mL)
1	1600	Stock			1600	16
2	1600	Stock	0.5	0.5	800	8.0
3	1600	Stock	0.5	1.5	400	4.0
4	1600	Stock	0.5	3.5	200	2.0
5	200	Paso 4	0.5	0.5	100	1.0
6	200	Paso 4	0.5	1.5	50	0.5
7	200	Paso 4	0.5	3.5	25	0.25
8	25	Paso 7	0.5	0.5	12.5	0.125
9	25	Paso 7	0.5	1.5	6.25	0.0625
10	25	Paso 7	0.5	3.5	3.13	0.0313

4.3.3. Preparación del inóculo

La suspensión de cada uno de los aislados fueron preparadas en solución salina al 0.9 %, de 7 días de crecimiento en APD. A cada tubo de aislado fúngico se le adicionaron 2 mL de solución salina 0.9 %; con ayuda de una asa bacteriológica estéril se

desprendieron los conidios del micelio aéreo. De esta suspensión se retiró 1 mL para ser colocado en un tubo de poliestireno de 5 mL y determinar el número total de conidios en una cámara de Neubauer. De acuerdo con el número de conidios totales se realizaron diluciones en caldo RPMI para obtener una concentración de 1×10^5 conidios/mL.

4.3.4. Inoculación de las placas

El inóculo de cada uno de los aislados problema se distribuyó de las filas D a la H, donde se depositaron 100 μ L del inóculo de los pozos de la columna 1 a la 11. En las filas A, B y C se inocularon los aislados de *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Aspergillus fumigatus* ATCC 204305 y *Fusarium solani* ATCC 36031, respectivamente. La cepa ATCC 22019 de *C. parapsilosis* correspondió al control de calidad del método. Las cepas ATCC de *Fusarium* y *Aspergillus* fueron los controles para hongos filamentosos. Los pozos de la columna 12 se llenaron con 100 μ L de caldo RPMI. Las placas se incubaron a 35°C por 72 horas, con revisión cada 24 horas.

4.3.5. Lectura de placas y registro de datos

Las lecturas se realizaron de forma visual con ayuda de un espejo invertido. La CMI se determinó comparando la turbidez de los pozos conteniendo los aislados problema con la del pozo CC. En el caso de la actividad de AMB, la CMI se valoró al 100 % de inhibición del crecimiento. En cambio, con los azoles, el porcentaje de inhibición considerado fue de 80-90 %. A pesar de que no hay puntos de corte clínicos establecidos para *Fusarium* spp., los aislados se consideraron resistentes a los

antifúngicos con los valores de CMI $\geq 4 \mu\text{g/mL}$ para AMB y de $\geq 8 \mu\text{g/mL}$ para azoles de acuerdo con lo establecido por el CLSI en el documento M38-A2 (2012).

4.3.6. Determinación de la Concentración Mínima Fungicida (CMF)

La CMF fue determinada con los fármacos que mostraron una CMI $\leq 4 \mu\text{g/mL}$ sobre los aislados problema. Los pozos de la columna 11 fueron los CC de los cuales se tomaron $2 \mu\text{L}$ y se inocularon por estría cerrada en la superficie de la placa con ADS. Por otro lado, una placa con ADS se dividió en cuatro cuadrantes, en cada uno de ellos se inocularon $2 \mu\text{L}$ en sentido a las manecillas del reloj, partiendo del pozo de la placa de microdilución que mostró un 30-40 % de inhibición en el crecimiento y los tres pozos siguientes con menor crecimiento o ausencia de crecimiento. Por ejemplo, el pozo donde se observó la disminución en el crecimiento fue en el pozo E4 y con mayor disminución fueron en los pozos E3, E2 y E1, respectivamente (Fig. 6). Las placas se incubaron a 28°C por 48 horas. Posteriormente se contaron las unidades formadoras de colonias (UFC) del control y de los problemas. El número de UFC de cada cuadrante se contrastó con el número de UFC del control para obtener un porcentaje de inhibición. La CMF fue la concentración a la cual se observó el 99 % de inhibición en el crecimiento de UFC.

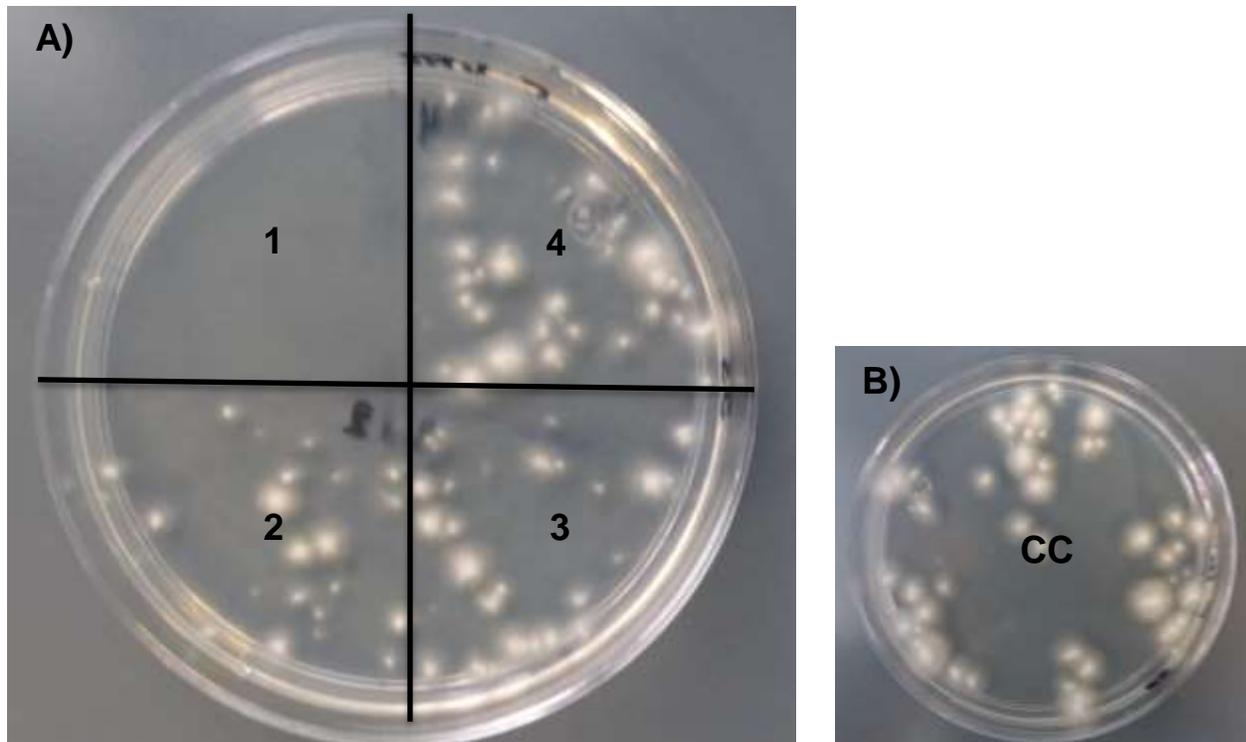


Figura 6. Determinación de la concentración mínima fungicida: A) placa de Petri dividida en cuadrantes e inoculada con el aislado problema; B) placa inoculada con el control de crecimiento (CC)

4.4. Efecto letal del voriconazol (VRZ)

Para determinar el efecto letal del voriconazol se usó el método de Kiraz *et al.*, 2013, para lo cual se utilizaron cinco placas de microdilución preparadas con concentraciones seriadas de VRZ (0.03 $\mu\text{g}/\text{mL}$ a 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$), inoculadas con uno de los aislados (1PG) e incubadas a 35°C. Las lecturas colorimétricas se hicieron a las 2, 12, 24, 48, 72 horas para evaluar la actividad metabólica empleando disoluciones en PBS de 2,3-bis [2-metiloxi-4-nitro-5-sulfofenil]-2-H-tetrazolio-5-carboxanilido (XTT) a un mg/mL y menadiona inicialmente disuelta en acetona a 10 mM y diluida en PBS 1:10. La disolución final en PBS correspondió a 0.5 mg/mL de XTT y 125 μM de mandiona. A cada uno de los pozos de la placa se adicionaron 50 μL y se incubó por dos horas a

35°C; después se determinó la DO a 492 nm en un espectrofotómetro (Chromate 4300 de Awareness Technology, Inc.). La efectividad del antifúngico fue valorada al 50% de reducción en la actividad de XTT comparada con el control. Estos procedimientos se realizaron por duplicado. Para construir la curva del efecto letal se consideraron los datos de absorbancia de los pozos que contenían las CMI y CMF de VRZ contra el aislado.

4.5. Análisis estadístico

Los datos obtenidos de la CMI y la CMF fueron analizados con el programa Statistica 8. Se aplicó la prueba de ANOVA de dos vías para valorar la diferencia significativa entre la actividad de los antifúngicos sobre las especies de *Fusarium*, así como para detectar posibles interacciones entre los dos factores en los valores de CMI y CMF. Finalmente se aplicó la prueba *post hoc* de corrección de Bonferroni para detectar los casos donde había diferencia significativa en la CMI y la CMF. Para ambas pruebas estadísticas se consideró un valor de significancia de $p < 0.05$.

