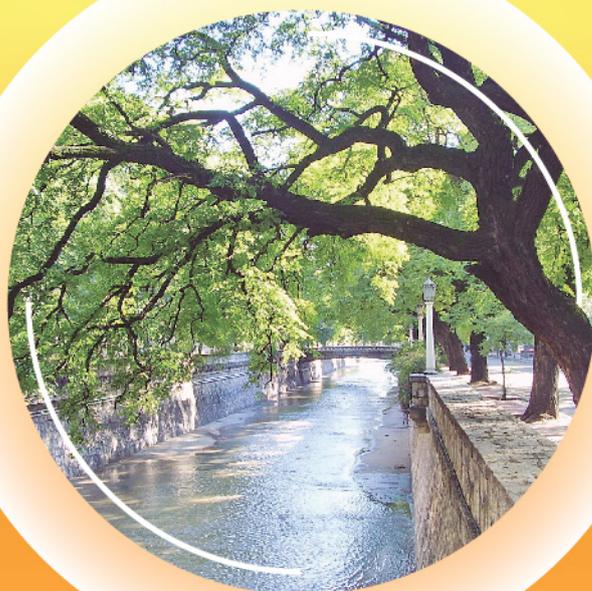


# Infocus 2015

5 AL 7 DE NOVIEMBRE 2015  
CÓRDOBA, ARGENTINA - HOLIDAY INN



**CÍRCULO  
MÉDICO DE  
CÓRDOBA**

Ciencia, Educación y Cultura

# ÍNDICE Y MARCADORES

## Trabajos a premio y menciones

- 7-• *“Identificación molecular de Aspergillus Sección Fumigati no fumigatus en Argentina”*
- 8-• *Infección por hongos filamentosos en pacientes quemados en una Unidad de Cuidados Intensivos*
- 9-• *Fusarium infections in a pediatric burn unit: A nine-year experience.*
- 10-• *The dual role of T helper 17-mediated immune response during experimental dermatophytosis.*
- 11-• *ESPOROTRICOSIS, UNA ZOONOSIS EN ALERTA*
- 12-• *Genotipificación de Cryptococcus spp. aislados de pacientes con criptococosis diseminada: 22 años*

## 1. Antifúngicos

- 14-• *Actividad antifúngica fotosensibilizante de Porophyllum Obscurum: producción de especies reactivas de oxígeno e inhibición de factores de virulencia*
- 15-• *Evaluación in vitro de la actividad antifúngica y antibacteriana de nuevos derivados azólicos con metales de transición*
- 16-• *Identificación molecular del complejo Candida parapsilosis en muestras provenientes de sangre.*
- 17-• *Caracterización microbiológica de candidemias de 24 centros pertenecientes a la Red colaborativa de candidemias (agosto2013-julio 2015)*
- 18-• *Evaluación de combinaciones de antifúngicos frente a Mucormycetes*
- 19-• *Aspergilosis: distribución de especies y sensibilidad frente a antifungicos.*
- 20-• *Método cromatográfico para la valoración de voriconazol en suero: Un aporte en el tratamiento de infecciones micóticas*
- 21-• *La resistencia intrínseca de A. fumigatus a fluconazol se relaciona con el polimorfismo natural Thr301Ile presente en Cyp51Ap.*
- 22-• *Clonación y caracterización de los genes que codifican las enzimas 14 alfa esterol demetilasa (blanco de los azoles) de especies de dermatofitos.*
- 23-• *Aspergillus fumigatus resistente a itraconazol con una sustitución G54E en Cyp51Ap. Primera descripción en Sudamérica.*
- 24-• *El tamaño de la cápsula de Cryptococcus neoformans altera los diámetros de inhibición por fluconazol.*
- 25-• *Perfil de sensibilidad de levaduras de aislamiento poco frecuente causantes de fungemias*
- 26-• *Aceite esencial de Lippia alba quimiotipo Citral: actividad antifúngica in vitro frente a aislados de Fusarium spp. recuperados de muestras clínicas*
- 27-• *Actividad in vitro de aceites esenciales extraídos de plantas aromáticas frente a Candida spp., de origen clínico*
- 28-• *Sensibilidad a anidulafungina en Candida spp: evaluación del rendimiento del Etest con Rpmi y con Agar Mueller Hinton.*
- 29-• *Caracterización fenotípica y molecular de la resistencia a las equinocandinas en aislamientos clínicos del complejo Candida glabrata. Período 1984-2014*
- 30-• *Candidiasis Invasoras: determinación de la susceptibilidad a Fluconazol y Anfotericina B*

## 2. Diagnóstico micológico

- 32-• *Determinación de galactomanano en material respiratorio en el diagnóstico de aspergilosis pulmonar invasiva*
- 33-• *Micosis notificadas en Argentina durante el año 2012*
- 34-• *Relevamiento de candida africana en muestras de flujo vaginal*
- 35-• *Úlcera de Cornea por Fusarium spp.*
- 36-• *Técnica rápida y sencilla para la extracción y amplificación del ADN de Dermatofitos*
- 37-• *Feline sporotrichosis: evaluation of cytopathology and fungal isolation during treatment with itraconazole*
- 38-• *Evaluación de la utilidad de Lateral flow device en el diagnóstico de Aspergilosis Invasora.*
- 39-• *Relevamiento de las micosis diagnosticadas en un Laboratorio de Asistencial de Rosario, período 2010-2015.*
- 40-• *Entomofetromicosis causada por Conidiobolus sp. en paciente diabética*
- 41-• *Devastador daño ocular por coinfección de Fusarium solani y Acanthamoeba sp.*

- 42-• *Aislamiento e Identificación de Levaduras en Queratopatías.*
- 43-• *Micosis diagnosticadas en el Hospital Nacional Posadas en dos períodos: año 2000 y 2011*
- 44-• *Producción de antígenos recombinantes para el diagnóstico serológico de histoplasmosis*
- 45-• *Prevalencia de histoplasmosis, neumocistosis, criptococosis y paracoccidioidomicosis en una cohorte de pacientes con sospecha clínica de infección fúngica invasora (IFI) y concordancia entre métodos de diagnóstico.*
- 46-• *Evaluación del sistema BDPhoenix™ para la identificación de las especies más frecuentes del género Candida aisladas de muestras clínicas*
- 47-• *Utilidad de un equipo de ELISA para la detección de antígeno de Histoplasma en pacientes con sida*
- 48-• *Caracterización molecular de cepas de Cryptococcus spp aisladas de casos de meningoencefalitis*
- 49-• *Candidemias y candidiasis invasora, características clínicas, epidemiológicas y perfil de sensibilidad*
- 50-• *Evaluación de métodos de pcr para detección de ADN de histoplasma capsulatum en muestras de orina de pacientes con sida: estudio piloto*
- 51-• *Antigenuria para histoplasma capsulatum como método diagnóstico en pacientes con infección avanzada por HIV*
- 52-• *Polyclonal antibodies to soluble antigens from Paracoccidioides brasiliensis and P. lutzii and levels of serum antigens in Paracoccidioidomycosis*
- 53-• *Higher IgE reactivity of High Molecular Mass antigen from Paracoccidioides lutzii than P. brasiliensis in human chronic Paracoccidioidomycosis*
- 54-• *Identificación a nivel de especie de aislados del género fusarium recuperados de muestras clínicas*
- 55-• *Diagnóstico Molecular de Infección Fúngica Invasora causada por hongos miceliales: estudio multicéntrico*
- 56-• *Micosis sistémica por Inonotus tropicalis en un perro doméstico*
- 57-• *Evaluación de dos técnicas de PCR para detectar ADN de Histoplasma capsulatum en muestras clínicas*
- 58-• *Creación de una base de datos in-house para la identificación de levaduras de interés médico por la plataforma MALDI-TOF de Bruker.*

### 3. Micosis endémicas

- 60-• *Comparative study of Itraconazole plus Potassium iodide on refractory and treatment-naïve feline sporotrichosis.*
- 61-• *Cobertura diagnóstica de micosis superficiales en los laboratorios públicos de una provincia*
- 62-• *Casos de micetoma en un hospital de Santiago del Estero, República Argentina*
- 63-• *Diversidad genética de aislamientos en Histoplasma capsulatum circulantes en Argentina por multilocus sequence typing.*
- 64-• *Coccidioidomycosis en Santiago del Estero*
- 65-• *Histoplasmosis en sistema nervioso central. Paraparesia en huésped inmunocompetente.*
- 66-• *Situación de la histoplasmosis en pacientes VIH/Sida en los últimos 5 años*
- 67-• *Feline histoplasmosis: a case report in a hyperendemic area of sporotrichosis*
- 68-• *Feline sporotrichosis: evaluation of the therapeutic response to sodium iodide in capsules*
- 69-• *Neurohistoplasmosis: A propósito de un caso*
- 70-• *Emergence of juvenile paracoccidioidomycosis in Northeast Argentina*
- 71-• *Manifestaciones cutáneas poco frecuentes de la paracoccidioidomycosis*
- 72-• *Coccidioidomycosis con formas miceliales en tejido pulmonar*
- 73-• *Paracoccidioidomycosis en Sistema Nervioso Central*
- 74-• *NEUROPARACOCCIDIOIDOMICOSIS*
- 75-• *Impaired cytokine transcription levels in cats with sporotrichosis coinfecting with Feline leukemia virus*
- 76-• *Histoplasmosis en pacientes con sida sin manifestaciones tegumentarias*
- 77-• *Galleria mellonella como modelo de infección por hongos dimórficos*
- 78-• *Especies filogenéticas de Histoplasma capsulatum circulantes en Argentina*
- 79-• *Perforación intestinal por Histoplasmosis en una persona con infección VIH/Sida*
- 80-• *Micose de implantação. Relato de Caso.*
- 81-• *Adenopatías generalizadas en un varón infectado con VIH/SIDA*

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

- 84-• *Síndrome hemofagocítica asociada à histoplasmosis como primeira manifestação de síndrome da imunodeficiência adquirida- AIDS*
- 85-• *Enfermedad fúngica invasiva en pacientes lúpicos: experiencia en un Hospital Público de la Ciudad de La Plata*
- 86-• *Anfotericina B + rifampicina: eficacia en un caso de criptococosis meníngea en paciente HIV+*
- 87-• *Infecciones fúngicas invasivas (IFI) por hongos filamentosos en pacientes oncohematológicos:*
- 87-• *Nuestra experiencia en la última década*
- 88-• *Cerebral Aspergillosis : Report of 2 cases with favorable response to voriconazole and neurosurgery*
- 89-• *Infección fúngica invasiva Rino-Sinusal en pacientes Onco-Hematológicos*
- 90-• *Meningitis Criptocócica en una paciente con Lupus Eritematoso Sistémico*
- 91-• *Prototecosis en paciente con histoplasmosis y leucemia linfocítica de células T*
- 92-• *Endocarditis infecciosa secundaria a Aspergillus fumigatus en paciente trasplantado renal. Reporte de un caso clínico.*
- 93-• *Infección suprarrenal por Histoplasma capsulatum en paciente diabético. Reporte de caso*
- 94-• *Feohifomicosis en pacientes oncohematológicos*
- 95-• *Análisis epidemiológico en un servicio de oncohematología*
- 97-• *Mucormycosis: a report case*
- 98-• *Criptococosis por Cryptococcus gattii en paciente con púrpura trombocitopénica idiopática*
- 99-• *Coinfección por Cryptococcus neoformans y Nocardia abscessus en paciente con VIH/sida: relato de un caso.*
- 100-• *Rinosinusitis por Sarocladium implicatum en paciente con leucemia mieloide aguda*
- 101-• *“Histoplasmosis diseminada con orquiepididimitis en paciente con VIH-sida: comunicación de un caso”*
- 102-• *Coinfección por Cryptococcus neoformans y Nocardia abscessus en paciente con VIH/sida: relato de un caso.*
- 103-• *Mediastinitis por Candida parapsilosis asociada a trasplante cardíaco*
- 104-• *Fungemia por Saprochaete clavata en un paciente con Leucemia Linfoblástica fenotipo B.*
- 105-• *HISTOPLASMOSIS DISEMINADA CON COMPROMISO ÓSEO EN PACIENTE HIV: primer reporte en Argentina*
- 106-• *Infección fúngica invasiva en pacientes onco-hematológicos en un hospital general*
- 107-• *Correlación de la susceptibilidad in vitro y virulencia in vivo en Galleria mellonella de aislados clínicos de Candida glabrata.*
- 108-• *Mucormicosis en un paciente con infección por VIH.*
- 109-• *Candidemia y fusariosis diseminada de brecha en paciente con leucemia mieloide aguda y neutropenia severa.*
- 110-• *Lesión ocupante de espacio cerebral en paciente con sida*
- 111-• *Eumicetoma por madurella grisea en un paciente trasplantado renal*
- 112-• *Histoplasmosis cutánea en pacientes pediátricos*
- 113-• *Infecciones Fúngicas Invasivas (IFI) en pacientes con trasplante hepático: experiencia de 5 años en un centro de Argentina*
- 114-• *Variedades predominantes de Cryptococcus neoformans y formación de biopelículas en pacientes con trasplante de órgano sólido*
- 115-• *Candidiasis diseminada crónica en pacientes pediátricos con Leucemia*
- 116-• *Infección de sistema nervioso central por Cryptococcus gattii en paciente inmunocompetente: desafíos diagnósticos y terapéuticos en un Centro Terciario de Referencia de Paciente Internacional en Santiago de Chile.*
- 117-• *Virulencia de hongos levaduriformes recuperados de mucosa oral en pacientes oncológicos con candidiasis. Comparación con otras poblaciones.*