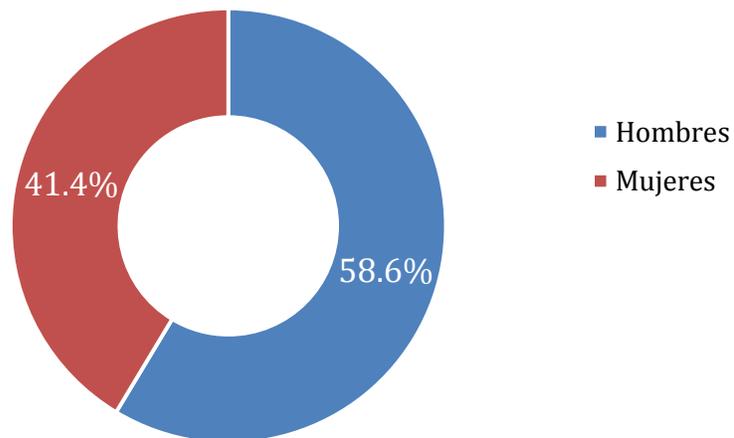
5. Resultados

5.1. Datos epidemiológicos y agentes etiológicos

5.1.1. Pacientes

En total se procesaron 33 aislados clínicos de *Fusarium* spp. obtenidos de pacientes con infección ocular. Sólo se recibieron los datos de 29 pacientes. De éstos, 17 (58.6 %) fueron obtenidos de pacientes masculinos y 12 (41.4 %) de pacientes femeninos. El rango de edad de los pacientes fue de 7 a 85 años, con un promedio de 39.9 años. Los pacientes masculinos fueron más frecuentes, pero la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0.518$). Por otra parte, hubo mayor número de pacientes de edades entre 31 y 40 años pero esta frecuencia tampoco fue estadísticamente significativa ($p>0.05$) (Fig. 7).

A)



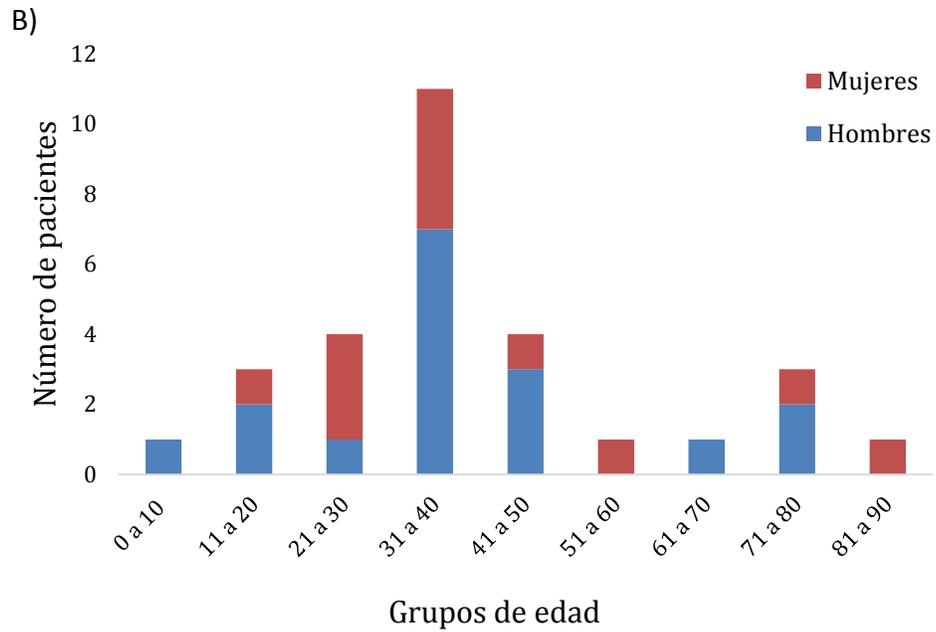


Figura 7. A) Proporción de mujeres y hombres en 29 pacientes; B) grupos de edad y distribución por género de los pacientes

En el cuadro 7 se describe las características demográficas, factores de riesgo y evolución del padecimiento ocular de los pacientes incluidos en este estudio.

Cuadro 7. Características demográficas, factores de riesgo y tiempo de evolución de la infección ocular por *Fusarium* en 29 pacientes.

Clave de registro	Género	Edad (años)	Residencia	Ocupación	Factor de riesgo	Evolución (días)	Ojo afectado	Diagnóstico clínico
1 PG	M	27	Pedro Escobedo, Gro.	-	-	60	OD	Queratitis
2 PG	F	32	Quintana Roo	Ama de casa	Traumatismo corneal	30	OD	Queratitis
3 PG	F	85	NE	Campesino	Traumatismo con material vegetal	30	OD	Queratitis micótica
4 PG	F	75	Tuzamapan, Pue.	Ama de casa	Traumatismo con material vegetal	1	OI	Queratitis
5 PG	F	40	Petatlan Gro.	Estudiante	Quemadura corneal	11	OI	Queratitis
6 PG	M	32	Cancun, Q.R.	Animador	Uso prolongado de lentes de contacto blandos	30	OD	Queratitis micótica
7 PG	M	7	Veracruz, Ver.	Estudiante	Traumatismo corneal	15	OI	Queratitis traumática
9 PG	M	72	NE	NE	NE	NE	NE	Queratitis traumática
10 PG	F	13	Veracruz	Pintor	Quemadura química	3	OI	Queratitis corneal por quemadura
12 PG	M	38	Tlapehuala, Gro.	NE	Traumatismo con material vegetal	15	OI	Queratitis traumática
13 PG	F	38	Acapulco, Gro.	Ama de casa	Traumatismo coneal	8	OI	Queratitis e hipopion
14 PG	M	47	Altamira, Tams.	Obrero	-	30	OI	Queratitis estromal
15 PG	F	21	San Luis Potosi	Ama de casa	Queratitis herpética, úlcera bacteriana	18	OD	Queratitis herpética y bacteriana
16 PG	M	39	Durango, Dgo.	Campesino	Absceso corneal	21	OI	Queratitis micotica
17 PG	F	54	Taxco, Gro.	Ama de casa	Traumatismo corneal	15	OD	Queratitis micótica
18 PG	M	74	Tehuacan, Pue.	Campesino	Traumatismo coneal, úlcera	35	OI	Úlcera corneal traumática
19 PG	M	41	CDMX	Ayudante	Traumatismo corneal	15	OD	Queratitis traumática
20 PG	F	34	Acapulco, Gro.	Ama de casa	-	10	OI	Queratitis

Cuadro 7. Continuación.

Clave de registro	Género	Edad (años)	Residencia	Ocupación	Factor de riesgo	Evolución (días)	Ojo afectado	Diagnóstico clínico
22 PG	M	50	Zihuateutla, Pue.	NE	Traumatismo con material vegetal	NE	OD	Queratitis micótica
23 PG	M	63	Tamaulipas	Proyectista	Glaucoma, catarata, úlcera corneal	60	OI	Queratitis
24 PG	M	40	Puebla	Campesino	-	20	OD	Queratitis
25 PG	M	15	Cotaztla, Ver.	Estudiante	Quemadura térmica en la córnea	3	OD	Queratitis
28 PG	M	36	CDMX	Obrero	-	NE	OI	Queratitis
29 PG	F	41	L. trinitaria, Chis.	Ama de casa	Traumatismo corneal	5	OD	Úlcera corneal traumática e hipopion
30 PG	F	30	CDMX	Ama de casa	Traumatismo quirúrgico	180	OD	Queratitis micótica
32 PG	M	36	Iguala, Gro.	Jardinero	-	3	OI	Queratitis
33 PG	M	14	Morelos	Estudiante	Traumatismo corneal	7	OI	Úlcera corneal traumática
34 PG	F	30	CDMX	Ama de casa	Traumatismo quirúrgico	90	OD	Queratitis micótica
35 PG	M	33	Cuernavaca, Mor.	Ayudante de albañil	-	30	OD	Queratitis

Abreviaciones:

M=masculino; **F**=femenino; **OD**=ojo derecho; **OI**=ojo izquierdo; **NE**=no especificado

CDMX=Ciudad de México; **Chis.**=Chiapas; **Dgo.**=Durango; **Gro.**=Guerrero; **Mor.**=Morelos; **Pue.**=Puebla

Q.R.=Quintana Roo; **Tams.**=Tamaulipas; **Ver.**=Veracruz

El principal factor de riesgo que presentaron los pacientes (16/29) fue traumatismo sufrido con diferentes materiales; de éstos, 4/16 con material vegetal, 3/16 quemadura corneal y en 2/16 secundario a trauma quirúrgico. El uso de lentes de contacto sólo se presentó en un paciente masculino, adulto joven. Los casos insidiosos (8/29) fueron los más comunes.

El lugar de origen de los pacientes fue variado, la mayoría fueron de las regiones suroeste (8/29), oriente (7/29) y centro-sur (6/29) de la República Mexicana (Fig. 8). El

estado con mayor número de casos fue Guerrero (7/29), seguido por la Ciudad de México y Puebla (4/29 cada uno). Las tres principales ocupaciones de los pacientes fueron ama de casa (9/29), campesinos y estudiantes (4/29 cada uno).



Figura 8. Mapa regional de México.(★) Estados con mayor número de casos. Tomada de Keepscases - Trabajo propio, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=8658972>

Las manifestaciones clínicas fueron disminución de la agudeza visual, dolor de intensidad variable, la presencia de anillos densos inmunológicos, abscesos corneales, úlceras y cataratas. Ambos ojos fueron afectados sin predilección. El tiempo de evolución fue menor a 30 días en 21/29 casos; y en un caso mayor a 100 días.

En 26/29 pacientes el principal diagnóstico clínico fue de queratitis, de los cuales sólo en 7/26 correspondieron a queratitis micótica y uno a queratitis herpética-bacteriana.

5.1.2. Identificación y características fenotípicas de las especies de *Fusarium*

De los 33 aislados, 17 de ellos fueron identificados por sus características fenotípicas como *Fusarium solani*, nueve *F. dimerum* y cuatro *F. oxysporum*. En otros correspondieron a *F. subglutinans*, *F. proliferatum* y *F. chlamydosporum* (Fig. 9).