#### 5. Infecciones intrahospitalarias producidas por hongos

- 119-• *Epidemiología de la candidemia en Colombia: Resultados de la Red Latinoamericana de Micosis Invasivas*
- 120-• *Factors associated with the development of candidemia: Bloodstream infection caused by Candida spp. versus other agents in Hospital Universitário do Oeste do Paraná*
- 121-• *Epidemiología de la candidiasis invasora en un centro de alta complejidad*
- 122-• *Analysis of cases of candidemia in a cancer hospital in the West of Paraná State/Brazil*
- 122-• *between January 2014 and September 2015*

- 123-• *Candidiasis invasora en niños hospitalizados en el Hospital Roberto del Rio*
- 124-• *Factores de riesgo predictivos de candidemia en una población de adultos mayores.*
- 125-• *Brote de Candida metapsilosis en un hospital pediátrico.*
- 126-• *Estudio de Candidemia en Córdoba Argentina*
- 127-• *Risk factors for persistent candidemia*
- 128-• *Non-albicans Candida is a risk factor for breakthrough candidemia*
- 129-• *Experiencia en candiduria en pacientes de un Hospital General*
- 130-• *Candidemia por C. parapsilosis un Problema Endémico en la Seguridad Social*
- 131-• *Distribución, sensibilidad a antifúngicos y biopelículas del complejo parapsilosis en candidemia hospitalaria.*
- 132-• *C. parapsilosis con lento crecimiento: ¿nueva variante de la especie?*
- 133-• *Sensibilidad a los Antifúngicos de las Especies Candida Aisladas en Hemocultivo*

## 6. Micología general

- 135-• *“Infección Necrotizante de partes blandas por Aureobasidium pullulans, en paciente Inmunocompetente”.*
- 136-• *A Multi-centric Study of Candida Bloodstream Infection in Lima, Peru, Describing its Species Distribution, Antifungal Resistance and Clinical Outcomes*
- 137-• *Estudio de la epidemiología molecular de levaduras del complejo Candida parapsilosis en Argentina mediante la caracterización genómica y proteómica de aislamientos clínicos circulantes en el país.*
- 138-• *Cobertura diagnóstica de micosis superficiales en los laboratorios públicos de una provincia*
- 139-• *Immunological and histopathological characterisation of cutaneous candidiasis*
- 140-• *Vigilancia activa de candidemia en la edad pediátrica en 9 hospitales de un país latinoamericano*
- 141-• *Distribución de especies y perfil de sensibilidad de Candida spp en un centro de alta complejidad.*
- 142-• *Pacientes con Candida en el cultivo de la punta del cateter y hemocultivos negativos*
- 143-• *Infección Protésica de Cadera producida por Candida albicans productora de biofilm.*
- 144-• *Estudio epidemiológico de las fungemias en hospitales del nodo Rosario*
- 145-• *Factores de patogenicidad de diferentes especies de Candida*
- 146-• *Gestión de calidad en Red de Micología.*
- 147-• *Estudio de la virulencia de mutantes de Candida glabrata defectivos en genes FKS utilizando el invertebrado Galleria mellonella como modelo de infección.*
- 148-• *Candidemia, estudio multicéntrico a lo largo de 10 años en la Ciudad de Buenos Aires*
- 149-• *Experiencia en Fungemia por Cándida en un hospital polivalente*
- 150-• *Infección rinosinusal por Scedosporium apiospermum en una paciente inmunocompetente.*
- 151-• *Reidentificación de aislamientos de Debaryomyces hansenii mediante secuenciación, MALDI-TOF y análisis de la sensibilidad a los antifúngicos*
- 152-• *Importancia de la oportunidad diagnóstica en micología, por equipo multidisciplinario en un Hospital General*
- 153-• *Estudio local de distribución de especies, capacidad formadora de biofilm y resistencia molecular a equinocandinas en pacientes con candidemias*
- 154-• *Candida africana: caracterización bioquímica, molecular y capacidad patogénica in vivo*
- 155-• *Humoral immune response to Paracoccidioides lutzii antigens in experimental paracoccidioidomycosis in mice*
- 156-• *Neurocandidiasis: rol del inflammasoma NALP3 en la respuesta inflamatoria mediada por IL-1beta durante la infección sistémica con Candida albicans*
- 157-• *Zoonosis micóticas asociadas a conejos*
- 158-• *Especies levaduriformes aisladas de pacientes pediátricos hospitalizados*
- 159-• *Peritonitis por Chrisonyia en una paciente con enfermedad renal crónica en diálisis peritoneal.*
- 160-• *Infección fúngica osteoarticular durante el período 2000-2015*
- 161-• *Efeito da ozonioterapia de baixo custo sobre Candida*

# **Trabajos a premio y menciones**

# Primer premio

## 6. Micología general

### “Identificación molecular de *Aspergillus* Sección Fumigati no fumigatus en Argentina”

**Hevia A., Abrantes R.A., Fernández J., Davel G., Refojo N.**

#### **Introducción**

La Aspergilosis es una infección fúngica causada por hongos del género *Aspergillus*. La especie morfológica más frecuentemente asociada a infecciones humanas es *Aspergillus fumigatus*. Sin embargo, la Sección Fumigati hoy contiene 11 especies morfológicamente indistinguibles, muchas de las cuales han sido reportadas como agentes de aspergilosis que, en algunos casos, pueden ser refractarias al tratamiento antifúngico. Este es el caso de *A. udagawae*, *A. lentulus* y *A. pseudofischeri*.

#### **Objetivo**

Conocer las especies de *Aspergillus* Sección Fumigati diferentes de *fumigatus* circulantes en Argentina, conservadas en la colección de Cultivos del Departamento Micología DMic entre 1984 y la actualidad.

**Materiales y métodos:** Se re-identificaron todos los aislados conservados como *Aspergillus fumigatus* en la colección DMic entre 1984 y 2015. Se estudió sus caracteres morfológicos y su capacidad de crecimiento a 50°C. Todos los aislados que no crecieron a esa temperatura, se identificaron por Multi Locus Sequence Typing (MLST) con las secuencias de los genes ITS, Beta Tubulina y Calmodulina. Para el análisis filogenético, se utilizaron secuencias de cepas tipo extraídas de Genbank. El mismo se realizó con el software MEGA 5.0, utilizando la técnica de Neighbour Joining con el modelo Kimura de 2 parámetros y un Bootstrap de 2000.

#### **Resultados**

Se estudiaron 161 aislamientos de *Aspergillus* Sección Fumigati, de los cuales 28 presentaron ausencia de crecimiento a 50 °C. De ellos, 8 fueron identificados como *Aspergillus fumigatus*, 12 como *A. udagawae* y los 8 restantes se identificaron como *A. hiratsukae*, *A. lentulus*, *A. fumigatiaffinis* y *A. pseudofischeri* (a razón de dos aislados cada uno).

#### **Conclusiones**

Estos resultados sugieren que cerca del 20% de los aislamientos identificados morfológicamente como *Aspergillus fumigatus* pueden ser otras especies, siendo *A. udagawae* como la especie críptica más frecuente en la sección, luego de *A. fumigatus*. Es de particular importancia la confirmación de la circulación de *Aspergillus lentulus* en un aislamiento del año 2009, cuya aparición en Argentina fue documentada en el mismo año por Montenegro y cols. A la luz de los cambios taxonómicos de la Sección Fumigati en la última década, estos resultados permiten determinar qué especies de la Sección Fumigati, además de *A. fumigatus*, están circulando en Argentina resaltando la importancia que la identificación molecular puede adquirir a la hora de instaurar un correcto tratamiento antifúngico.

**Palabras claves:** *Aspergillus fumigatus*, Identificación molecular, Aspergilosis, MLST

# Segundo premio *(compartido)*

## 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

### Infeción por hongos filamentosos en pacientes quemados en una Unidad de Cuidados Intensivos

**Spesso M.F., Aiassa S., Garutti. A., Carballo M., Dotto G.**

#### **Introducción**

Las infecciones son las complicaciones más frecuentes en los pacientes quemados ya que su inmunidad celular y humoral se encuentra seriamente comprometida. Si bien las infecciones por bacterias continúan ocupando el primer lugar, la ruptura extensa de las barreras anatómicas, el uso de antibióticos de amplio espectro y la internación prolongada, favorecen las causadas por hongos filamentosos.

#### **Objetivo**

Evaluar la prevalencia de la infección fúngica por hongos filamentosos en la unidad de terapia intensiva de quemados (UTIQ) (periodo 2012-2015). Revisar algunas características clínicas, epidemiológicas, microbiológicas y evolución de estos pacientes. Conocer la frecuencia de distribución de las especies fúngicas aisladas.

**Materiales y métodos:** estudio retrospectivo y descriptivo: se revisaron las historias clínicas de los pacientes ingresados en UTIQ, entre agosto de 2012 y agosto de 2015, con cultivo positivo para hongos filamentosos en muestras obtenidas de biopsias de piel y escaras. Se obtuvieron datos demográficos de los pacientes seleccionados, causa, evolución y características clínicas de sus quemaduras; así como datos microbiológicos. Se utilizaron métodos estadísticos univariados y valores/porcentajes para datos categóricos.

#### **Resultados**

Un total de 168 de pacientes ingresaron en la UTIQ en un período de 3 años; 29 desarrollaron infecciones por hongos filamentosos con una prevalencia del 17% (29/168). Hubo 8 pacientes excluidos por no presentar datos suficientes, por lo que no serán considerados en el análisis estadístico (n=21). El 62% de los pacientes infectados fueron mujeres y el 38% varones, con edad promedio de 40 años. Las causas de las lesiones fueron: accidentes domésticos (11), autoagresión (7), accidentes laborales (2), accidente de tránsito (1). El promedio de superficie corporal quemada fue 31% y el 95% presentó entre 1 y 4 infecciones bacterianas además de la infección fúngica en piel.

Se recuperaron 29 hongos filamentosos (93% de exámenes microscópicos positivos): *Aspergillus* sp (24%), *Fusarium* sp (14%), *Mucor* sp (3%) y diversos géneros de hongos negros (58%).

El 24% de los pacientes infectados falleció: 3/6 fusariosis, 1/7 aspergilosis y 3/21 feohifomicosis. La causa de la muerte en todos los casos fue shock cardiogénico irreversible con falla multiorgánica.

#### **Conclusiones**

La infección por hongos filamentosos se presentó en el 17% de los pacientes quemados, valor que se asemeja a lo publicado en nuestro país, pero muy por encima de la prevalencia en países europeos. El 90% de los pacientes infectados, fueron grandes quemados, con más del 20% de su superficie corporal afectada. Los principales hongos causantes de infección fúngica fueron dematiáceos (58%), seguidos por *Aspergillus* sp. (24%), *Fusarium* sp. (14%) y *Mucor* sp. (3%), lo cual difiere de la bibliografía, donde *Aspergillus* y *Fusarium* son los más importantes. La mortalidad entre los pacientes fue del 24%, siendo *Fusarium* el hongo hallado en el mayor número de muertes (50%). Esto coincide con las publicaciones de otros autores, aunque la mortalidad asociada a especies varía de un estudio a otro. Se desconoce qué rol juegan las infecciones fúngicas en la mortalidad de estos pacientes, ya que no se investigó la infección fúngica invasora.

**Palabras claves:** hongos filamentosos, pacientes quemados, infección fúngica.

# Segundo premio *(compartido)*

## 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

### Fusarium infections in a pediatric burn unit: A nine-year experience.

**Rosanova MT, Brizuela M, Villasboas M, Quarracino F, Alvarez V, Berberian G; Sarkis C; Santos P, Finquelievich J.**

Servicio de Control Epidemiológico e Infectología- Microbiología Hospital J P Garrahan- Buenos Aires -Argentina

#### **Introduction**

Fusarium species are ubiquitous fungi and recognized as agents of human mycotic as well as opportunistic infections. Frequently, superficial and deep-tissue involvement and dissemination occur in immunocompromised hosts with hematologic malignancies, aplastic anemia, and chemotherapy treatment. With the prolonged survival of severely burned patients, fungal infections have become more common and Fusarium spp can produce severe infections in this population. The literature on Fusarium sp infections in burn pediatric patients is scarce. Objective: To describe clinical and epidemiological features and outcome of 15 cases of fusariosis in pediatric burn patients.

#### **Material and Methods**

A retrospective, descriptive study of Fusarium spp infections in a specialized pediatric intensive care unit from January 2006 to March 2015.

Results. A total of 15 patients developed Fusarium spp infections. Median age of patients was 48 months (interquartile range, 12-108 months) and the affected burn surface was 45% (interquartile range, 30-60%). Twelve patients (80%) had a full thickness burn.

The median time lapse between admission and fungal infection was 11 days (interquartile range, 4-24 days). The most frequent isolation site was the burn wound in 14 patients (93%) and bone in 1 patient (7%). In 13 patients (87%) bacterial infections were also found. Amphotericin B was the drug of choice followed by voriconazole. Median time of complete treatment was 23 days (interquartile range: 17-35 days). No drug-related adverse effects were reported. The combination of medical monotherapy with voriconazole or amphotericin B and surgery with removal of focal lesions was effective in all cases. None of the patients died of fungal-infection-related causes.

#### **Conclusion**

Fusarium spp is an uncommon pathogen in severely burned patients. The combination of medical monotherapy with voriconazole or amphotericin B and surgery was effective in such cases. None of the patients died.