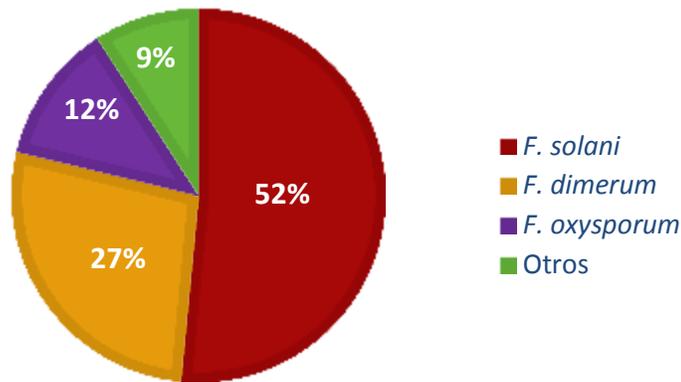


Figura 9. Porcentaje de las especies identificadas en 33 aislados clínicos de *Fusarium*

Las colonias de *F. solani* se caracterizaron por ser de color blanco, de aspecto algodonoso o veloso, con elevación central y margen regular y radiado, en algunos de los aislados (7/17) se observó la formación de un anillo filamentosos. Al reverso de la mayoría de las colonias (6/17) presentaron un pigmento rojo-vino sobre la colonia y/o difundido al medio (Fig. 10). Microscopicamente mostraron hifas hialinas septadas con ramificaciones en ángulo de 45°, con abundantes microconidios unicelulares o con un septo, de forma elipsoidal o cilíndrica, de 6-18 µm de largo; macroconidios abundantes, fusiformes, de ápices curvos, de 20-27 µm de largo, con dos a cuatro septos; la forma

de la célula basal fue indistinta a la de la célula apical. En las hifas se detectaron monofiálides aciculadas, de más de 20 μm de largo, septadas, cuya célula conidiógena presentaba una marca similar a un collarete. También se observaron clamidoconidios apicales y/o intercalares, globosos, de 5-10 μm de diámetro, de pared lisa o rugosa (Fig. 11).

Las colonias de *F. dimerum* mostraron un aspecto aterciopelado a veloso, de superficie lisa o con pliegues en algunos de los aislados (2/9); los bordes de éstas fueron regulares y radiados (con algunas excepciones donde el borde fue irregular (3/9)), de color blanco amarillento. Al reverso de las colonias se observó la formación de pigmento amarillo difundido al medio. (Fig. 10) Microscópicamente, los aislados de esta especie presentaron hifas hialinas septadas, con abundantes macroconidios fusiformes con uno o dos septos, de 10-20 μm de largo, los ápices curvados hacia el centro, con la célula apical ligeramente lanceolada y la célula basal con ápice romo. Las monofiálides rectas, anchas y ramificadas, dispuestas lateralmente cuya longitud fue de 10-15 μm . No se observaron microconidios ni clamidosporas (Fig. 11).

El aspecto de las colonias en los aislados de *F. oxysporum* fue algodonoso a floco, de color blanco, con el centro elevado y los márgenes regulares y radiados, formando un anillo filamentoso en dos aislados. Sobre la colonia se observó la producción de pigmento de color violeta (Fig. 10). Microscópicamente constituidos por hifas hialinas septadas, macroconidios fusiformes, alargados hasta 30 μm , curvos, con uno a tres septos, con la célula apical lanceolada y la célula basal pedicelada. Los microconidios fueron abundantes, de hasta 8 μm de largo, elipsoidales, cilíndrico o reniformes, sin septo o con un septo. En dos aislados se encontraron clamidoconidios globosos de 5-

10 μm y de pared lisa. Además, presentaron monofiálides laterales, cortas, de base ancha y no ramificadas (Fig. 11).

Figura 10. Características morfológicas de las colonias en agar papa dextrosa (APD), agar extracto de malta (AEM) y agar dextrosa Sabouraud (ADS), de tres de las especies de *Fusarium*.

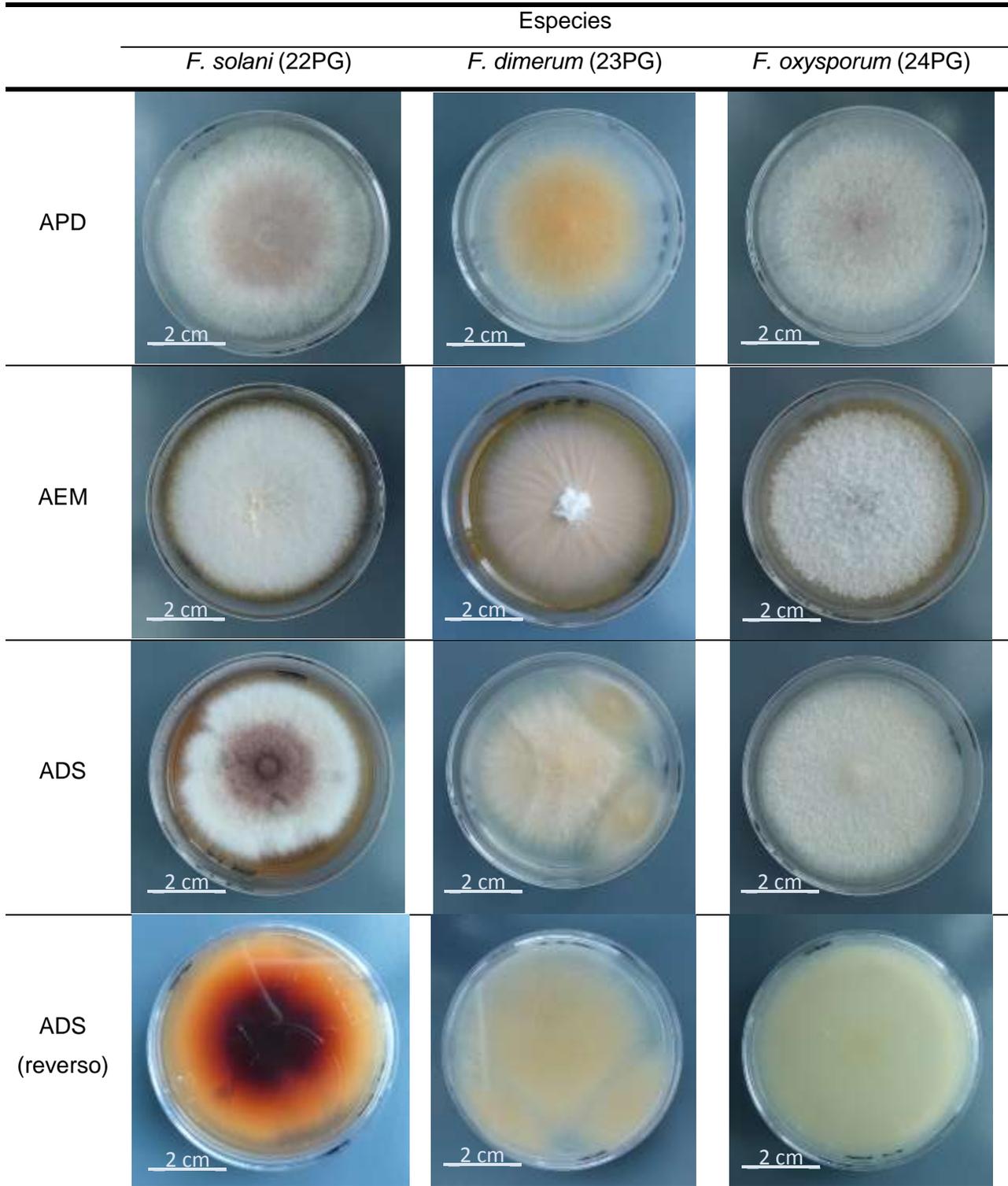
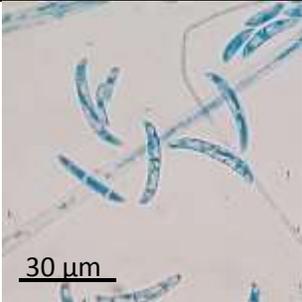
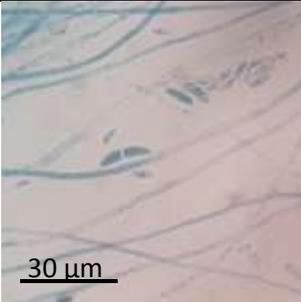
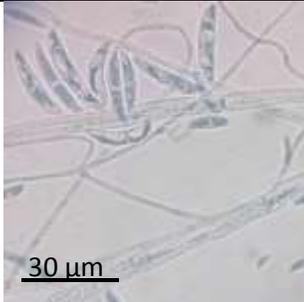
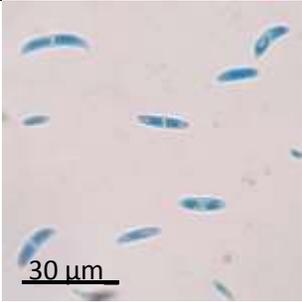
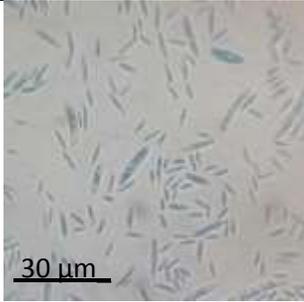
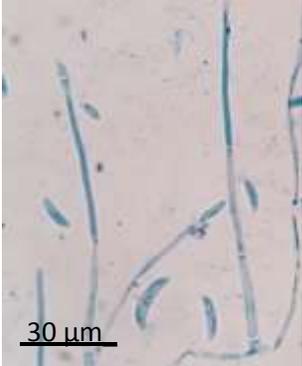
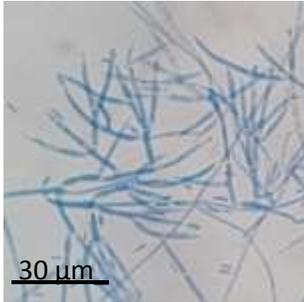


Figura 11. Morfología microscópica de tres de las especies de *Fusarium* con tinción de azul de algodón lactofenol a 40x.

	Especies		
	<i>F. solani</i> (28PG)	<i>F. dimerum</i> (23PG)	<i>F. oxysporum</i> (21PG)
Macroconidios			
Microconidios		Ausentes	
Fiálides			
Clamidoconidios		Ausentes	

5.2. Prueba de sensibilidad a antifúngicos

La concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima fungicida (CMF) obtenidas de la actividad de seis antifúngicos sobre los 33 aislados de *Fusarium* spp. son mostrados en el cuadro 8. Los valores de CMI para PSZ, ITZ y CSF fueron ≥ 16 $\mu\text{g/mL}$ y FLZ de ≥ 64 $\mu\text{g/mL}$. Los dos antifúngicos con la mejor actividad fueron AMB y VRZ. Los valores de CMI con AMB fueron en rango de 0.5 a 8 $\mu\text{g/mL}$, mientras que con VRZ fueron de 0.5 a 16 $\mu\text{g/mL}$. En el caso de la CMF, los valores de AMB y VRZ se mostraron en rango similar a lo observado en la CMI: de 0.5 a 8 $\mu\text{g/mL}$ y de 0.5 a 16 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (Cuadro 8).

Cuadro 8. Valores de CMI y CMF de AMB y VRZ frente a 33 aislados clínicos de *Fusarium* spp.

CMI								
Antifúngico	Especie	Núm. aislados	Número de aislados con valores de CMI (µg/mL)					
			0.5	1	2	4	8	≥16
AMB	<i>F. solani</i>	16	1	3	5	6	1	
	<i>F. dimerum</i>	9		3	1	2	3	
	<i>F. oxysporum</i>	4		1		2	1	
	<i>F. proliferatum</i>	1		1				
	<i>F. subglutinans</i>	1		1				
	<i>F. chlamydosporum</i>	1				1		
VRZ	<i>F. solani</i>	16		1	3	3	4	5
	<i>F. dimerum</i>	9	1		1	1	2	4
	<i>F. oxysporum</i>	4				3		1
	<i>F. proliferatum</i>	1				1		
	<i>F. subglutinans</i>	1			1	0		
	<i>F. chlamydosporum</i>	1						1
CMF								
Antifúngico	Especie	Núm. aislados	Número de aislados con valores de CMF (µg/mL)					
			0.5	1	2	4	8	≥16
AMB	<i>F. solani</i>	16	1	3	5	6	1	
	<i>F. dimerum</i>	9		3	1	2	3	
	<i>F. oxysporum</i>	4		1		2	1	
	<i>F. proliferatum</i>	1		1				
	<i>F. subglutinans</i>	1		1				
	<i>F. chlamydosporum</i>	1				1		
VRZ	<i>F. solani</i>	16		4	1	4	4	3
	<i>F. dimerum</i>	9		2		1		6
	<i>F. oxysporum</i>	4	1			1	2	
	<i>F. proliferatum</i>	1			1			
	<i>F. subglutinans</i>	1				1		
	<i>F. chlamydosporum</i>	1						1

CMI: concentración mínima inhibitoria; CMF: concentración mínima fungicida; AMB: anfotericina B; VRZ: voriconazol

5.2.1. Análisis estadístico

El análisis de las pruebas estadísticas mostró que el efecto del antifúngico no fue dependiente de la especie de *Fusarium* ($p > 0.05$). Por otro lado, el tipo de antifúngico fue el factor determinante para los distintos valores de CMI y CMF obtenidos ($p = 0.003$ y $p = 0.007$, respectivamente). Se encontró además que había diferencias significativas

entre los valores de CMI y de CMF de AMB y VRZ ($p < 0.05$), siendo los valores para AMB significativamente menores a los de VRZ (Fig. 12).

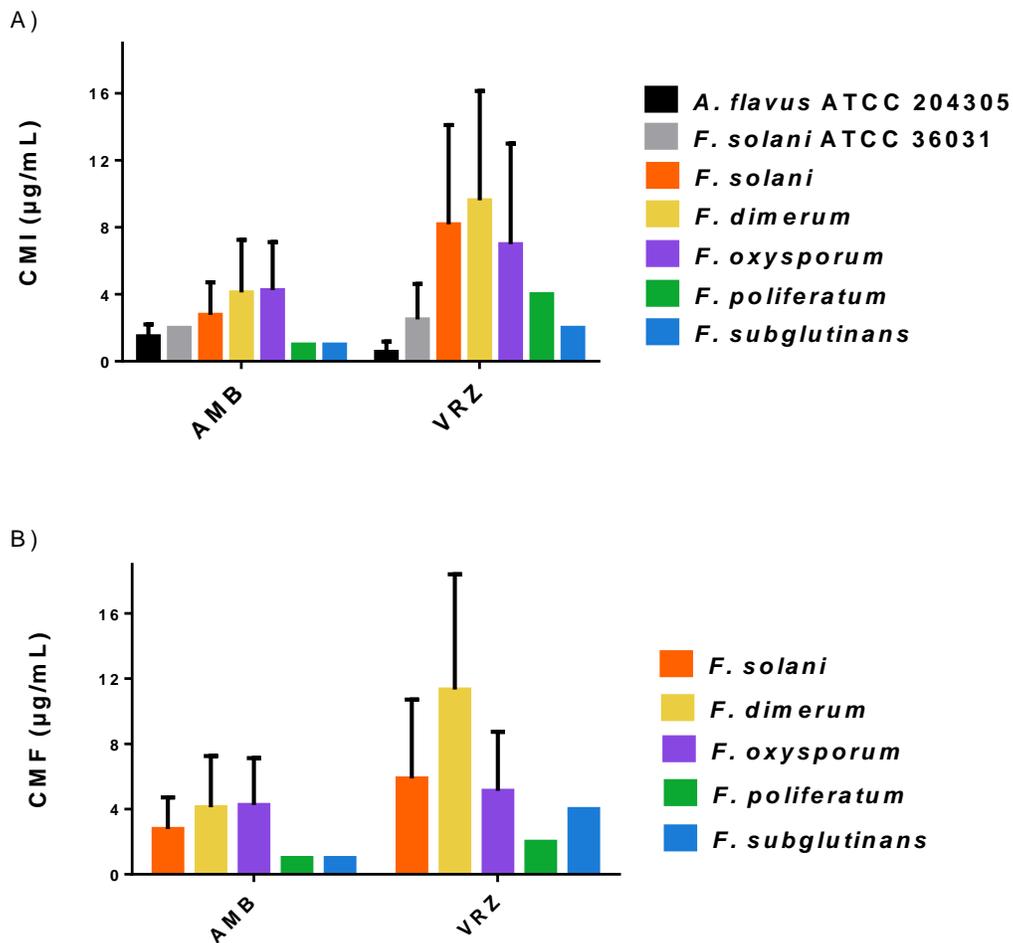


Figura 12. Valores de CMI (A) y CMF (B) de AMB y VRZ frente a los aislados de las diferentes especies de *Fusarium*.

5.3. Efecto letal de VRZ

En la figura 13 se muestra la curva del efecto letal de VRZ, donde hay una reducción en la actividad celular a partir de las 12 horas, el cual fue más evidente a las 48 horas. Este descenso se prolongó hasta las 72 horas, donde se notó la reducción del 50% de la actividad celular.

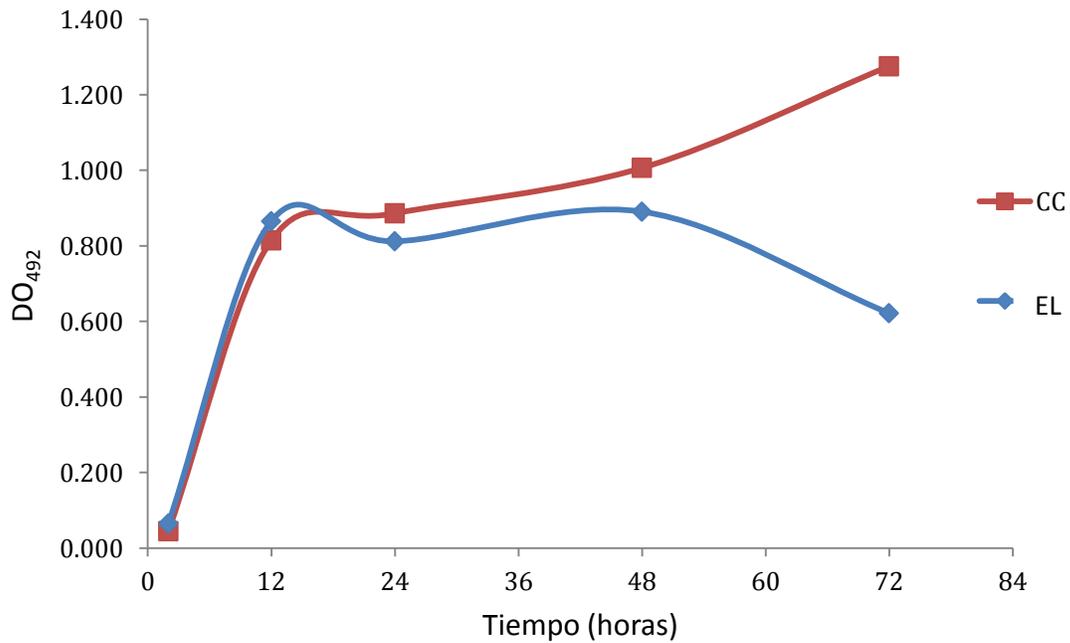


Figura 13. Curva de crecimiento (CC) y curva de efecto letal (EL) de VRZ contra *F. solani* (aislado 1PG).