# Tercer premio

## 6. Micología general

### The dual role of T helper 17-mediated immune response during experimental dermatophytosis.

**Burstein V.L., Theumer MG, Guasconi L., Mena C., Herrero M, Masih D.T., Chiapello L. S.**

Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. CIBICI-CONICET. Córdoba, Argentina.

Dermatophytosis is one of the most common superficial mycoses worldwide. It is caused by highly pathogenic keratinophilic fungi that invade the epidermis and cause mild to inflammatory lesions, depending on fungi and host factors.

Despite its prevalence, there is not much knowledge about the host inflammatory and immune response to dermatophytes. It is known that a Th1 response is involved in the resolution of the infection however the Th17 response, reported to be crucial not only in barrier defense but also in antifungal response, has not been investigated in the dermatophytosis context yet.

The aim of this study was to develop an experimental model of epicutaneous dermatophytosis with *Microsporum canis* in mice, to characterize the in vivo immune response and to determine the role of interleukin-17 (IL-17) in the antifungal immunity.

Wild type (WT) and IL-17RA<sup>-/-</sup> (KO) C57BL/6 mice were infected with *M. canis* UNCMc01 hyphae. Histopathological analysis, skin fungal burden (HPLC ergosterol quantification) and extracutaneous fungal dissemination were determined at 4, 8, 18 and 45 days post-infection (d.p.i). Skin draining lymph nodes (sdLN) cells restimulated in an antigen specific manner and infiltrating cells in skin were analyzed by flow cytometry and their cytokine production by ELISA. T-student test or ANOVA were used for statistical analysis.

WT and KO mice developed a superficial mycosis that mimics human tinea that is resolved by 18 d.p.i. and is characterized by a significant increase of neutrophil infiltrate in the skin and IL-17A/F production by CD4<sup>+</sup> T cells of sdLN by 8 d.p.i., respect to uninfected mice. Despite IL-17RA KO mice resolved infection, they showed severe inflammatory skin lesions with a significant higher fungal burden respect to infected WT mice ( $p < 0,0027$ ). They also showed a significant increase in IFN- $\gamma$  production ( $p < 0,004$ ) in sdLN that was sustained until 45 d.p.i. Although no extracutaneous fungal dissemination was detected, IL-17RA KO mice had a decrease in survival rate.

These results are the first to demonstrate the importance of IL-17 in dermatophytosis and that Th17 response has a dual role: controlling antifungal immunity in skin and also restraining the Th1 inflammation-mediated tissue damage of the host.

This data allow us to hypothesize that IL-17 could be one of the main host factors that influence inflammation and clinical evolution of skin fungal infections.

#### **Key words**

Immunity/ T helper 17 immunity, skin, superficial mycoses.

# Primera mención

## 6. Micología general

### ESPOROTRICOSIS, UNA ZOONOSIS EN ALERTA

**Fernández N<sup>1</sup>, Iachini R<sup>2</sup>, Farias L<sup>1</sup>, Pozzi N<sup>1</sup>, Tiraboschi I<sup>1</sup>.**

1.Division Infectología Hospital de Clínicas JSM UBA. 2. Instituto de Zoonosis "Luis Pasteur" Buenos Aires, Argentina

#### **INTRODUCCION**

La esporotricosis es una micosis por implantación de curso subagudo producida por hongos del complejo *Sporothrix schenckii* que afecta la piel y los ganglios linfáticos. La infección se produce generalmente por penetración del hongo a través de traumatismo con materiales vegetales. En los últimos años se ha descrito una situación epidémica en Brasil de esporotricosis relacionada con el contacto con gatos. Motiva el presente trabajo la comunicación de cuatro casos humanos relacionados a gatos enfermos de esporotricosis.

Se presentan 4 casos de pacientes que viven en el noroeste del conurbano de la ciudad de Buenos Aires con esporotricosis confirmada a partir del contacto con gatos domésticos infectados entre 2011 y 2014.

**Caso 1.** Varón de 35 años, presenta dos placas eritematosas en ambas manos y múltiples nódulos en el trayecto linfático, adenopatías axilares y una lesión en pierna izquierda, luego de recibir arañazos y mordeduras al curar a su gato doméstico que presentaba lesiones ulceradas en región cefálica. Se realizó punción de piel de la lesión de las manos y de uno de los nódulos de antebrazo del paciente.

**Caso 2.** Mujer de 67 años, presenta chancro de inoculación en el inicio del brazo derecho y 6 nódulos subcutáneos en el trayecto linfático. Convive con gatos que presentaban lesiones en miembros anteriores y región cefálica. Uno de ellos, una hembra, con lesiones ulcerativas supuradas comunicadas por el tejido subcutáneo desde las falanges hasta la región del codo con adenopatía axilar. Se realiza escarificación de chancro del dorso de brazo del paciente, punción/aspiración del ganglio y de las lesiones de piel de la gata.

**Caso 3.** Varón de 67 años, presenta 2 lesiones en muslo derecho, de inicio simultáneo al de la esposa (caso 2) La gata descrita en el caso anterior arañaba la región del muslo en señal de pedido de alimento. Se escarificó la lesión del muslo.

**Caso 4.** Mujer de 50 años con lesiones en brazo de 2 meses de evolución, convive en forma estrecha con un gato en tratamiento por lesiones ulcerativas, costrosas sangrantes en el puente nasal de inicio previo a los síntomas de la paciente. Se tomaron muestras de la lesión del brazo de la paciente y de la lesión nasal del gato.

#### **EXÁMENES COMPLEMENTARIOS**

El examen directo en fresco fue negativo en todas las muestras de los pacientes, mientras que en las muestras tomadas a los gatos se observan abundantes levaduras algunas alargadas en forma de cigarro características de *Sporothrix*. Todas las muestras tuvieron desarrollo de colonias del complejo *Sporothrix schenckii*. Los pacientes recibieron tratamiento por 4 meses, con itraconazol (casos 2, 3 y 4) o yoduro de potasio (caso 1). Todos los pacientes tuvieron curación clínica. En cuanto a los gatos, el del caso 1 desapareció, una de los casos 2 y 3 fue eutanasiada y los demás tuvieron resolución clínica con itraconazol.

#### **CONCLUSIONES**

La esporotricosis, tradicionalmente relacionada con lesiones traumáticas con vegetales, tiene ahora al contacto con gatos enfermos como principal fuente de infección. En estos se observaron abundantes levaduras en el examen directo (observación muy infrecuente en los pacientes humanos). Tanto las personas afectadas como sus mascotas tienen buena respuesta al tratamiento.

**PALABRAS CLAVES:** Esporotricosis, zoonosis, hombre, gato doméstico

# Segunda mención

## 6. Micología general

### Genotipificación de *Cryptococcus* spp. aislados de pacientes con criptococosis diseminada: 22 años

**Santiso G., Marin E., Romero M., Depardo R., Messina F., Arechavala A.**

Unidad Micología, Hospital de Infecciosas F. J. Muñiz, Buenos Aires, Argentina

#### **Introducción**

La criptococosis es una micosis grave causada por levaduras capsuladas del género *Cryptococcus*. Este hongo afecta principalmente pacientes inmunodeprimidos, más frecuentemente enfermos VIH+. Actualmente, en nuestra institución, se observa que entre el 7 y el 8% de los pacientes internados con sida presentan criptococosis diseminada. Existen alrededor de 70 especies pero solamente dos de ellas son patógenas para el hombre: *Cryptococcus neoformans* (y *Cryptococcus gattii*). *C. neoformans* presenta dos variedades: *C. neoformans* var. *grubii*, que produce el 95% de las infecciones en todo el mundo y *C. neoformans* var. *neoformans*, más frecuente en algunas regiones de Europa.

Actualmente, se reconocen 8 genotipos principales de este complejo: tipos VNI y VNII (*C. neoformans* var. *grubii*), tipo VNIII (*C. neoformans*), tipo VNIV (*C. neoformans* var. *neoformans*) y los tipos VGI, VGII, VGIII y VGIV (*C. gattii*). Si bien la prevalencia de los tipos genéticos varía según la localización geográfica, *C. neoformans* var. *grubii* VNI es el genotipo más prevalente en todo el mundo.

#### **Objetivo**

Conocer la prevalencia de los diferentes genotipos del complejo *C. neoformans/C. gattii* en aislamientos obtenidos en la Unidad Micología de nuestro hospital.

**Materiales y métodos.** Se estudiaron 135 cepas de *Cryptococcus*, elegidas aleatoriamente, de un total de 4383 aislamientos de materiales clínicos de pacientes con criptococosis diseminada atendidos en nuestra institución entre 1993 y 2015. Se realizó extracción de ADN a partir de cultivos de 24-48 h en agar Sabouraud incubados a 28 °C. Se realizó PCR-RFLP: amplificación con primers URA 5 y SOJ 1 y posterior corte con enzimas de restricción: HhaI y Sau96I.

#### **Resultados**

De las 135 cepas, pertenecientes a 104 pacientes, 122 fueron VNI, correspondientes a 95 pacientes (91,5%), 2 VNII de 2 pacientes (1,9%), 5 VNIII de 2 pacientes (1,9%), 2 VNIV de 2 pacientes (1,9%), 1 VGI (0,96%), 2 VGII de 1 paciente (0,96%) y 1 VGIII (0,96%).

#### **Conclusiones**

En concordancia con lo comunicado en la literatura se observó que el VNI, fue el genotipo más frecuente: 90,4% de los aislamientos estudiados correspondientes al 91,5% de los pacientes incluidos en este estudio, todos ellos con criptococosis diseminada asociada al sida. Los genotipos VGI, VGII y VGIII pertenecían a criptococosis en enfermos VIH negativos.

# 1. Antifúngicos

## 1. Antifúngicos

# Actividad antifúngica fotosensibilizante de *Porophyllum Obscurum*: producción de especies reactivas de oxígeno e inhibición de factores de virulencia

**Postigo, A.,<sup>1</sup> Petenatti, E.,<sup>2</sup> Pacciaroni, A.,<sup>3</sup> Bottai, H.,<sup>4</sup> Zacchino, S.,<sup>1</sup> y Sortino, M.<sup>1</sup>**

1 Farmacognosia, Fac. Cs. Bioq. y Farm., UN Rosario, 2 Herbario, UN San Luis, 3 Fac Cs. Qcas., UN Córdoba, 4 Estadística y Procesamiento de Datos, Fac. Cs. Bioq y Farm, UN Rosario

La Quimioterapia Fotodinámica Antimicrobiana (QTFA) es una alternativa terapéutica para el tratamiento de micosis que utiliza moléculas fotosensibilizantes (FS) y luz para producir especies reactivas de oxígeno (EROs) que destruyen patógenos microbianos pudiendo afectar a factores de virulencia de *Candida albicans* tales como la capacidad de adherencia a células epiteliales y la formación de tubos germinativos.

Es sabido que algunas plantas producen FS como protección frente a patógenos y predadores. Dentro de un proyecto de búsqueda de FS naturales no tóxicos, estudiamos *Porophyllum obscurum* (Spreng) DC., cuyo extracto hexánico (PoHex) había demostrado poseer una importante actividad antifúngica [Concentración Fungicida Mínima (CFM) = 0,98 µg/mL] bajo irradiación con luz UV-A.

### **Para profundizar este estudio, los objetivos del presente trabajo fueron:**

- evaluar si el efecto antifúngico observado se debe a un incremento de la producción de EROs: peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), anión superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) y oxígeno singlete (1O<sub>2</sub>)
- analizar si la acción de FS y luz influye sobre la producción los factores de virulencia de *C. albicans*: adherencia y formación de tubo germinativo

La producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se determinó colorimétricamente a 505 nm por la generación de una quinona coloreada por reacción con fenol y 4-aminofenazona en presencia de peroxidasa. La producción de O<sub>2</sub><sup>-</sup> se midió indirectamente por la reducción de Nitro Blue Tetrazolium (NBT) a 575 nm. La producción de 1O<sub>2</sub> se midió a través de un ensayo indirecto por la descomposición de 1,3-difenilisobenzofurano (DFBF). La adherencia se evaluó por microscopía óptica cuantificando el número de levaduras adheridas a 100 células epiteliales. La formación de tubo germinativo se realizó por incubación de las levaduras durante 2 h a 37 °C y posterior observación por microscopía confocal con blanco de calcoflúor. En todos los casos se compararon los resultados obtenidos en presencia de FS y luz (F+L+) con controles [FS sin luz (F+L-), luz sin FS (F-L+) y sin tratamiento (F-L-)] empleando métodos estadísticos adecuados.