6. Discusión

Fusarium es un género de hongos que presenta un alto grado de variabilidad morfológica, que puede ser modificada por factores como la cantidad y tipo de nutrientes, el pH y la temperatura [75]. Sin embargo, el uso de medios específicos y condiciones controladas, así como el uso de cultivos monospóricos ha permitido la creación de sistemas de clasificación robustos que aún siguen vigentes [62]. En este trabajo, el uso de tres medios de cultivos distintos (agar dextrosa Sabouraud, agar papa dextrosa y agar extracto de malta) permitió la identificación fenotípica de los aislados. La morfología de los macroconidios se apreció mejor en agar extracto de malta en los aislados identificados como *F. dimerum*. El agar papa dextrosa fue el mejor medio de cultivo para la morfología colonial de cada uno de los aislados, ya que no se observó gran modificación y además se evidenció la producción de pigmento (rojo vino, amarillo y púrpura), que es una de las características más usadas en la diferenciación de especies de *Fusarium* [62]. Por ejemplo en los aislados de *F. oxysporum* se observó un pigmento púrpura en el anverso de la colonia. Otro de los hechos relevantes de este estudio fue la morfología atípica de los macroconidios en dos de los aislados (11PG y 23PG), por lo cual se utilizó un medio que contenía cloruro de sodio al 1% (modificación de agar Gorodkova) que dio como resultado la obtención de numerosos macroconidios típicos.

Las infecciones oculares por especies de *Fusarium* son causa importante de morbilidad, difíciles de establecer el diagnóstico y presentan una pobre respuesta a los tratamientos antifúngicos. En 2016, Ong *et al.* [78] realizaron un estudio epidemiológico donde observaron un incremento de las queratitis por *Fusarium* spp. en la última década,

principalmente en hombres. En el presente trabajo no se observó predominio de género, ni de edad en las infecciones oculares por *Fusarium* spp. Los pacientes eran originarios principalmente de estados con climas cálidos-templados húmedos y/o subhúmedos, como el estado de Guerrero, similar al estudio de Vazzini-Zago *et al.* [105], en 2010. Otros autores han descrito una elevada incidencia de estas infecciones causadas por *Fusarium* spp. en regiones de clima templado [78, 107]. Por otro lado, los campesinos que presentaron infección ocular por *Fusarium* spp. representaron el 13.8% del total de pacientes en comparación al 34.4% reportado por Pérez-Balbuena *et al.* (2009) [84]. En el presente estudio el 17.6% de los pacientes fueron masculinos y el 8.3%, pacientes femeninos. Las amas de casa presentaron una frecuencia de 31% del total, una frecuencia mayor al 18.1% reportado por otros autores [84].

El traumatismo como factor de riesgo tuvo una frecuencia del 55.2%, muy similar a la reportada en la literatura para México [84]. El uso de lentes de contacto blandos por períodos prolongados no fue un factor de riesgo relevante en este estudio, pues sólo se presentó en un paciente (3.4%), frecuencia menor al 8.1% reportada por Pérez-Balbuena *et al.* (2009) [84] en México. Los factores de riesgo parecen variar de acuerdo a la región geográfica, pues en otros estudios como el de Tupaki-Sreepurna *et al.* (2016) [102] en la India, el principal factor de riesgo fue el trauma (90%), mientras que en Alemania el uso de lentes de contacto fue el factor asociado más frecuente (73.3%) [107]. Cabe destacar que los casos insidiosos fueron especialmente frecuentes en este estudio (27.6%), además de que no hay datos de frecuencia de este tipo de casos causados por *Fusarium* spp. en México.

El principal agente etiológico identificado fue *F. solani*, con una frecuencia del 52% de los casos. Este porcentaje se encontró dentro del rango de 26.5-82% de la literatura revisada para México [84,105]. Sin embargo, fue una frecuencia menor dentro del rango de 66-90% en otros centros de referencia como Argentina [88], India [102], Alemania [107] y Túnez [25]. En el caso de *F. dimerum* se encontró una frecuencia mayor (27%) con respecto a otros estudios realizados en México (4.6-9.9%) [84, 105] y en otros países (4-12%) [25, 88, 103]. *F. oxysporum* se presentó en el 12.1% de los casos, mientras que en la literatura para México la frecuencia fue de 4.9-6.6 % de los aislados de *Fusarium* spp. [84,105]. En otros países, la frecuencia de *F. oxysporum* en queratomicosis por *Fusarium* spp. ha sido reportada entre el 4 al 19% [25,88].

El tratamiento de las infecciones oculares causadas por *Fusarium* spp. es difícil debido a la resistencia que llegan a presentar a diversos antifúngicos. Algunos autores han reportado la resistencia intrínseca al grupo de las equinocandinas; mientras que la actividad de los azoles ha sido variable y depende de la especie del aislado [5, 7, 13, 38, 54, 97]. En el presente trabajo, de todos los antifúngicos probados, la AMB fue la que tuvo los valores de CMI y CMF más bajos, lo cual es similar a lo descrito en la literatura [5, 33, 97, 102]. En cambio, el VRZ mostró una actividad variable (0.5-16 µg/mL), lo que coincide con otros autores [5, 54, 97]. Sin embargo, fue el segundo antifúngico con la mejor actividad frente a los aislados de *Fusarium* spp. En otros estudios, el VRZ ha mostrado y se ha discutido sobre la buena actividad *in vitro* contra estos hongos [33, 102]. En el presente estudio, se observó que el VRZ provocó el decremento de la actividad celular a partir de las 12 horas, con una inhibición en el crecimiento del 50% a las 72 horas. Por estas razones el VRZ podría ser considerado

como el mejor fármaco para el tratamiento de las infecciones oculares causadas por *Fusarium* spp. Los triazoles de primera generación (ITZ y FLZ) mostraron los valores más altos de CMI y CMF ($\geq 16\mu\text{g/mL}$ y $\geq 64\mu\text{g/mL}$), lo cual ha sido descrito en otros estudios [33, 44, 101, 106]. En el caso del PSZ se ha descrito que tiene una respuesta dependiente de la especie sobre *Fusarium* spp., por ejemplo puede presentar buena actividad sobre *F. oxysporum* y *F. verticilloides* [4, 5, 101]. Sin embargo, en el presente estudio se observó que el PSZ no tuvo efecto contra los aislados (CMI y CMF $\geq 16\mu\text{g/mL}$), a pesar de que se ha reportado respuesta clínica favorable en pacientes con queratitis por *Fusarium* spp. [54]. Por otra parte, la CSF tampoco tuvo efecto contra los aislados.

Cabe resaltar que de los 33 aislados estudiados, 10 mostraron resistencia a todos los antifúngicos empleados, la cual es indicativa de que las pruebas de sensibilidad, así como la identificación del aislado son importantes para establecer un tratamiento adecuado en las infecciones por *Fusarium* spp.

7. Conclusiones

Las infecciones oculares por *Fusarium* spp. de los pacientes del Hospital de la Asociación para Evitar la Ceguera en México son causadas principalmente por *F. solani*, seguido de *F. dimerum* y *F. oxysporum*.

El factor de predisposición más frecuente fue el traumatismo en el 55.2% de los pacientes.

Todos los aislados de *Fusarium* mostraron resistencia a caspofungina, fluconazol, itraconazol y posaconazol.

La anfotericina B fue el antifúngico que mostró los valores de CMI y CMF más bajos.

Voriconazol presentó una buena actividad contra *Fusarium* spp., el cual representa una buena opción para el tratamiento de las infecciones oculares causadas por este género.

8. Abreviaturas

- °C: grados Celsius
- ABC: dominio de unión al ATP
- ADS: agar dextrosa Sabouraud
- AEM: agar extracto de malta
- AMB: anfotericina B
- AMB iny: anfotericina B (inyección intravítrea)
- AMB lip: anfotericina B liposomal
- ANOVA: *Analysis of variances*, análisis de varianzas
- APD: agar papa dextrosa
- CC: control de crecimiento
- CDC: *Center for Disease Control and Prevention*, Centro de control y prevención de enfermedades
- CDMX: Ciudad de México
- CE: control de esterilidad
- Chis.: Chiapas
- CLSI: *Clinical & Laboratory Standards Institute*, Instituto de estándares clínicos y de laboratorio
- cm: centímetro
- cm²: centímetro cuadrado
- CMF: concentración mínima fungicida
- CMI: concentración mínima inhibitoria
- CSF: caspofungina

- DM: diabetes melitus
- DMSO: dimetil sulfóxido
- DNA: ácido desoxirribonucléico
- DON: deoxinivalenol
- Dgo.: Durango
- EES: endoftalmitis endógena secundaria
- EL: efecto letal
- EN: enucleación
- *et al.*: *et alii* (latín), y colaboradores
- EUA: Estados Unidos de América
- f. sp.: forma specialis (latín)
- FCSC: complejo de especies de *F. chlamyosporum*
- FDSC: complejo de especies de *F. dimerum*
- FFSC: complejo de especies de *F. fujikoroii*
- FGSC: complejo de especies de *F. graminearum*
- FIESC: complejo de especies de *F. incarnatum-equisetti*
- FLZ: fluconazol
- FOSC: complejo de especies de *F. oxysporum*
- FSAMSC: complejo de especies de *F. sporotrichoides*
- FSSC: complejo de especies de *F. solani*
- Gro.: Guerrero
- IAPT: *International Association for Plant Taxonomy*, Asociación internacional para la taxonomía de plantas

- ITS: *Internal Transcribed Spacer*, Espaciador transcribible interno
- ITZ: Itaconazol
- KTZ: ketoconazol
- LBA: leucemia bifenotípica aguda
- LLA: leucemia linfoblástica aguda
- LMA: leucemia mieloide aguda
- MCF: micafungina
- mL: mililitro
- Mor.: Morelos
- NA: no aplica
- NE: no especificado
- nm: nanómetros
- NTM: natamicina
- Núm.: número
- OD: ojo derecho
- OI: ojo izquierdo
- PSZ: posaconazol
- Pue.: Puebla
- Q. R.: Quintana Roo
- RPMI: medio *Roswell Park Memorial Institute*
- sp.: species (latín), especie
- spp.: species (latín), plural de especie
- Tams.: Tamaulipas

- TBF. terbinafina
- UFC: unidad formadora de colonias
- Ver.: Veracruz
- VRZ: voriconazol
- VRZ iny: voriconazol (inyectable)
- XTT: cloruro de tetrazolio
- μg : microgramos
- μL : microlitros
- μm : micrómetros
- μM : micromolar

9. Referencias

1. Adame-García J, Rodríguez-Guerra R, Iglesias-Andreu LG, Ramos-Prado JM, Luna-Rodríguez M. Molecular identification and pathogenic variation of *Fusarium* species isolated from *Vanilla planifolia* in Papantla Mexico. *Bot Sci*. 2015;93(3):669–78.
2. Al-Hatmi AMS, Bonifaz A, de Hoog GS, Vazquez-Maya L, Garcia-Carmona K, Meis JF, *et al*. Keratitis by *Fusarium temperatum*, a novel opportunist. *BMC Infect Dis*. 2014;14(1):588. doi:10.1186/s12879-014-0588-y.
3. Al-Hatmi AMS, Bonifaz A, Ranque S, de Hoog GS, Verweij PE, Meis JF. Current antifungal treatment of fusariosis. *Int J Antimicrob Agents*. 2018; 51(3) :326-32.
4. Al-Hatmi AMS, Meis JF, de Hoog GS. *Fusarium*: Molecular Diversity and Intrinsic Drug Resistance. *PLoS Pathog*. 2016;12(4): e1005464.
5. Al-Hatmi A, Curfs-Breuker I, de Hoog G, Meis J, Verweij P. Antifungal Susceptibility Testing of *Fusarium*: A Practical Approach. *J Fungi*. 2017;3:19. doi: 10.3390/jof3020019.
6. Al-Maqtoofi M, Thornton CR. Detection of human pathogenic *Fusarium* species in hospital and communal sink biofilms by using a highly specific monoclonal antibody. *Environ Microbiol*. 2016;18(11):3620–34.
7. Alastruey-Izquierdo A, Cuenca-Estrella M, Monzón A, Mellado E, Rodríguez-Tudela JL. Antifungal susceptibility profile of clinical *Fusarium* spp. isolates identified by molecular methods. *J Antimicrob Chemother*. 2008; 61(4):305-9

8. Alves da Costa Pertuiset PA, Logrono JFB. *Fusarium* endophthalmitis following cataract surgery: successful treatment with intravitreal and systemic voriconazole. *Case Rep Ophthalmol Med*. 2016;2016:4593042.
9. Amadasi S, Pelliccioli GF, Colombini P, Bonomini A, Farina C, Pietrantonio F, et al. Contact lens-related *Fusarium* keratitis: A case report. *Infez Med*. 2017;25(2):166–8.
10. Antequera P, Garcia-Conca V, Martín-González C, Ortiz-De-La-Tabla V. Queratitis por *Fusarium* multirresistente. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2015;90(8):382–4.
11. Antonissen G, Martel A, Pasmans F, Ducatelle R, Verbrugghe E, Vandenbroucke V, et al. The impact of *Fusarium* mycotoxins on human and animal host susceptibility to infectious diseases. *Toxins (Basel)*. 2014;6(2):430–52.
12. Arbeláez-Torres G. Algunos aspectos de los hongos del género *Fusarium* y de la especie *Fusarium oxysporum*. *Agron Colomb*. 2000;17:11-16.
13. Arikan S, Lozano-Chiu M, Paetznick V, Nangia S, Rex JH. Microdilution susceptibility testing of amphotericin-B, itraconazole, and voriconazole against clinical isolates of *Aspergillus* and *Fusarium* species. *J Clin Microbiol*. 1999;37:3946–51
14. Bailey BA, Hebbar KP, Strem M, Lumsden RD, Darlington LC, Connick WJ, et al. Formulations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *erythroxyli* for biocontrol of *Erythroxyllum coca* var. *coca*. *Weed Sci*. 2017;46(6):682–9.
15. Berger S, El Chazli Y, Babu AF, Coste AT. Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: A consequence of antifungal use in agriculture? *Front Microbiol*. 2017;8:1024. doi: 10.3389/fmicb.2017.01024.

16. Bigwood J. Repeating mistakes of the past: another mycoherbicide research bill. Drug Policy Alliance. 2006. <http://www.drugpolicy.org/docUploads/Mycoherbicide06.pdf>.
17. Bonifaz A, Saldaña M, Araiza J, Mercadillo P, Tirado-Sánchez A. Two simultaneous mycetomas caused by *Fusarium verticillioides* and *Madurella mycetomatis*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2017; 59: e55 <http://dx.doi.org-10.1590/s1678-9946201759055>.
18. Bourgeois GP, Cafardi JA, Sellheyer K, Andea AA. Disseminated *Fusarium* infection originating from paronychia in a neutropenic patient: a case report and review of the literature. Cutis.2010;85(4):191–4.
19. Broekaert N, Devreese M, De Baere S, De Backer P, Croubels S. Modified *Fusarium* mycotoxins unmasked: From occurrence in cereals to animal and human excretion. Food Chem Toxicol. 2015;80:17–31.
20. Cabañes FJ, Alonso JM, Castellá G, Alegre F, Domingo M, Pont S. Cutaneous hyalohyphomycosis caused by *Fusarium solani* in a loggerhead sea turtle (*Caretta caretta* L.). J Clin Microbiol.1997;35(12):3343–5.
21. Campos-Macías P, Arenas-Guzmán R, Hernández-Hernández F. *Fusarium* subglutinans: A new eumycetoma agent. Med Mycol Case Rep. 2013;2(1):128–31.
22. Chabasse D, Pihet M. Les onychomycoses à moisissures. J Mycol Med. 2014;24(4):261–8.
23. Chang DC, Grant GB, O'Donnell K, Wannemuehler KA, Noble-Wang J, Rao CY, et al. Multistate outbreak of *Fusarium* of a contact lens solution. J Am Med Assoc JAMA. 2006;296(8):953–63.

24. Chehri K, Salleh B, Zakaria L. Morphological and Phylogenetic Analysis of *Fusarium solani* Species Complex in Malaysia. *Microb Ecol.* 2015;69(3):457–71.
25. Cheikhrouhou F, Makni F, Neji S, Trigui A, Sellami H, Trabelsi H, et al. Epidemiological profile of fungal keratitis in Sfax (Tunisia). *J Mycol Med.* 2014;24(4):308–12.
26. Chen Y-J, Chou C-L, Lai K-J, Lin Y-J. *Fusarium* brain abscess in a patient with diabetes mellitus and liver cirrhosis. *Acta Neurol Taiwan.* 2017;26(3):128–32.
27. Chowdhary A, Sharma C, Meis JF. Azole-resistant aspergillosis: epidemiology, molecular mechanisms, and treatment. *J Infect Dis.* 2017;216(Suppl):S436–44.
28. Coleman JJ. The *Fusarium solani* species complex: ubiquitous pathogens of agricultural importance. *Mol Plant Pathol.* 2016;17(2):146–58.
29. Coleman JJ, Muhammed M, Kasperkovitz P V., Vyas JM, Mylonakis E. *Fusarium* pathogenesis investigated using *Galleria mellonella* as a heterologous host. *Fungal Biol.* 2011;115(12):1279–89.
30. Corzo-León DE, Armstrong-James D, Denning DW. Burden of serious fungal infections in Mexico. *Mycoses.* 2015;58 (Suppl 5):34–44.
31. Crow GL, Brock JA, Kaiser S. *Fusarium solani* fungal infection of the lateral line canal system in captive scalloped hammerhead sharks (*Sphyrna lewini*) in Hawaii. *J Wildl Dis.* 1995;31(4):562–5.
32. Dale J, James A, Paul JY, Khanna H, Smith M, Peraza-Echeverria S, et al. Transgenic Cavendish bananas with resistance to *Fusarium* wilt tropical race 4. *Nat Commun.* 2017;8(1):1–8. doi :10.1038/s41467-017-01670-6.

33. Dallé da Rosa P, Nunes A, Borges R, Batista B, Meneghello Fuentefria A, Goldani LZ. *In vitro* susceptibility and multilocus sequence typing of *Fusarium* isolates causing keratitis. *J Mycol Med*. 2018;28(3):482–5.
34. de Hoog GS, Guarro J, Geneá J, Figueras MJ. Atlas of clinical fungi. 2da ed. España: Universitat Rovira I Voirgili Reus; 2000. pp 681-705.
35. de Souza M, Matsuzawa T, Lyra L, Busso-Lopes A, Gonoï T, Schreiber A, *et al.* *Fusarium napiforme* systemic infection: case report with molecular characterization and antifungal susceptibility tests. *Springerplus*. 2014 ;3:492. doi :10.1186/2193-1803-3-492
36. Delgado-Ortiz JC, Ochoa-Fuentes YM, Cerna-Chávez E, Beltrán-Beache M, Rodríguez-Guerra R, Aguirre-Urbe LA, *et al.* Patogenicidad de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición basal del ajo en el centro norte de México. *Rev Argent Microbiol*. 2016;48(3):222–8.
37. Desjardins AE, Proctor RH. Molecular biology of *Fusarium* mycotoxins. *Int J Food Microbiol*. 2007;119(1–2):47–50.
38. Diekema DJ, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN, Pfaller MA. Activities of caspofungin, itraconazole, posaconazole, ravuconazole, voriconazole, and amphotericin B against 448 recent clinical isolates of filamentous fungi. *J Clin Microbiol*. 2003;41(8):3623-6.
39. Dignani MC, Anaissie E. Human fusariosis. *Clin Microbiol Infect*. 2004;10(Suppl 1):67–75.
40. do Carmo A, Costa E, Marques M, Quadrado MJ, Tomé R. *Fusarium dimerum* species complex (*Fusarium penzigii*) keratitis after corneal trauma. *Mycopathologia*. 2016;181(11–12):879–84.