### **Los resultados mostraron que:**

- PoHex (F+L+) generaba H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>-</sup> y 1O<sub>2</sub> en niveles significativamente superiores (p<0,05) a todos los controles
- *C. albicans* pierde la capacidad de producir tubo germinativo cuando es sometido a concentraciones sub-inhedoras del PS hasta 8 veces inferiores que la CFM
- se observa un descenso superior al 50% en su capacidad de adherencia a células epiteliales bajo condiciones F+L+, significativamente diferente a los controles (p<0,05)
- los factores de virulencia no fueron afectadas por los tratamientos controles

PoHex tiene una alta potencialidad de ser utilizado como FS en QTFA para el tratamiento de candidiasis ya que:

- se demostró que el mecanismo de acción antifúngica es fotodinámico (dependiente de oxígeno) ya que se promueve la producción de EROs altamente citotóxicas
- a concentraciones sub-inhedoras, reducen el efecto de factores de virulencia de *C. albicans* importantes en la colonización que conducen a la invasión y al daño tisular

**Palabras claves:** antifúngico, fotodinámico, virulencia, EROs

## 1. Antifúngicos

# Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica y antibacteriana de nuevos derivados azólicos con metales de transición

**Castillo, K. F.<sup>1</sup>; Bello N. J.<sup>2</sup>; Hurtado, J. J.<sup>2</sup>; Ávila, A. G.<sup>3</sup>; Pastrana, H. F.<sup>3</sup>; Restrepo, S.<sup>1</sup>; Celis, A. M.<sup>1</sup>**

1. Departamento de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Micología y Fitopatología, Universidad de Los Andes, Bogotá D.C., Colombia. 2. Departamento de Química, Grupo de Investigación en Química Inorgánica, Catálisis y Bioinorgánica, Universidad de Los Andes, Bogotá D.C., Colombia. 3. Departamento de Ingeniería Eléctrica y Electrónica, Centro de Microelectrónica, Universidad de Los Andes, Bogotá D.C., Colombia

A pesar de los avances en el diagnóstico clínico y de laboratorio, muchas infecciones ocasionadas por hongos y bacterias continúan siendo una causa importante de mortalidad y morbilidad. Esto se debe en gran parte a la adquisición de resistencia frente a los antimicrobianos comúnmente utilizados. En este contexto, el desarrollo e implementación de nuevas estrategias y la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos a partir de sustancias naturales e inorgánicas es necesario. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antifúngica y antibacteriana *in vitro* de nuevos compuestos azólicos con metales de transición. La actividad antimicrobiana fue determinada para 7 cepas de hongos de importancia clínica (*Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Candida krusei* y *Candida parapsilopsis*) y 9 de bacterias (*Staphylococcus aureus*, MRSA, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Samonella tiphymurium* y *Shigella flexneri*) por los métodos de microdilución en caldo y de difusión en pocillos de acuerdo a los parámetros del CLSI. Las pruebas de susceptibilidad *in vitro* mostraron que los nuevos compuestos exhibían moderada actividad antifúngica y antibacteriana contra todas las cepas estudiadas, excepto para las especies de *Fusarium*. Los complejos metálicos con cobre y cobalto tuvieron efecto contra todas las bacterias probadas, incluyendo MRSA y especies de *Aspergillus* y *Candida* resistentes que no fueron inhibidas por la droga estándar (fluconazol). Para todas las cepas se reportó además la concentración mínima inhibitoria (MIC<sub>50</sub>) de los nuevos compuestos, la cual estuvo en el rango de 5-0,039 mM. Estos resultados sugieren que los compuestos azólicos con metales de transición evaluados poseen un potencial terapéutico antifúngico y antibacteriano, pero se requieren más estudios para evaluar su toxicidad *in vivo* y sus mecanismos de acción.

### **Palabras clave**

Derivados azólicos metálicos, Actividad antifúngica, Actividad antibacteriana, Pruebas de susceptibilidad

## 1. Antifúngicos

# Identificación molecular del complejo *Candida parapsilosis* en muestras provenientes de sangre.

**Moreno X<sup>1</sup>. Reviákina V<sup>2</sup>. Panizo M<sup>2</sup>. Ferrara G<sup>2</sup>. García N<sup>2</sup>. Alarcón V<sup>2</sup>. Dolande M<sup>2</sup>**

1. Departamento de Microbiología. Instituto Médico la Floresta. Caracas-República Bolivariana de Venezuela.

2. Departamento de Micología. Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”. Caracas- República Bolivariana de Venezuela.

*Candida parapsilosis* ha sido clasificada como un complejo, conformado por *Candida parapsilosis sensu stricto* (*C. parapsilosis*), *Candida orthopsilosis* (*C. orthopsilosis*) y *Candida metapsilosis* (*C. metapsilosis*). Con la definición genética de estas tres especies, estudios a nivel mundial han descrito su epidemiología y susceptibilidad a los antifúngicos. En este sentido nos planteamos evaluar la distribución de estas especies provenientes de sangre y su perfil de susceptibilidad a Fluconazol (FL), Voriconazol (VO), Anfotericina B (AB) y Caspofungina (CS) en Caracas-Venezuela. Mediante la técnica de PCR (Reacción en cadena de la Polimerasa) se realizó la amplificación del gen *SADH* y por RFLP (polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción), utilizando la enzima de restricción *BanI* se caracterizaron las especies que conforman el complejo. Para las pruebas de susceptibilidad se utilizó la metodología *Etest*<sup>®</sup>, ajustando los valores de Concentración Mínima Inhibitoria a los puntos de corte del CLSI. Se estudiaron 86 cepas del complejo *Candida parapsilosis* previamente identificadas por métodos convencionales y automatizados, de las cuales 81 (94.2%) fueron *C. parapsilosis*, 4 (4.6%) *C. orthopsilosis* y 1 (1.2%) *C. metapsilosis*. Todas las especies fueron sensibles a AB y CS. El perfil de susceptibilidad para *C. parapsilosis* fue; FL: 74(91.3%), VO: 77(95.06%); mientras que *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis* fueron 100% sensibles a FL y VO. Es importante destacar que el 8.7% y 5% de *C. parapsilosis sensu stricto* mostraron resistencia a FL y VO. Este trabajo se presenta como la primera investigación a nivel molecular en nuestro país, por lo que se debería continuar con la misma, para comprender mejor la dinámica y comportamiento de estas especies frente a los antifúngicos más utilizados.

### **Palabras claves**

*Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, *Candida metapsilosis*, antifúngicos

## 1. Antifúngicos

# Caracterización microbiológica de candidemias de 24 centros pertenecientes a la Red colaborativa de candidemias (agosto 2013-julio 2015)

**Benadof, Dona<sup>1</sup>; Tapia, Cecilia<sup>2</sup>; Legarraga, Paulette<sup>3</sup>, García, Patricia<sup>3</sup>; Amaro, José<sup>2</sup>, Meza Paulina<sup>3</sup>, González, Tamara<sup>3</sup> y colaboradores<sup>4</sup>**

1. Hospital Roberto del Río

2. Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

3. Laboratorio de Microbiología, Departamento de Laboratorios Clínicos, Pontificia Universidad Católica de Chile

4. Clínicas Alemana, Dávila, Las Condes, Santa María, Hospitales: Barros Luco, Calvo Mackenna, de Antofagasta, de Carabineros, de Puerto Montt, de Temuco, Dipreca, Exequiel González Cortés, Gustavo Fricke, Militar, Naval, Padre Hurtado, Roberto del Río, San Borja, San José, San Juan de Dios, Sótero del Río, Clínico Universidad de Chile, Van Buren y Red de Salud UC-Christus

### Introducción

La incidencia de micosis oportunistas invasoras ha aumentado en los últimos años debido al aumento de pacientes de riesgo, siendo la candidiasis la más frecuente. En el año 2012, se creó una red chilena de vigilancia de candidemia que incluye 24 centros públicos y privados del país y que ha permitido recopilar datos microbiológicos y clínicos de estos episodios. Objetivos: Presentar los resultados microbiológicos preliminares de 381 cepas correspondientes a episodios de candidemias desde agosto del año 2013 hasta julio 2015 por esta red.

### Materiales y métodos

Cada cepa aislada de un episodio de candidemia en los centros colaboradores fueron enviadas a los centros de referencia (Laboratorio Micología, Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Universidad de Chile y Laboratorio de Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile). La identificación de género y especie se realizó mediante chromagar<sup>TM</sup>, APITM32C y tecnología MALDI-TOF. El estudio de susceptibilidad se realizó por método de microdilución en caldo (YeastOne<sup>TM</sup>) incluyendo los siguientes antifúngicos: anfotericina B, caspofungina, anidulafungina, micafungina, fluconazol, voriconazol, itraconazol, posaconazol y 5-flucitosina. La categorización de susceptibilidad se hizo utilizando los puntos de corte del documento M27A3-S4.

### Resultados

La distribución de especies fue: *Candida albicans* (*C. albicans*) 43,6% (166/381), *C. parapsilosis* 27,3% (104/381), 104 *C. glabrata* 7,1% (37/3981), *C. tropicalis* 9,2 % (35/381), en *C. krusei* 2,1% (8/381), *C. lusitaniae* 2,1% (8/381), *C. dubliniensis* 1,9% (7/381), *C. pelliculosa* 1,6% (6/281), *C. guilliermondii* 1,3% (5/381), *C. famata* 0,5% (2/381), *C. incosnpicua* 0,5% (2/381) y *C. novergensis* 0,3% (/381). En relación a la susceptibilidad el 99,4% de las cepas presentó concentraciones inhibitorias mínimas (CIMs) < a 1 ug/mL a anfotericina B (CIM90=1, Rango: 0.12-2) y el 100 % de las cepas fueron sensibles a caspofungina (CIM 90=0,5 ug/mL, rango=0,008-2 ug/mL), anidulafungina (CIM90=1, rango=0,03-2 ug/mL) y micafungina (CIM90=0,5 ug/mL, rango=0,008-2 ug/mL). La susceptibilidad a azoles fue 90,1% fluconazol (CIM90=8 ug/mL, rango=0,06-128 ug/mL); 82,1% para itraconazol (CIM90=0,25 ug/mL, rango=0,015-16 ug/mL) y 97,6% para voriconazol (CIM 90=0,25 ug/mL, rango=0,08-8 ug/mL). El porcentaje de sensibilidad para 5-Fluorocitosina fue 96,4% (CIM90=0,25 ug/mL, rango=0,06-64 ug/mL). En relación a la realidad local se observó un aumento de la frecuencia de aislamiento de *C. glabrata* (3,8% en el año 2000) y *C. parapsilosis* (17,7% en el año 2000) y una disminución de *C. albicans* (48,1% en el año 2000). En relación a datos publicados en el año 2000, hubo una disminución de la susceptibilidad a anfotericina B (de 100% en 2000 a 99,4% en 2015) y no hubo cambios en la susceptibilidad a fluconazol e itraconazol. A nivel latinoamericano se observó un similar porcentaje de aislamiento de *C. parapsilosis* y un mayor porcentaje de aislamiento de *C. glabrata*, similar a lo que ocurre en estados unidos y Europa.

### Conclusiones

Dese el punto de vista microbiológico, estos resultados muestran cambios en la distribución de especies y en los patrones de susceptibilidad a anfotericina B. La incorporación de equinocandinas a partir del año 2002 en Chile, hace necesaria su vigilancia epidemiológica, siendo estos datos los primeros a nivel nacional. Este es el estudio epidemiológico de candidemia con la mayor cantidad de datos microbiológicos de episodios de candidemia y muestra cambios fundamentalmente en la distribución de especies. Esto es relevante dado el impacto en en decisiones clínicas.

## 1. Antifúngicos

# Evaluación de combinaciones de antifúngicos frente a Mucormycetes

**Macedo D.<sup>1</sup>, Leonardelli F.<sup>1, 2</sup>, Dudiuk C.<sup>1, 2</sup>, Vitale R.<sup>3</sup>, Cabeza M.<sup>1</sup>, Theill L.<sup>1</sup>, Gamarra S.<sup>1</sup>, Garcia-Effron G.<sup>1, 2</sup>.**

1. Laboratorio de Micología y Diagnóstico Molecular - Cátedra de Parasitología y Micología - Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe (Santa Fe).

2. CONICET

3. Hospital Ramos Mejía

**Palabras claves:** MEC, sinergismo, Mucormycetes.

### Introducción

Las mucormicosis son infecciones fúngicas de rápida progresión con alta morbilidad y mortalidad que se presentan en pacientes inmunocomprometidos como casos aislados o como brotes intrahospitalarios. Actualmente, no existe un tratamiento totalmente efectivo para estas micosis, debido a la reducida sensibilidad intrínseca de estos hongos a las equinocandinas y a varios de los antifúngicos azólicos (voriconazol e itraconazol). Este inconveniente se suma a la toxicidad del principal tratamiento disponible (anfotericina B). La combinación de drogas es una alternativa con posibilidades de ser explotada. En este trabajo, se evaluó la actividad in vitro de drogas antifúngicas solas y en combinación con voriconazol, frente a distintas especies de Mucormycetes.

Objetivo: Estudiar la combinación de drogas como una posible opción de tratamiento para la mucormicosis, mejorando así los resultados obtenidos con monoterapia.

### Materiales y Métodos

Se analizaron catorce cepas de Mucormycetes, identificadas como *Rhizopus microsporus*, *Mucor* spp., *Rhizopus oryzae* y *Cunninghamella* spp. Las cepas fueron aisladas de pacientes con infección fúngica probada y causaron mucormycosis rinocerebral, infección de sitio quirúrgico y osteomielitis. Todos los aislamientos fueron subcultivados en PDA, por 3 días a 35°C. Las drogas usadas en éste estudio fueron voriconazol (VRC), anfotericina B (AMB), posaconazol (PSC) y caspofungina (CSF). Para evaluar la actividad individual de las drogas antifúngicas se siguió el protocolo M38A2 de CLSI. La naturaleza e intensidad de las interacciones entre drogas se hizo utilizando el método de la Concentración Inhibitoria Fraccional (Índice FIC) utilizando como criterios de interpretación: FIC  $\leq$  0.5 sinergismo,  $\Sigma$ FIC entre  $>0.5$  y  $<4.0$  no interacción,  $\Sigma$ FIC  $\geq 4.0$  antagonismo.

### Resultados

Para las cepas de Mucormycetes estudiadas, la CIM arrojó medias geométricas de 6.14  $\mu$ g/mL para VRC (rango: 4 a 16  $\mu$ g/mL), 1.9  $\mu$ g/mL para AMB (rango: 1 a 4  $\mu$ g/mL) y 1.12  $\mu$ g/mL para PSC (rango: 0.5 a 2  $\mu$ g/mL), mientras que para CSF la CIM fue de 16  $\mu$ g/mL para todas las cepas. Cuando se combinaron las drogas, se observó sinergismo solamente con VRC+AMB en 3 cepas. Sin embargo, se pudo observar al microscopio cambios en el desarrollo de las cepas estudiadas y establecer valores de Concentración Efectiva Mínima (CEM) para la combinación de VRC+POS, VRC+CSF y VRC+AMB. Con esta forma de lectura de los resultados, se obtuvieron valores de FIC  $<0,5$  para 9, 6 Y 4 cepas, respectivamente. En ningún caso se observó antagonismo.

### Conclusión

Éste es el primer estudio en el cual se investiga la actividad del voriconazol combinada con otros azoles, polienos y equinocandinas, contra Mucormycetes. Además, se utilizó CEM para PSC y AMB. Los resultados obtenidos son alentadores ya que en más del 20% de las cepas se observó sinergismo (leyendo CIM) y en otro 60% leyendo MEC. La combinación de VRC con AMB, POS y CSF reduce y detiene el crecimiento de algunas cepas estudiadas (FIC  $<0,5$  utilizando MEC).

## 1. Antifúngicos

# Aspergilosis: distribución de especies y sensibilidad frente a antifúngicos.

**Romero M., Santiso G., Messina F., Marin E., Depardo R., Benchetrit A., Walker L., Arechavala A.**  
Unidad Micología, Hospital de Infecciosas F J Muniz. CABA. Argentina

### Introducción

Las especies del género *Aspergillus* incluyen hongos filamentosos ambientales de distribución mundial, que se desarrollan sobre materia orgánica en descomposición produciendo miles de conidios que se aerosolizan fácilmente. *Aspergillus* puede ser un simple colonizante, provocar afecciones alérgicas, infecciones localizadas o cuadros graves diseminados cuya tasa de mortalidad puede alcanzar el 100%. La presentación clínica de esta micosis oportunista está determinada por la capacidad de respuesta inmune del hospedador. *Aspergillus fumigatus* es la especie más frecuente, sin embargo, otras especies han cobrado importancia en el último tiempo.

La instauración de un tratamiento temprano y adecuado es crucial para la correcta evolución del paciente con aspergilosis. Desde 1990 existen comunicaciones acerca de la resistencia adquirida de *Aspergillus* frente a los azoles y la anfotericina B.

La emergencia de resistencia a itraconazol así como la diseminación de resistencia cruzada a múltiples azoles es una preocupación a nivel mundial y representa un problema en el manejo de los pacientes; es necesario avanzar en el conocimiento de este tema dado que no hay información disponible suficiente acerca de la prevalencia de aislamientos con sensibilidad disminuida en nuestro medio.

### Objetivo

Tipificar y estudiar la sensibilidad a antifúngicos de cepas de *Aspergillus* aisladas de pacientes con aspergilosis o colonización de vías aéreas por dicho hongo.

### Materiales y métodos

Se realizó un estudio retrospectivo sobre 76 aislamientos provenientes de muestras clínicas (76% esputos, 20% lavados broncoalveolares y 4% biopsias) de 71 pacientes con aspergilosis atendidos entre el 1/1/2012 y el 31/12/2013. Las enfermedades de base correspondieron 47% a tuberculosis, 14% coinfección con VIH y tuberculosis, 4% enfermedades oncohematológicas, 17% fibrosis quística, 10% VIH y 8% otras patologías.

Se tipificaron los aislamientos de *Aspergillus* por características macro y micromorfológicas. Se estudió el perfil de sensibilidad de los aislamientos por el método de referencia propuesto por el CLSI, Concentración inhibitoria mínima (CIM) por microdilución en placa, y se compararon los resultados obtenidos con los puntos de corte epidemiológicos (ECV) propuestos por dicha institución. Los antifúngicos estudiados fueron: anfotericina B, itraconazol, voriconazol, posaconazol y albaconazol (a pesar de que no existen aún publicados puntos de corte para este último).

### Resultados

Se observó la siguiente distribución de especies: 75% *Aspergillus* Sección *fumigati*, 8% *Aspergillus* Sección *terrei*, 8% *Aspergillus* Sección *flavi* y 9% *Aspergillus* Sección *nigri*.

Con respecto a la sensibilidad, se halló entre los *Aspergillus* estudiados un 9,2% de aislamientos con valores de CIM mayores que el ECV para itraconazol, es decir con probable sensibilidad disminuida frente a este antifúngico. Para el resto de los fármacos, todos los aislamientos resultaron sensibles.

### Conclusión

El porcentaje observado de resistencia a itraconazol es un dato de suma relevancia que sugiere que a pesar de las dificultades, el estudio de la sensibilidad a antifúngicos y la tipificación de las especies implicadas son cruciales en el abordaje de pacientes con aspergilosis, como herramienta para la toma de decisiones terapéuticas y por su valor epidemiológico.

## 1. Antifúngicos

# Método cromatográfico para la valoración de voriconazol en suero: Un aporte en el tratamiento de infecciones micóticas

**Assum D., Orozco B., Tantucci L., Zarzur J.<sup>1</sup>, Riera F.<sup>2</sup>, Caeiro J.<sup>3</sup>**

1. Fundación para el Progreso de la Medicina, 9 de julio 941, Córdoba Argentina.

2. Sanatorio Allende de Córdoba.

3. Hospital Privado Centro Médico de Córdoba.

### **Introducción**

El voriconazol (VRC) es la droga de elección para el tratamiento de la aspergilosis y una nueva opción de tratamiento para la candidiasis; en la terapéutica es crítico el manejo de las dosis ya que es una droga con alta eficacia, pero que puede provocar efectos adversos no deseados; atento a ello, el monitoreo de los niveles séricos resulta decisivo para mejorar la eficacia y seguridad del tratamiento en pacientes con micosis invasivas. Numerosos reportes sugieren el empleo de HPLC como método de valoración de VRC, por su precisión y exactitud, tanto en medicamentos como en suero humano.

**Palabras clave:** Voriconazol, HPLC.

### **Objetivos**

Desarrollar y validar un método para la determinación de VRC en plasma humano y corroborar su aporte para el monitoreo terapéutico.

### **Materiales y métodos**

-Metodología analítica: se utilizó un sistema HPLC de fase reversa, columna C18 detector arreglo de diodos; fase móvil: Buffer: Acetonitrilo; se empleó patrón internacional de VRC y 2 n-propil parahidroxibenzoato, como standard interno.

-Tratamiento de las muestras: a un volumen de suero de 250  $\mu$ l se le agregó el estándar interno el VRC fue aislado por extracción en fase sólida (SPE) C18; el extracto se inyectó en el HPLC empleando una mezcla de ácido fórmico y acetonitrilo, como fase móvil. En estas condiciones, el VRC presenta un tiempo de retención de 4 minutos. Se analizaron muestras de pacientes tratados con VRC colectadas luego de, al menos de tres tomas, y se dosaron antes de la próxima dosis; es decir que tales muestras corresponden a la zona del valle de la curva de concentración sérica del VRC.

### **Resultados**

-Validación del método: la robustez del mismo se evaluó a través de diversos parámetros; a saber: a) rango de linealidad desde 0,2 a 19,2  $\mu$ g/ml, con un  $r^2$  0,997, b) precisión se determinó a tres concentraciones de VRC, obteniéndose valores de CV de 5,2, 4,6 y 1,0% para 0,96  $\mu$ g/ml, 3,6  $\mu$ g/ml y 7,7  $\mu$ g/ml, respectivamente, c) sensibilidad: LOD 0,02  $\mu$ g/ml; LOQ 0,08  $\mu$ g/ml, d) exactitud: se obtuvo una recuperación del 101%; en todos los estadísticos se estableció un nivel de significancia del 95%. No se observaron drogas que pudiesen interferir en la corrida cromatográfica. Con independencia de las dosis administradas, se evaluaron muestras cuyos valores de VRC estuvieron en un rango de: < 0,9-6,8  $\mu$ g/ml, observándose que el 40% de estos valores se encontraban fuera del rango terapéutico (1,2-4,7  $\mu$ g/ml).

### **Conclusión**

El método desarrollado permite determinar VRC en suero humano de manera exacta, precisa y veraz, con sensibilidad elevada debido al barrido espectral aportado por el detector con arreglo de diodos, lo que posibilita identificar al VRC por tiempo de retención y espectro de absorción. Por todo esto, se trata de un método simple, robusto, de rápida respuesta y de gran aporte para el monitoreo y ajuste de tratamientos que emplean VRC, incluyendo casos de sospecha por intoxicación con el mismo.

## 1. Antifúngicos

# La resistencia intrínseca de *A. fumigatus* a fluconazol se relaciona con el polimorfismo natural Thr301Ile presente en Cyp51Ap.

**Leonardelli F.<sup>1,2</sup>, Macedo D. 1, Dudiuk C.<sup>1,2</sup>, Cabeza M. 1, Gamarra S. 1, Garcia-Effron G.<sup>1,2</sup>**

1. Laboratorio de Micología y Diagnóstico Molecular - Cátedra de Parasitología y Micología - Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas - Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe. Argentina.

2. CONICET

### Introducción

Los hongos del género *Aspergillus* son resistentes naturales a fluconazol (FCZ). En cambio, la mayoría de las levaduras del género *Candida* son sensibles a este antifúngico. El mecanismo molecular involucrado en esta diferencia de sensibilidad es desconocido. La enzima diana de los azoles es la 14 $\alpha$ -esterol-demetilasa, codificada por los genes ERG11 en *Candida* spp. y por los genes homólogos CYP51A y CYP51B en *Aspergillus* spp. En *A. fumigatus*, sólo CYP51A ha sido relacionado con la resistencia a los azoles. En el Erg11p de *C. albicans*, las sustituciones Tyr132, Thr315, Ser405, Gly464 y Arg467 son las más comúnmente implicadas en la resistencia secundaria a FCZ. En el Cyp51Ap de *A. fumigatus*, estos aminoácidos están conservados con excepción del ubicado en la posición equivalente a Thr315 (Ile301). En *C. albicans*, la sustitución Thr315Ala reduce la actividad inhibitoria de FCZ de 4 a 5 veces. La Thr315 es un aminoácido polar que interviene en la interacción enzima-droga. En contraste, Ala e Ile son apolares. Nuestra hipótesis es que la resistencia intrínseca de *A. fumigatus* al FCZ se relaciona estrictamente con el polimorfismo natural Ile301 presente en Cyp51Ap.

### Objetivos

Generar un *A. fumigatus* con un Cyp51Ap que presente el cambio Ile301Thr, y evaluar su sensibilidad a distintos azoles.

### Materiales y Métodos

Se construyó un vector de reemplazo génico clonando en un vector pGEM-T Easy el gen *cyp51A* de *A. fumigatus* con la mutación T973C (que produce el cambio de aa. Ile301Thr), seguido del casete *hph* que confiere resistencia a higromicina B. Para esto se generó el gen mutante, amplificando el CYP51A a partir del DNA de la cepa de *A. fumigatus* Ku80 $\Delta$  mediante la técnica de PCR convencional, incluyendo 1Kb de la región 5'UTR e introduciendo la mutación T973C (Ile301Thr) por PCR de fusión. Por otro lado se amplificó el casete de resistencia a higromicina B a partir del plásmido PAN 7.1 y se fusionó a un fragmento de 1Kb de la región 3'UTR del CYP51A. Ambas construcciones se ligaron y clonaron en un único plásmido (LMDM-P87).

Se transformó la cepa *A. fumigatus* Ku80 $\Delta$  con el vector LMDM-P87, utilizando la técnica de electroporación. Se seleccionaron los organismos transformados con higromicina B. Se evaluó la inserción del casete en el genoma por PCR y se secuenció el gen *cyp51A* introducido para confirmar la mutación.

Finalmente se evaluó la sensibilidad a FCZ mediante el método de microdilución en placa (Documento M38A2 de CLSI) y el método de difusión en agar para las cepas *A. fumigatus* Ku80 $\Delta$  y los transformantes.

### Resultados

Se generó un mutante de *A. fumigatus* con la mutación T973C en *cyp51A* que produce el cambio de aminoácido Ile301Thr en Cyp51Ap. La CIM de este mutante disminuyó 5 veces respecto de la cepa salvaje, siendo 20  $\mu$ g/mL y 640  $\mu$ g/mL, respectivamente.

### Conclusión

Se confirmó la hipótesis, encontrándose que el cambio Ile301Thr indujo la reducción de la CIM del mutante cinco diluciones. Por lo tanto, la resistencia intrínseca de *A. fumigatus* a fluconazol se debería sólo a este polimorfismo natural.

**Palabras claves:** *Aspergillus fumigatus*, fluconazol, resistencia.

## 1. Antifúngicos

# Clonación y caracterización de los genes que codifican las enzimas 14 alfa esterol demetilasa (blanco de los azoles) de especies de dermatofitos.

Luna S.<sup>1</sup>, Latorre-Rapela M.G.<sup>2</sup>, Garcia-Effron G.<sup>1,2</sup>

1. Laboratorio de Micología y Diagnóstico Molecular - CONICET. Santa Fe, Argentina.

2. Cátedra de Parasitología y Micología - Fac. Bioquímica y Cs. Bs. - Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina.