41. Edel-Hermann V, Gautheron N, Mounier A, Steinberg C. *Fusarium* diversity in soil using a specific molecular approach and a cultural approach. *J Microbiol Methods* 2015;111:64–71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2015.01.026>
42. Edelstein SL, Akduman L, Durham BH, Fothergill AW, Hsu HY. Resistant fusarium keratitis progressing to endophthalmitis. *Eye Contact Lens*. 2012;38(5):331–5.
43. Escrivá L, Font G, Manyes L. *In vivo* toxicity studies of *Fusarium* mycotoxins in the last decade: A review. *Food Chem Toxicol*. 2015;78:185–206.
44. Espinel-Ingroff A, Colombo AL, Cordoba S, Dufresne PJ, Fuller J, Ghannoum M, *et al*. International evaluation of MIC distributions and epidemiological cutoff value (ECV) definitions for *Fusarium* species identified by molecular methods for the CLSI broth microdilution method. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;60(2):1079–84.
45. Fernando N, Hui SW, Tsang CC, Leung SY, Ngan AH, Leung RW, *et al*. Fatal *Fusarium solani* species complex infections in elasmobranchs: The first case report for black spotted stingray (*Taeniura melanopsila*) and a literature review. *Mycoses*. 2015;58(7):422–31.
46. García-Ruiz JC, Olazábal I, Adán Pedroso RM, López-Soria L, Velasco-Benito V, Sánchez-Aparicio JA, *et al*. Disseminated fusariosis and hematologic malignancies, a still devastating association. Report of three new cases. *Rev Iberoam Micol*. 2015;32(3):190–6.
47. Geiser DM, Aoki T, Bacon CW, Baker SE, Bhattacharyya MK, Brandt ME, *et al*. One fungus, one name: defining the genus *Fusarium* in a scientifically robust way that preserves longstanding use. *Phytopathology*. 2013;103(5):400–8.

48. Graue-Wiechers E. Oftalmología en la práctica de la medicina general. 3ª ed. México:McGraw-Hill;2009.
49. Halpern M, Balbi E, Carius L, Roma J, Gonzalez AC, Agoglia L, *et al.* Cellulitis and nodular skin lesions due to *Fusarium* spp. in liver transplant: case report. *Transplant Proc.* 2010;42(2):599–600.
50. Hay RJ. *Fusarium* infections of the skin. *Curr Opin Infect Dis.* 2007;20(2):115-7.
51. Hernandez-Camarena JC, Graue-Hernandez EO, Ortiz-Casas M, Ramirez-Miranda A, Navas A, Pedro-Aguilar L, *et al.* Trends in microbiological and antibiotic sensitivity patterns in infectious keratitis: 10-year experience in Mexico City. *Cornea.* 2015;34(7):778–85.
52. Hodkin MJ, Gustus RC. Fungal keratitis associated with airborne organic debris and soft contacts lenses. Cases reports and review of the literature. *Eye Contact Lens.* 2018;44(Suppl 1):S16-21.
53. Imamura Y, Chandra J, Mukherjee PK, Lattif AA, Szczotka-Flynn LB, Pearlman E, *et al.* *Fusarium* and *Candida albicans* biofilms on soft contact lenses: Model development, influence of lens type, and susceptibility to lens care solutions. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(1):171–82.
54. Iqbal NJ, Boey A, Park BJ, Brandt ME. Determination of *in vitro* susceptibility of ocular *Fusarium* spp. isolates from keratitis cases and comparison of Clinical and Laboratory Standards Institute M38-A2 and E test methods. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008;62:348–50.
55. Ishida K, Alviano DS, Silva BG, Guerra CR, Costa AS, Nucci M, *et al.* Negative correlation between phospholipase and esterase activity produced by *Fusarium* isolates. *Braz J Med Biol Res.* 2012;45(5):411–6.

56. Kandeel A, Abu-Elmagd K, Spinner M, Khanna A, Hashimoto K, Fujiki M, *et al.* Atypical clinical presentation of a newer generation anti-fungal drug-resistant *Fusarium* infection after a modified multi-visceral transplant. *Ann Transplant.* 2015;20:512–8.
57. Kang Y, Li L, Zhu J, Zhao Y, Zhang Q. Identification of *Fusarium* from a patient with fungemia after multiple organ injury. *Mycopathologia.* 2013;176(1–2):151–5.
58. Katiyar SK, Edlind TD. Role for Fks1 in the intrinsic echinocandin resistance of *Fusarium solani* as evidenced by hybrid expression in *Saccharomyces cerevisiae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(5):1772–8.
59. Kawashima N, Yoshida N, Matsushita N, Ito M, Matsumoto K, Kato K. Intra-articular injection of voriconazole for *Fusarium solani* arthritis after bone marrow transplantation. *J Infect.* 2012;65(4):366–7.
60. Keay LJ, Gower EW, Iovieno A, Oechsler RA, Alfonso EC, Matoba A, *et al.* Clinical and microbiological characteristics of fungal keratitis in the United States, 2001-2007: a multicenter study. *Ophthalmology.* 2011;118(5):920–6.
61. Labois A, Gray C, Lepretre S. Successful treatment of disseminated fusariosis with voriconazole in an acute lymphoblastic leukaemia patient. *Mycoses.* 2011;54(Suppl 4):8–11.
62. Leslie JF, Summerell BA, Bullock S (illustrator). *The Fusarium Laboratory Manual.* Iowa, EUA: Blackwell Publishing. 2006. pp 1-388.
63. Leyva-Madriral KY, Larralde-Corona CP, Apodaca-Sánchez MA, Quiroz-Figueroa FR, Mexia-Bolaños PA, Portillo-Valenzuela S, *et al.* *Fusarium* species from the *Fusarium fujikuroi* species complex involved in mixed infections of maize in northern Sinaloa, Mexico. *J Phytopathol.* 2015;163:486–97.

64. Liu YS, Wang NC, Ye RH, Kao WY. Disseminated *Fusarium* infection in a patient with acute lymphoblastic leukemia: A case report and review of the literature. *Oncol Lett.* 2014;7(2):334–6.
65. Ma LJ, Geiser DM, Proctor RH, Rooney AP, O'Donnell K, Trail F, et al. *Fusarium* pathogenomics. *Annu Rev Microbiol.* 2013;67:399–416.
66. Martínez M, Castañares E, Dinolfo MI, Pacheco WG, Moreno M V., Stenglein SA. Presencia de *Fusarium graminearum* en muestras de trigo destinado al consumo humano. *Rev Argent Microbiol.* 2014;46(1):41–4.
67. Martínez-Hernández L, Caro-Sánchez CH, Bonifaz A. Infecciones por *Fusarium*. *Dermatología Rev Mex.* 2014;58(5):432–42.
68. Mazu TK, Bricker BA, Flores-Rozas H, Ablordeppey SY. The mechanistic targets of antifungal agents: an overview. *Mini Rev Med Chem.* 2016;16(7):555-78.
69. Mehl HL, Epstein L. *Fusarium solani* species complex isolates conspecific with *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 2 from naturally infected human and plant tissue and environmental sources are equally virulent on plants, grow at 37 degrees C and are interfertile. *Environ Microbiol.* 2007;9(9):2189–99.
70. Mikami R, Stemmermann GN. Keratomycosis caused by *Fusariumn oxysporum*. *Am J Clin Pathol.* 1958;29(3):257-262.
71. Mondal S, Baksi S, Koris A, Vatai G. Journey of enzymes in entomopathogenic fungi. *Pac Sci Rev A Nat Sci Eng.* 2016;18(2):85–99.
72. Morales CA, Solórzano A, Rojas AP. Características epidemiológicas y clínicas de las onicomycosis causadas por *Fusarium* spp . en un centro de referencia de Bogotá, Colombia, 2001-2010. *Rev Asoc Colomb Dermatol.* 2013;21(1):21–8.

73. Muhammed M, Anagnostou T, Desalermos A, Kourkoumpetis TK, Carneiro HA, Glavis-Bloom J, *et al.* *Fusarium* infection: report of 26 cases and review of 97 cases from the literature. *Medicine (Baltimore)*. 2013;92(6):305–16.
74. Mukherjee PK, Chandra J, Yu C, Sun Y, Pearlman E, Ghannoum MA. Characterization of *Fusarium* keratitis outbreak isolates: Contribution of Biofilms to Antimicrobial Resistance and Pathogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(8):4450–7.
75. Nelson PE, Dignani MC, Anaissie EJ. Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. *Clin Microbiol Rev*. 1994;7(4):479–504.
76. Neves MSC, Moura CCM, Oliveira LG. Mycobiota from the eggs, nests and stillbirths of *Eretmochelys imbricata* Linneus 1766 (Testudines: Cheloniidae) in Pernambuco State, Brazil. *Afr J Microbiol Res*. 2015;9(17):1195–9.
77. Nucci M, Anaissie E. *Fusarium* infections in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20(4):695–704.
78. Ong HS, Fung SSM, Macleod D, Dart JKG, Tuft SJ, Burton MJ. Altered patterns of fungal keratitis at a London ophthalmic referral hospital: an eight-year retrospective observational study. *Am J Ophthalmol*. 2016;168: 227-36
79. Parra-Rodríguez DS, García-Carmona KP, Vázquez-Maya L, Bonifaz A. Incidencia de úlceras corneales microbianas en el Servicio de Oftalmología del Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga. *Rev Mex Oftalmol*. 2016; <http://dx.doi.org/10.1016/j.mexoft.2015.10.010>
80. Patil A, Majumdar S. Echinocandins in ocular therapeutics. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2017;33(5):340–52.