### Introducción

Los dermatofitos son hongos ascomycetes filamentosos que tienen la habilidad de invadir tejidos queratinizados (piel, pelos y uñas). Los dermatofitos incluyen tres géneros fúngicos denominados *Epidermophyton*, *Microsporum* y *Trichophyton*. El tratamiento de las dermatofitosis incluye el uso de antifúngicos tópicos u orales del grupo de los azoles. Estos antifúngicos inhiben la actividad de las 14 alfa esterol demetilasa (14ED) produciendo la depleción de ergosterol, principal esterol de las membranas fúngicas. En hongos miceliales, las 14ED son codificadas por los genes CYP51 y en algunos géneros (por ej. *Aspergillus* spp.) se han descrito dos genes homólogos que codifican 14ED distintas: Cyp51Ap y Cyp51Bp. A pesar de la importancia clínica de los dermatofitos, los genes CYP51 de estos hongos no han sido clonados ni caracterizados.

### Objetivos

Clonar, caracterizar y estudiar filogenéticamente el o los genes CYP51 de tres de los dermatofitos más comúnmente implicados en infecciones humanas: *T. interdigitale* (*T. mentagrophytes*), *E. floccosum* y *M. canis* con el fin de clasificarlos como CYP51A o CYP51B.

### Material y métodos

La amplificación por PCR de los CYP51s se realizó utilizando oligonucleótidos degenerados que fueron diseñados en base a regiones conservadas de 14ED de otros hongos. Los fragmentos de PCR fueron clonados en vectores p-GemT easy (Promega) y los plásmidos individuales fueron secuenciados utilizando primers universales (T7 y SP6). Las secuencias de las proteínas deducidas fueron clasificadas como 14ED utilizando el programa BLAST ([www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/)). El análisis bioinformático que incluyó alineamiento múltiple de las secuencias proteicas por Clustal alignment y la confección de un árbol filogenético por Neighbor-Joining-UPGMA fue realizado con los software BioEdit y Vector NTI.

### Resultados

Las porciones traducidas de las proteínas 14ED de *T. interdigitale* y *E. floccosum* presentaron un porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos de 70 y 85 % cuando fueron comparadas con el Cyp51Ap y Cyp51Bp de *A. fumigatus*. Por su parte, la proteína de *M. canis* presentó un porcentaje de identidad de secuencia de 86% y 73% con los Cyp51Ap y CYP51B de *A. fumigatus*. Estos porcentajes de identidad fueron lo suficientemente altos como para considerar a las proteínas descrita en este trabajo como miembro de la familia de las 14ED fúngicas. El estudio filogenético de los Cyp51p putativos de los dermatofitos demostró que los CYP51s de *E. floccosum* y de *T. interdigitale* podrían considerarse ortólogos de los genes CYP51B de hongos filamentosos y de los genes de levaduras. Por su parte, el gen CYP51 de *M. canis* debería considerarse ortólogo de los genes CYP51A de hongos filamentosos y por lo tanto más alejados de los genes homólogos de levaduras (ERG11).

### Conclusión

El presente trabajo brinda el marco teórico necesario para iniciar el estudio de los genes blanco de los antifúngicos azólicos en los dermatofitos. Esto podría ayudarnos a explicar diferencias en la respuesta a los tratamientos con azoles en los distintos géneros de dermatofitos y en el estudio de los mecanismos de resistencia de estos hongos a los azoles.

**Palabras clave:** Resistencia, Antifúngicos azólicos, Dermatofitos.

## 1. Antifúngicos

# Aspergillus fumigatus resistente a itraconazol con una sustitución G54E en Cyp51Ap. Primera descripción en Sudamérica.

**Leonardelli F.<sup>1,3</sup>, Theill L.<sup>1</sup>, Nardin M.E.<sup>2</sup>, Macedo D.<sup>1</sup>, Dudiuk C.<sup>1,3</sup>, Mendez E.<sup>2</sup>, Gamarra S.<sup>1</sup>, Garcia-Effron G.<sup>1,3</sup>.**

1 Laboratorio de Micología y Diagnóstico Molecular - Cátedra de Parasitología y Micología - Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe (Santa Fe).

2 Hospital "JM Cullen", Santa Fe (Santa Fe).

3 CONICET.

### Introducción

El número de aislamientos clínicos de *A. fumigatus* que presentan resistencia a los azoles está en aumento a nivel mundial. Estos fenotipos se han asociado fundamentalmente a mutaciones en el gen CYP51A que codifica una 14 alfa esterol demetilasa (Cyp51Ap). Esta enzima es clave en la síntesis de ergosterol. En el continente Americano no se han descrito resistencias microbiológicas a los azoles en *A. fumigatus*.

### Resumen clínico

En este trabajo, describimos una cepa de *A. fumigatus* aislada de un absceso corneal de un trabajador rural de 27 años de edad que tuvo un traumatismo ocular con un detrito vegetal. El *A. fumigatus* presentó resistencia in vitro a itraconazol. El paciente fue tratado empíricamente con fluconazol y natamicina oftálmica. Una vez identificado el agente infeccioso, se continuó solo con natamicina. Posteriormente, se agregó ceftazidima y vancomicina para evitar sobreinfecciones bacterianas. El paciente respondió al tratamiento.

### Exámenes complementarios

La cepa fue aislada en Agar Sabouraud e identificada feno y genotípicamente (Secuenciación del gen beta tubulina) como *A. fumigatus*. Se le evaluó la sensibilidad a los antifúngicos utilizando el método descrito en el documento M38A2 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Se amplificó el gen CYP51A y se secuenció utilizando la metodología de Sanger.

La cepa presentó los siguientes valores de Concentración Inhibitoria Mínima (CIM): itraconazol (> 8 µg/ml - resistente), posaconazol (0,12 µg/ml), voriconazol (0,50 µg/ml), anfotericina B (0,50 µg/ml) y caspofungina (0,5 µg/ml). Al secuenciar el gen CYP51A, se detectaron dos mutaciones en las posiciones G161A y G162A que generan la sustitución G54E en la 14 alfa esterol demetilasa A (Cyp51Ap). Esta sustitución ha sido relacionada previamente a resistencia a itraconazol en cepas de *A. fumigatus* en España y el Reino Unido.

### Conclusiones

La aparición de resistencias secundarias a los azoles en cepas de *A. fumigatus* en pacientes sin contacto previo con estos antifúngicos ha sido descrita en Europa. Se especula que es consecuencia del uso de azoles en agricultura. En Argentina, se están utilizando indiscriminadamente antifúngicos azólicos en agricultura pudiéndose reproducir lo sucedido en Europa y el caso descrito en este trabajo es un ejemplo de esto. Estas cepas resistentes pueden diseminarse por lo que se deberían realizar pruebas de sensibilidad a los antifúngicos en hongos filamentosos ante una infección.

### Conclusión

La cepa descrita en este trabajo es el primer *A. fumigatus* resistente a itraconazol debido a una mutación en Cyp51Ap (G54E) en el continente americano.

**Palabras clave:** *Aspergillus fumigatus*, resistencia, itraconazol, mutación.

## 1. Antifúngicos

# El tamaño de la cápsula de *Cryptococcus neoformans* altera los diámetros de inhibición por fluconazol.

**Barbagelata M.S.<sup>1</sup>, Benítez C.<sup>1</sup>, Guelfand L.<sup>2</sup>, Erbin M.<sup>2</sup> Garcia-Effron G<sup>1,3</sup>, Gamarra S.<sup>1</sup>.**

1 Laboratorio de Micología y Diagnóstico Molecular - Cátedra de Parasitología y Micología - Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe (Santa Fe).

2 Hospital J. A. Fernández, Buenos Aires, Argentina

3 CONICET.

### Introducción

La levadura capsulada *Cryptococcus neoformans* es una de las principales causas de meningitis en pacientes HIV positivos. Para el tratamiento de estas infecciones se utiliza anfotericina B (terapia de inducción) seguida de fluconazol (para consolidación y profilaxis). A pesar de que estos tratamientos suelen estar respaldados por pruebas de sensibilidad in vitro, las recidivas son comunes y la/s causa/s de las mismas se desconocen.

*C. neoformans* en el líquido cefalorraquídeo presenta capsulas muy evidentes que reducen su tamaño cuando son cultivadas en medios artificiales como el Agar Sabouraud (AS). Córdoba y cols. demostraron que las cepas con capsulas más grandes son más resistentes in vitro a la actividad fungicida de anfotericina B que las cepas con capsulas pequeñas.

### Objetivo

Evaluar la actividad in vitro del fluconazol sobre *C. neoformans* en condiciones más cercanas a lo que sucede en pacientes infectados (con cápsulas más grandes) y comparar la actividad de este azol sobre la misma cepa con cápsula pequeña.

### Material y métodos

Evalúamos la sensibilidad de 34 cepas clínicas de *C. neoformans* a fluconazol siguiendo el método descrito en el documento M44A2 de CLSI (difusión en agar). Se utilizó como medio de cultivo el Mueller-Hinton-2% glucosa-0.5mg% azul de metileno y discos de papel con 25 g/ml de fluconazol. Además, se determinó la CIM de los mismos aislamientos siguiendo los documentos M27A3 y M27S4 de CLSI para comparar estos valores (gold standard) con los diámetros obtenidos por difusión. Los experimentos de evaluación de la sensibilidad a fluconazol por difusión en agar se realizaron con las cepas cultivadas a 35°C durante 3 días en condiciones de inducción de cápsula y en condiciones de cultivo comunes. La inducción de cápsula se realizó incubando las cepas en AS bicarbonato en atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> mientras que las condiciones comunes consistieron en el cultivo en AS sin modificar la atmósfera (aire ambiente).

### Resultados

La CIM (media geométrica) de los aislamientos estudiados fue de 2,77 g/ml (rango 0,25 - 8 g/ml). Los diámetros obtenidos tuvieron un promedio de 30,12 mm (experimentos sin inducción de cápsula) y de 27,3 mm (con inducción). A pesar de que la inducción de cápsula disminuye los diámetros promedios, esto solo se observó en 23 de las cepas estudiadas mientras que las 11 cepas restantes presentaron mayores diámetros de inhibición. Por otro lado, cuando los diámetros de inhibición se compararon con los datos obtenidos por el método de CIM no existió buena correlación.

### Conclusiones

Los resultados obtenidos con la técnica de difusión en agar para evaluar la sensibilidad al fluconazol en *C. neoformans* no es comparable con los datos obtenidos por el método gold standard. Además, los diámetros varían y de manera aleatoria según los *C. neoformans* tengan o no cápsula.

**Agradecimientos:** Este proyecto fue financiado por Laboratorios GADOR S.A.

**Palabras clave:** *Cryptococcus*, fluconazol, resistencia, sensibilidad

## 1. Antifúngicos

# Perfil de sensibilidad de levaduras de aislamiento poco frecuente causantes de fungemias

**Isla G, Vivot W, Szusz W, Bosco Borgeat ME, Taverna C, Murisengo O, Vivot M, Davel G, Córdoba S.**

Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas “Dr. C. Malbrán”, CABA, Argentina.

**Palabras clave:** fungemias, levaduras infrecuentes, resistencia antifúngica.

En las últimas décadas la epidemiología de las fungemias por levaduras presentó cambios en la distribución de especies, evidenciados por la implementación de técnicas moleculares y de espectrometría de masa para la identificación. Estos cambios fueron acompañados en algunos casos, por escasa o nula respuesta al tratamiento antifúngico.

**Nuestro objetivo** fue evaluar la actividad in vitro de 7 antifúngicos frente a las especies infrecuentes aisladas de fungemias.

Se incluyeron en el estudio 442 levaduras aisladas de pacientes con diagnóstico de fungemia ingresadas al Laboratorio durante 2010 al 2014. La identificación a nivel de especie se realizó por métodos bioquímicos (auxanograma, zimograma), y moleculares (PCR y secuenciación). La determinación de la sensibilidad se realizó según el método de referencia EDef 7.2 del EUCAST. Las concentraciones de los antifúngicos testados fueron: 0,03-16 mg/L para la anfotericina B (AB), el itraconazol (IZ), el voriconazol (VZ), el posaconazol (PZ), la anidulafungina (AN) y la caspofungina (CAS), y 0,25-128 mg/L para el fluconazol (FZ). A la fecha no hay puntos de corte que permitan categorizar a las especies infrecuentes como sensibles o resistentes. Se calculó la CIM 50, CIM 90, media geométrica (MG) y moda.

### Resultados

El 85,75% (n=379) fueron levaduras de aislamiento frecuente (*Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* y *Cryptococcus neoformans*). El 14,25% (n=63) fueron especies de aislamiento poco frecuente, el 38% (n=39) fueron aisladas de pacientes pediátricos. La distribución de especies fue: *Candida pelliculosa* (n=11); *Rhodotorula mucilaginosa* (n=7); *Candida dubliniensis* y *Trichosporon asahii* (n=6 cada una); *Candida guilliermondii* complex (n=5), *Candida haemulonii* complex y *Candida lusitanae* (n=4 cada una); *Candida metapsilosis* (n=3); *Lodderomyces elongisporus*; *Candida palmioleophila* y *Pseudozyma aphidis* (n=2 cada una); *Rhodospirium azaricum*; *Cryptococcus diffluens*; *Candida nivariensis*; *Candida kefir*; *Saccharomyces cerevisiae*; *Trichosporon montevidense*; *Cyberlindnera fabianii*; *Candida inconspicua*; *Geotrichum capitatum*; *Geotrichum clavatum* y *Candida orthopsilosis* (n=1 cada una).

No se observó resistencia a los antifúngicos evaluados en las especies de aislamiento frecuente.

Mientras que para las levaduras no frecuentes, en general los valores de CIM observados fueron aceptablemente bajos. La MG en mg/L de AB, FZ, IZ, VZ, PZ, AN y CAS fue: 0,32; 2,66; 1,10; 0,7; 0,06; 0,24 y 0,10 respectivamente. Los valores mas altos de CIM se observaron en *C. guilliermondii* frente a los azoles y *C. haemulonii* para AB, FZ e IZ. Mientras que para *T. asahii* y *R. mucilaginosa* solo la AB fue activa.

### Conclusiones

Los antifúngicos más eficaces frente a las levaduras de aislamiento no frecuente fueron la AB (93,7%), VZ (77,8%) y AN (74,6%). Teniendo en cuenta la aparición de especies infrecuentes, el estudio de la sensibilidad in vitro debe ser acompañado de la correcta identificación para conocer la epidemiología de las cepas circulantes en la región.

## 1. Antifúngicos

# Aceite esencial de *Lippia alba* quimiotipo Citral: actividad antifúngica in vitro frente a aislados de *Fusarium* spp. recuperados de muestras clínicas

**Autores: Ardizzoli K.<sup>1</sup>; Malbrán I.<sup>2</sup>; Mourellos C.<sup>2</sup>; Sallaber S.<sup>1</sup>; Lori G.<sup>2</sup>**

1 H.I.G.A. "Dr. R. Rossi"; 2 CIDEFI-CICBA-UNLP, Fac. de Cs. Agrarias y Forestales, U.N.L.P., La Plata, Bs. As., Argentina.

### Introducción

El aumento de la resistencia fúngica a las drogas clásicas, sus acciones indeseadas y el alto costo de los tratamientos, impulsó la investigación de nuevas estrategias de control de las infecciones. El uso de las plantas en los tratamientos de infecciones ha sido reportado a lo largo de la historia humana. Dentro de las distintas clases de compuestos aislados de plantas con propiedades antimicrobianas, los aceites esenciales son un grupo reconocido por presentar actividad contra un gran número de microorganismos. La planta *Lippia alba* Mill N.E. Brown ex Britton & Wills. (familia Verbenaceae), es un subarbusto aromático que crece espontáneamente en América Central y del Sur. Es conocida también por sus nombres populares "Pronto alivio" (Colombia), "Erva cidreira" (Brasil), "Salvia morada" (Argentina) entre otros. Es una planta rústica, que permite obtener gran cantidad de materia prima y resistente a distintas condiciones climáticas lo que condiciona variaciones en el contenido de sus aceites esenciales, definiendo así distintos quimiotipos. Sus aceites esenciales constituyen un recurso accesible debido a que el cultivo de la planta es sencillo, económico y tiene bajo impacto ambiental y podrían utilizarse como alternativas terapéuticas naturales para controlar el desarrollo de las especies más comunes del género *Fusarium* en humanos.

### Objetivo

Evaluar la actividad antifúngica in vitro del aceite esencial de *L. alba* quimiotipo Citral sobre el crecimiento micelial de aislados de *Fusarium solani* (FS) y *F. oxysporum* (FO).

**Materiales y métodos:** Se empleó como medio de cultivo Agar Papa Glucosado (APG) (Britania®) al que le se incorporó el aceite esencial en cantidades adecuadas para obtener las concentraciones finales 250, 500, 750, 1000 y 1250 ppm. Se dispuso el medio en cajas de Petri estériles y se transfirieron a las placas un trozo de colonia de 0,5 cm de diámetro proveniente de un cultivo monospórico de 7 días de aislados de FS y FO. Como testigo se usó medio de cultivo sin el agregado del aceite esencial. Se incubaron las placas en estufa a 25° C por siete días. El crecimiento micelial (diámetro de la colonia) fue medido con un vernier cada dos días. También se estableció la actividad antifúngica determinando la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM), definida como la concentración más baja de aceite capaz de inhibir el crecimiento visible en agar (100% de inhibición). Se realizó el análisis de la varianza (ANOVA) entre las medias de los porcentajes de inhibición a cada concentración ensayada.

### Resultados

El quimiotipo Citral mostró diferencias estadísticamente significativas entre las especies de *Fusarium* analizadas ( $F = 129$ ;  $p < 0,01$ ) y entre las concentraciones para FS ( $F = 564,43$ ;  $p < 0,01$ ) y para FO ( $F = 396,38$ ;  $p < 0,01$ ). La mayor concentración inhibe en mayor medida que la menor para las dos especies. FO fue significativamente más inhibido que FS por este quimiotipo.

### Conclusiones

El quimiotipo Citral produjo inhibición total del crecimiento de FO y FS a 750 ppm y 1250 ppm respectivamente. Se produjo una disminución de la cinética del crecimiento de los cultivos a todas las concentraciones ensayadas. Se pudo evidenciar que el aceite esencial de *L. alba* quimiotipo Citral tiene efecto inhibitor in vitro sobre el crecimiento micelial de cepas FS y FO aisladas de muestras de pacientes hospitalarios.

**Palabras clave:** aceites esenciales- *Lippia alba*

## 1. Antifúngicos

# Actividad in vitro de aceites esenciales extraídos de plantas aromáticas frente a *Candida* spp., de origen clínico

**Córdoba S<sup>1-2</sup>, Vivot W<sup>1</sup>, Szusz W<sup>1</sup>, Della Vedova R<sup>2</sup>, Reynaldi F<sup>2-3</sup>, Juárez M<sup>4</sup>, Albo G<sup>5</sup>**

1-Departamento Micología INEI ANLIS "Dr. C. Malbrán", Av. V. Sarsfield 563, CABA, Argentina.

2-Cátedra Micología Médica e Industrial, Fac. Cs Vet, UNLP. 60 y 118. La Plata.

3- CCT- CONICET

4- Instituto de Recursos Biológicos, CIRN, INTA Castelar. Repetto y De Los Reseros, Hurlingham, Buenos Aires.

5-Fac. Cs Agrarias y Forestales, UNLP. 60 y 119. La Plata, Buenos Aires.

E-mail: scordoba@anlis.gov.ar

**Palabras clave:** *Candida*, esencias naturales, antifúngicos

Las especies de *Candida* spp. son causa de una amplia variedad de infecciones, siendo la candidemia, la de peor pronóstico por la alta tasa de mortalidad a pesar de instaurarse el tratamiento antifúngico adecuado. Los antifúngicos convencionales son potencialmente tóxicos para los humanos, no siempre son eficaces, y cuando ocurre el fracaso terapéutico, el desenlace suele ser fatal. Los aceites esenciales (AE) extraídos de plantas aromáticas, muestran actividad antimicrobiana frente a un amplio espectro de microorganismos, aunque hay pocos estudios en los que se evalúe la eficacia en hongos aislados de muestras clínicas.

Objetivo: evaluar la eficacia in vitro de AE extraídos de plantas aromáticas y antifúngicos en *Candida* spp. de origen clínico.

**Se estudiaron:** *C. krusei* n=10; *C. albicans* n=50; *C. glabrata* n=70 y *C. parapsilosis* n=80. Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) según el documento EDef 7.2 del EUCAST. Se evaluaron AE extraídos por hidrodestilación de flores, frutos o hojas de las plantas aromáticas *Laurus nobilis* (Ln), *Thymus vulgaris* (Tv), *Mentha piperita* (Mp), *Cymbopogon citratus* (Cc), *Lippia junelliana* (Lj), y *Calamintha officinalis* (Co) y sus principales componentes fueron: para Cc, citral, para Mp, mentol y mentone; para Ln, linalol y 1,8-cineole para Tv, timol; para Co, carvone, y para Lj cis-davanone. Se evaluaron los antifúngicos: anfotericina B, flucitosina, fluconazol, itraconazol, voriconazol, posaconazol, ketoconazol, anidulafungina y caspofungina. El rango evaluado fue: 0,4-800 mg/L y 0,015-16 mg/L para los AE y los antifúngicos, respectivamente. Se calculó la CIM50 y CIM90, moda, media geométrica y rango. Los 9 antifúngicos evaluados inhibieron a las *Candida* spp., con valores de CIM ≤1 mg/L, con excepción de *C. krusei* frente al fluconazol (32 mg/L). Con los AE se observó sensibilidad especie-dependiente según la combinación microorganismo/AE (Tabla)

**Tabla.** Valores de CIM en mg/L para los aceites esenciales frente a *Candida* spp.

## Aceites esenciales mg/L- CIM50-CIM90

Especies	Ln	Tv	Mp	Cc	Lj	Co
<i>C. krusei</i> n=10	0,8-0,8	0,16-0,16	1,25-0,16	0,16-25,83	3,12-3,12	500-800
<i>C. albicans</i> n=50	0,8-0,8	0,16-0,16	6,12-800	25-25	6,12-400	800-800
<i>C. glabrata</i> n=70	25-800	200-200	400-800	100-200	800-800	800-800
<i>C. parapsilosis</i> n=80	0,8-0,8	0,8-1,6	1,6-110	0,8-3,94	1,6-3,12	400-400

CIM50 y 90: CIM a la que el 50 y 90% de las especies evaluadas es inhibida, respectivamente.

Los valores de CIM de los AE evaluados fueron aceptablemente bajos, dependientes del compuesto y de la especie de *Candida* estudiada.

Ln fue el más activo in vitro, mientras que la menor eficacia se observó con Co.

*C. glabrata* fue la especie menos sensible frente a los AE.

*C. krusei* es intrínsecamente resistente al fluconazol, sin embargo fue inhibida por 5 de los 6 AE (CIM 0,8-3,12 mg/L).

Los AE extraídos de plantas aromáticas resultan una potencial alternativa al uso de antifúngicos convencionales.

## 1. Antifúngicos

# Sensibilidad a anidulafungina en *Candida* spp: evaluación del rendimiento del Etest con Rpmi y con Agar Mueller Hinton.

**Forastiero A.(1), Aude G.(1), Guelfand L.(2), Kaufman S.(2), Agorio I.(1), Mellado E.(3), Córdoba S.(4)**

(1) Laboratorio de Microbiología, Hospital Británico de Buenos Aires. CABA, Argentina.

(2) Laboratorio de Microbiología, Hospital Juan A. Fernández. CABA, Argentina.

(3) Laboratorio de Micología, CNM, ISCIII. Madrid, España.

(4) Departamento Micología, INEI. "Dr. C. Malbrán". CABA, Argentina.

**Palabras clave:** anidulafungina, sensibilidad, *Candida*

### INTRODUCCIÓN

Los métodos de referencia disponibles para la determinación de la sensibilidad antifúngica son laboriosos y de difícil implementación en los laboratorios de microbiología clínica. Una alternativa es la difusión en medio sólido con tiras Etest. Sin embargo, el medio recomendado por el fabricante, RPMI-2% glucosa (RPMI), requiere estrictos controles en su elaboración y almacenamiento y presenta una vida útil corta.

### OBJETIVO

Evaluar el rendimiento del Etest en medio Mueller Hinton-2% glucosa- azul de metileno (MH), y en RPMI en comparación con la microdilución en caldo (MDC) según el EUCAST para anidulafungina (AN).

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron 40 *Candida* spp. recuperadas de pacientes con candidemia admitidos en dos hospitales de la Ciudad de Buenos Aires en un período de un año: *C. albicans* (15), *C. parapsilosis* (11), *C. glabrata* (3), *C. tropicalis* (4), *C. krusei* (5), *C. guilliermondii* (1) y *C. lusitanae* (1). Los aislados fueron identificados por Phoenix o Maldi Tof. *Candida parapsilosis* ATCC 22019 y *C. krusei* ATCC 6258 se utilizaron como cepas control.

La determinación de la CIM para AN se realizó mediante MDC de acuerdo al EUCAST (EDef 7.2) y con Etest en RPMI y en MH. La lectura de la CIM se realizó a las 24 y 48 h. Para la MDC se consideró la CIM50 (concentración que produce un 50% de inhibición), para el Etest el valor de CIM fue aquella concentración de AN en la cual la zona de inhibición interceptó la tira, no se consideraron las microcolonias dentro de esta zona. Se utilizaron los puntos de corte del EUCAST. Se calculó el coeficiente de correlación intraclase (CCI; SPSS Statistics versión 20), la concordancia esencial (CE) y concordancia categórica (CC), las discrepancias muy mayores (DMM, aislados resistentes por MDC y sensibles por Etest), mayores (DM, aislados sensibles por MDC y resistentes por Etest) y menores (Dm, aislados intermedios por MDC y resistentes o sensibles por Etest).

### RESULTADOS

Con la MDC el 95% de los aislados fueron sensibles a la AN. Dos cepas de *C. krusei* mostraron CIM  $>0,06 \mu\text{g/mL}$ , ambas fueron previamente caracterizadas a nivel molecular, y presentan mutaciones en el hot spot 1 del gen FKS1 (F655L y P663Q), una tercer cepa presentó una mutación heterocigota en el mismo gen (S659P/S) y una CIM:  $0,06 \mu\text{g/mL}$ . La CC del Etest con ambos medios y la MDC fue del 100%.

El CCI fue de 0,870 y 0,846 para el MH y el RPMI, respectivamente. La CE +/- una dilución aumentó de 85,7% y 80,9% a 97,6% y 95,2% para +/- dos diluciones en MH y RPMI, respectivamente. No se observaron DMM, DM y Dm. La CIM de las cepas control estuvieron dentro de los rangos establecidos.