81. Peiqian L, Xiaoming P, Huifang S, Jingxin Z, Ning H, Birun L. Biofilm formation by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* and susceptibility to environmental stress. *FEMS Microbiol Lett.* 2014;350(2):138–45.
82. Peraica M, Radic B, Lucic A, Pavlovic M. Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bull World Health Organ.* 1999;77(9):754–66.
83. Pereira GH, de Angelis DA, Brasil RA, dos Anjos Martins M, de Matos Castro e Silva D, Szeszs MW, *et al.* Disseminated Amphotericin-Resistant Fusariosis in Acute Leukemia Patients: Report of Two Cases. *Mycopathologia.* 2013;175(1–2):107–14.
84. Pérez-Balbuena AL, Vanzzini-Rosano V, Valadéz-Virgen J de J, Campos-Möller X. *Fusarium* keratitis in Mexico. *Cornea.* 2009;28(6):626–30.
85. Perini GF, Camargo LF, Lottenberg CL, Hamerschlak N. Disseminated fusariosis with endophthalmitis in a patient with hematologic malignancy. *Einstein (São Paulo, Brazil).* 2013;11(4):545–6.
86. Peterson A, Pham MH, Lee B, Commins D, Cadden J, Giannotta S, *et al.* Intracranial *Fusarium* fungal abscess in an immunocompetent patient: case report and review of the literature. *J Neurol Surg Rep.* 2014;75(2):e241–5.
87. Pirarat N, Sahatrakul K, Lacharoje S, Lombardini E, Chansue N, Techangamsuwan S. Molecular and pathological characterization of *Fusarium solani* species complex infection in the head and lateral line system of *Sphyrna lewini*. *Dis Aquat Organ.* 2016;120(3):195–204.
88. Refojo N, Minervini P, Hevia AI, Abrantes RA, Fernández J, Apestey N, *et al.* Keratitis caused by moulds in Santa Lucía Ophthalmology Hospital in Buenos Aires, Argentina. *Rev Iberoam Micol.* 2016;33(1):1–6.

89. Reza SL, Mohammad T, Mohsen F, Afshin Z, Sahar M, Ehsan K, *et al.* Histological gills changes of marine shrimp in black gill disease in the Bushehr Sea coast. *Biomed Pharmacol J.* 2015;8(1):255–60.
90. Ricna D, Lengerova M, Palackova M, Hadrabova M, Kocmanova I, Weinbergerova B, *et al.* Disseminated fusariosis by *Fusarium proliferatum* in a patient with aplastic anaemia receiving primary posaconazole prophylaxis - case report and review of the literature. *Mycoses.* 2016;59(1):48–55.
91. Salah H, Al-Hatmi AM, Theelen B, Abukamar M, Hashim S, Van Diepeningen AD, *et al.* Phylogenetic diversity of human pathogenic *Fusarium* and emergence of uncommon virulent species. *J Infect.* 2015;71(6):658–66.
92. Santana-Neto PL, Albuquerque CMR, Silva APP, Svedese VM, Lima EALA. Natural occurrence of the *Fusarium solani* on *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Scorpiones: Buthidae). *Braz J Biol.* 2010;70(1):151–3.
93. Sara S, Sharpe K, Morris S. Multidrug-resistant *Fusarium* keratitis: diagnosis and treatment considerations. *BMJ Case Rep.* 2016. pii:bcr2016215401. doi:10.1136/bcr-2016-215401.
94. Sarmiento-Ramírez JM, Abella E, Martín MP, Tellería MT, López-Jurado LF, Marco A, *et al.* *Fusarium solani* is responsible for mass mortalities in nests of loggerhead sea turtle, *Caretta caretta*, in Boavista, Cape Verde. *FEMS Microbiol Lett.* 2010;312(2):192–200.
95. Smith SN. An overview of ecological and habitat aspects in the genus *Fusarium* with special emphasis on the soil-borne pathogenic forms. *Plant Pathol Bull.* 2007;16(3):97-120

96. Sun X, Wang K, Yu X, Liu J, Zhang H, Zhou F, *et al.* Transcription factor CCG-8 as a new regulator in the adaptation to antifungal azole stress. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(3):1434–42.
97. Taj-Aldeen S. Reduced multidrug susceptibility profile is a common feature of opportunistic *Fusarium* species: *Fusarium* multi-drug resistant pattern. *J Fungi.* 2017;3:18; doi:10.3390/jof3020018.
98. Támez-Peña A, González-González LA, López-Jaime GR, Rodríguez-García A. Endoftalmitis endógena por *Fusarium* spp. en un paciente con onicomycosis: reporte de un caso. *Rev Mex Oftalmol.*2010;84(2):122-26
99. Taylan Sekeroglu H, Erdem E, Yagmur M, Gumral R, Ersoz R, Ilkit M, *et al.* Successful Medical Management of Recalcitrant *Fusarium solani* Keratitis: Molecular Identification and Susceptibility Patterns. *Mycopathologia.* 2012;174(3):233–7.
100. Taylor JW. One Fungus = One Name: DNA and fungal nomenclature twenty years after PCR. *IMA Fungus.* 2011;2(2):113–20.
101. Tortorano AM, Prigitano A, Dho G, Esposto MC, Gianni C, Grancini A, *et al.* Species distribution and *in vitro* antifungal susceptibility patterns of 75 clinical isolates of *Fusarium* spp. from northern Italy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(7):2683–5.
102. Tupaki-Sreepurna A, Al-Hatmi AMS, Kindo AJ, Sundaram M, de Hoog GS. Multidrug-resistant *Fusarium* in keratitis: a clinico-mycological study of keratitis infections in Chennai, India. *Mycoses.* 2017;60(4):230–3.

103. van Diepeningen AD, Al-Hatmi AMS, Brankovics B, de Hoog GS. Taxonomy and Clinical Spectra of *Fusarium* Species: Where Do We Stand in 2014? *Curr Clin Micro Rpt.* 2014;1:10–8.
104. van Diepeningen AD, Feng P, Ahmed S, Sudhadham M, Bunyaratavej S, de Hoog GS. Spectrum of *Fusarium* infections in tropical dermatology evidenced by multilocus sequencing typing diagnostics. *Mycoses.* 2015;58(1):48–57.
105. Vanzzini Zago V, Manzano-Gayosso P, Hernández-Hernández F, Méndez-Tovar LJ, Gómez-Leal A, López Martínez R. QueratOMICOSIS en un centro de atención oftalmológica en la Ciudad de México. *Rev Iberoam Micol.* 2010;27(2):57–61.
106. Venturini TP, Rossato L, Spader TB, Tronco-Alves GR, Azevedo MI, Weiler CB, *et al.* *In vitro* synergisms obtained by amphotericin B and voriconazole associated with non-antifungal agents against *Fusarium* spp. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;71(2):126–30.
107. Walther G, Stasch S, Kaerger K, Hamprecht A, Roth M, Cornely OA, *et al.* *Fusarium* keratitis in Germany. *J Clin Microbiol.* 2017;55(10):2983–95.
108. Watanabe M, Yonezawa T, Lee K, Kumagai S, Sugita-Konishi Y, Goto K, *et al.* Molecular phylogeny of the higher and lower taxonomy of the *Fusarium* genus and differences in the evolutionary histories of multiple genes. *BMC Evol Biol.* 2011;11:322. doi:10.1186/1471-2148-11-322.
109. Zapater RC, Arrechea A. Mycotic Keratitis by *Fusarium*. *Ophthalmologica* 1975;170(1):1-12.
110. Zhai H, Xie L, Dong X. The roles of gelatinases in pathological changes of fungal keratitis in experimental rabbits. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi.* 2007;43(9):817–22.

111. Zhang N, O'Donnell K, Sutton DA, Nalim FA, Summerbell RC, Padhye AA, *et al.* Members of the *Fusarium solani* species complex that cause infections in both humans and plants are common in the environment. *J Clin Microbiol.* 2006;44(6):2186–90.

10. Anexo

Medios de cultivo

➤ Agar dextrosa Sabouraud para 1000 mL

Digerido pancreático de caseína	5.0 g/L
Digerido péptico de tejido animal	5.0 g/L
Dextrosa	40.0 g/L
Agar	15.0 g/L

Adicionar todos los ingredientes al agua destilada. Dejar rehidratar por unos minutos para después calentar hasta disolver completamente el agar. Esterilizar a 121°C por 15 minutos y vertir en placas de Petri en condiciones estériles.

➤ Agar extracto de malta para 1000 mL

Extracto de malta	30.0 g/L
Agar	15.0 g/L

Agregar los ingredientes al agua destilada. Dejar rehidratar y posteriormente calentar y disolver el agar completamente. Esterilizar a 121°C por 15 minutos. Vertir en placas de Petri en condiciones estériles.

➤ Agar Gorodkowa (modificado) para 1000 mL

Glucosa	1.0 g/L
Peptona	10.0 g/L
Cloruro de sodio	10.0 g/L
Agar	20.0 g/L

Añadir los ingredientes al agua destilada y dejar rehidratar. Llevar a ebullición hasta disolver el agar. Esterilizar por 15 minutos a 121°C. Vertir en placas de Petri estériles.

➤ Agar papa dextrosa para 1000 mL

Dextrosa	20.0 g/L
Infusión de papa	4.0 g/L
Agar	15.0 g/L

Añadir los ingredientes al agua destilada. Dejar rehidratar y llevar a ebullición hasta disolver el agar. Esterilizar por 15 minutos a 121°C. Vertir en placas de Petri en condiciones de esterilidad.

➤ RPMI 1640 para 1000 mL

RPMI 1640 10.4 g/L

Ácido morfolino propano sulfónico (MOPS) 34.5 g/L

Disolver por agitación el MOPS en agua Mili-Q. Agregar el RPMI 1640 y ajustar el pH a 7 con NaOH 1M. Estelizar por filtración mediante unidades filtro de 0.2 µm. Mantener a 4°C hasta su uso.