### CONCLUSIONES

El agar MH podría ser utilizado para la determinación de la CIM a AN frente a las especies de *Candida* más frecuentes, ya que: (i) presenta una buena concordancia con el método de referencia, (ii) permite detectar cepas resistentes y (iii) se encuentra disponible en la mayoría de los laboratorios de microbiología.

## 1. Antifúngicos

# Caracterización fenotípica y molecular de la resistencia a las equinocandinas en aislamientos clínicos del complejo *Candida glabrata*. Período 1984-2014

**Morales-López SE.** <sup>1</sup> **Dudiuk C.** <sup>2</sup> **Taverna CG.** <sup>1</sup> **Bosco-Borgeat ME.** <sup>1</sup> **García-Effron GM.** <sup>2</sup> **Córdoba S.** <sup>1</sup>

1. Departamento Micología, INEI. "Dr. C. G. Malbrán", Buenos Aires, Argentina.

2. Laboratorio de Micología y Diagnóstico Molecular. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina.

**Palabras clave:** *Candida glabrata*, equinocandinas, resistencia molecular

**Introducción:** *Candida glabrata* es responsable del 15-20% de las infecciones por *Candida* y es considerada un patógeno oportunista mayor causante de infecciones comunitarias y nosocomiales.

El tratamiento de las infecciones suele ser difícil y en los casos de candidemia y candidiasis invasoras, ESCMID e IDSA han propuesto el uso de las equinocandinas como primera opción de tratamiento.

Recientemente se han descrito dos especies crípticas: *Candida nivariensis* y *Candida bracarensis*. Sin embargo, no han sido reportadas en Latinoamérica y aún no existen recomendaciones para su tratamiento.

La falta de datos epidemiológicos a gran escala que permitan tener una visión global del comportamiento de la sensibilidad de estos agentes justifica la realización de este trabajo.

**Objetivo:** Caracterizar fenotípica y molecularmente la sensibilidad a las equinocandinas (caspofungina y anidulafungina) en aislados clínicos del complejo *C. glabrata*

**Metodología:** Se incluyeron 114 aislados clínicos de *C. glabrata*, 6 de *C. nivariensis* y 3 de *C. bracarensis* conservadas en una colección de cultivos y recolectados durante 1984-2014.

Los aislados fueron identificados por métodos bioquímicos (zimograma, auxonograma, micro-macromorfología), proteómicos (MaldiToF) y moleculares.

La determinación de la CIM se determinó por microdilución en caldo. La interpretación de los resultados para anidulafungina se realizó de acuerdo al estándar EDEF 7.2 del EUCAST ( $R > 0.06$ ) y para caspofungina, se emplearon puntos de corte del documento M27-S4 del CLSI ( $R \geq 0.05$ ).

Se realizó sensibilidad por tiras Etest® en un aislado de *C. nivariensis* y dos de *C. bracarensis*, en quienes por escaso crecimiento no fue posible determinar la CIM por microdilución.

La resistencia molecular a las equinocandinas se estudió en *C. glabrata* por PCR para identificar cinco mutaciones en el Hot Spot 1 de *Fks1* y *Fks2* (*Fks1p-F625*; *Fks1p-S629*; *Fks1p-D362*; *Fks2-F659* y *Fks2-S663*).

**Resultados:** En general, no se detectaron cepas resistentes a equinocandinas. Los valores de CIM según las especies del complejo *C. glabrata* se presentan en el siguiente cuadro:

<b>Especie</b>	<b>Rango de valores de CIM (mg/L)</b>	
	Anidulafungina	Caspofungina
<i>Candida glabrata</i> (n= 114)	0,015-0,06	0,015-0,25
<i>Candida nivariensis</i> (n=5)	0,015-0,03	0,06-0,13
<i>Candida bracarensis</i> (n=1)	0,06	0,015
<i>Candida nivariensis</i> E-test (n=1)	0,032	0,006
<i>Candida bracarensis</i> E-test (n=2)	0,003-0,008	0,064

Ciento trece cepas de *C. glabrata* fueron negativas para mutaciones en Hot Spot 1 de *Fks1* y *Fks2*. Sólo una cepa presentó un perfil compatible con mutación en *Fks1p-S629*. Mediante secuenciación se demostró sustitución de una única base nitrogenada, sin producir cambios en la secuencia aminoacídica.

**Conclusiones:** No se observó expresión fenotípica de resistencia a equinocandinas entre las cepas del complejo *C. glabrata*.

Tampoco se encontraron cepas con mutaciones aminoacídicas en el Hot Spot 1 de *FKS1* y *FKS2* entre las cepas de *C. glabrata* y los resultados de secuenciación confirmaron que la mutación *Fks1p-S629* fue silente.

Para *C. glabrata*, en todos los casos existió concordancia entre los resultados de las técnicas fenotípicas y moleculares para determinar resistencia a equinocandinas.

## 1. Antifúngicos

# Candidiasis Invasoras: determinación de la susceptibilidad a Fluconazol y Anfotericina B

**Arteta Z. Barloco A. Otero A. Perera P. Carbia M. Ballesté R.**

Laboratorio de Micología - Departamento de Parasitología y Micología - Laboratorio de Patología Clínica - Hospital de Clínicas - Facultad de Medicina - UdelaR. Uruguay.

**Introducción:** las candidiasis invasoras son un importante problema de salud en distintos grupos de pacientes de alta complejidad, el aumento de las especies “no albicans” y resistencia a fluconazol han determinado la necesidad de un cambio en la conducta terapéutica en los últimos años. El conocimiento de la epidemiología local en este sentido es de fundamental importancia para adaptar los algoritmos de tratamientos empíricos iniciales y aún los dirigidos, con el objetivo de la utilización racional de los escasos recursos existentes para el tratamiento antifúngico.

**Objetivo:** Determinar la proporción de aislamientos con susceptibilidad disminuida a fluconazol y anfotericina B en cepas procedentes de candidiasis profundas/invasoras.

**Material y método:** se estudiaron 113 aislamientos de levaduras del género *Candida* procedentes de micosis invasoras que fueron aisladas de pacientes ingresados en distintos centros de internación de la capital del país, desde enero de 2007 y julio de 2015.

Las cepas fueron obtenidas de hemocultivos, retrocultivos, líquido pleural, líquido peritoneal, infección de sitio quirúrgico. Todas las levaduras fueron aisladas o referidas a los laboratorios de investigación en micología, allí fueron identificadas a nivel de especie por métodos fenotípicos (morfología, pruebas bioquímicas y biológicas). La determinación de la susceptibilidad a fluconazol y anfotericina B se realizó mediante la técnica de microdilución en caldo estandarizada del CLSI (M27-A3), VITEK 2, o ambas. La interpretación de los resultados de las concentraciones inhibitorias mínimas (CIMs) se realizó mediante los puntos de corte según especie propuestos por el CLSI.

**Resultados:** de los 113 aislamientos 57 pertenecen a especies “no albicans” (50%), dentro de ellos *C. parapsilosis* fue la más frecuente (21 aislamientos). En la distribución de especies le sigue *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. krusei* dentro de estas últimas se encuentran la mayoría de las cepas con susceptibilidad disminuida, dentro de las especies “no albicans” 15 presentan problemas de sensibilidad a fluconazol (son resistentes o con sensibilidad intermedia). De las 56 cepas identificadas como *Candida albicans* 8 resultaron con sensibilidad disminuida al fluconazol. Del total de las 113 cepas estudiadas 23 presentaron disminución de la sensibilidad al mencionado antifúngico lo que corresponde a un 20%. En cuanto a la anfotericina B solo 4 cepas mostraron una CIM B mayor a 1µg/ml.

**Conclusiones:** esta serie es concordante con la epidemiología regional que muestra alta frecuencia de cepas “no albicans” y a su vez, alta frecuencia de susceptibilidad intermedia o resistencia a fluconazol. La proporción de aislamientos con susceptibilidad disminuida es 20% del total siendo mayor dentro de las especies “no albicans”. Reconocemos en el estudio la debilidad de reportar el comportamiento de una serie de cepas dentro de las cuales hay aislamientos primarios y otras enviadas para estudio al laboratorio de referencia, por lo que puede presentar sesgo, no siendo representativa de la proporción de especies y susceptibilidad de las candidiasis profundas en nuestro país.

**Palabras clave:** Candidiasis profundas, Candidemia, Susceptibilidad a Fluconazol

## **2. Diagnóstico micológico**

## 2. Diagnóstico micológico

# Determinación de galactomanano en material respiratorio en el diagnóstico de aspergilosis pulmonar invasiva

**Autores: Pozzi N. Fernández N. Sierra M. Sandoval M. Farías L. Tiraboschi N. Hospital de Clínicas. Buenos Aires.**

**Palabras clave:** aspergilosis, galactomananos, material respiratorio.

**Introducción:** La determinación de galactomananos (GM) en lavado broncoalveolar (LBA) es un elemento que puede contribuir al diagnóstico de aspergilosis pulmonar invasiva (API). Sin embargo, hasta la fecha no se ha definido un punto de corte para esta localización.

**Objetivo:** Determinar la utilidad de la detección de GM en LBA en el diagnóstico de API.

**Materiales y métodos:** Estudio retrospectivo entre enero de 2012 y diciembre de 2014. Se incluyeron pacientes en quienes se realizó determinación de GM en suero y en LBA. Se registraron datos demográficos, síntomas, alteraciones tomográficas, tratamientos antimicrobianos recibidos y resultados de directo y cultivo micológico de LBA. La detección de GM se realizó a través de ELISA (Platelia Aspergillus Ag<sup>®</sup>, BIO-RAD). Se determinó en forma independiente GM en lavado bronquial (LB) y en lavado alveolar (LA). Los pacientes se clasificaron en API probada, API probable, API posible y pacientes sin API. Se excluyeron los pacientes con API posible. Las variables dicotómicas se analizaron a través de test de Fisher y chi cuadrado, y las variables continuas a través de la prueba de Mann-Whitney/Wilcoxon. La sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) se calcularon para las determinaciones de GM en LBA, LB y LA, así como para hallazgos tomográficos, microscopía/cultivo micológico del LBA y GM en suero. Se realizaron curvas ROC para determinar el valor más apropiado a considerar como punto de corte del GM en LBA, LA y LB.

**Resultados:** 12 pacientes presentaron diagnóstico de API (2 probadas y 10 probables) y 12 pacientes no reunieron criterios de API. Se excluyeron 11 pacientes (10 pacientes con API posible y un paciente con diagnóstico de fusariosis). En el grupo API, 11 pacientes (91,6%) presentaron GM en LBA  $\geq 0,8$ ; mientras que 3 pacientes (25%) del grupo control. La detección de GM en LBA para el diagnóstico de API presenta sensibilidad de 91,7%, especificidad de 75%, valor predictivo positivo (VPP) de 78,6% y valor predictivo negativo (VPN) de 90%. El análisis de las muestras respiratorias en forma independiente mostró que la sensibilidad fue mayor en LB que en LA; 83,3% frente 58,3% respectivamente. La sensibilidad de la determinación de GM en LBA fue superior a la microscopía, el cultivo micológico y GM en suero: 91,7% frente a 41,7%, 50% y 66,7%, respectivamente (tabla 1). El punto de corte para la determinación de GM en LBA en nuestra población fue de 0,8, con una precisión diagnóstica dada por el área bajo la curva (ABC) de 0,878 (error estándar 0,05-IC 95% 0,781-0,976).

**Conclusión:** la determinación de GM en LBA es útil en el diagnóstico de API, incluso en pacientes que presentan GM negativos en suero. Evaluar en forma independiente GM en LA y LB aumenta el rédito de la prueba.

**TABLA 1:**  
Comparación entre las diferentes pruebas diagnósticas

Prueba diagnóstica	Valor para el parámetro (IC95%)					
	Sensibilidad %	Especificidad %	VPP %	VPN %	CP+	CP-
GM en LBA (LA y/o LB)	91.7 (68.2-99.6)	75 (51.6-82.9)	78.6 (58.5-85.3)	90 (61.9-99.5)	3.67	0.11
GM en LA	58.3 (34.8-71.8)	83.3 (59.8-96.8)	77.8 (46.4-95.7)	66.7 (47.9-77.4)	3.5	0.5
GM en LB	83.3 (60.1-91.2)	91.7 (68.4-99.5)	90.9 (65.6-99.5)	84.6 (63.2-91.9)	10	0.18
GM en LA y LB	41.7 (21.3-41.7)	100 (79.6-100)	100 (51-100)	63.2 (50.3-63.2)	-	0.58
GM en suero	66.7 (44.5-66.7)	100 (78.7-100)	100 (66.7-100)	75 (58.3-75)	-	0.33
Microscopía positiva	41.7 (21.3-41.7)	100 (79.6-100)	100 (51-100)	63.2 (50.3-63.2)	-	0.58
Cultivo para Aspergillus	50 (28.7-50)	100 (78.7-100)	100 (57.3-100)	66.7 (52.4-66.7)	-	0.5

### Referencias:

IC 95%: Intervalo de confianza del 95%. GM: Galactomanano. LBA: Lavado broncoalveolar. LA: Lavado alveolar. LB: Lavado bronquial. IC 95: Intervalo de confianza del 95%. VPP: Valor predictivo positivo. VPN: Valor predictivo negativo. CP+: Cociente de probabilidad positivo. CP-: Cociente de probabilidad negativo.

## 2. Diagnóstico micológico

# Micosis notificadas en Argentina durante el año 2012

**Davel, G., Mazza, M., Rivas, M.C., Refojo, N., Canteros, C. E., Grupo Encuesta 2012**

**Introducción:** Las micosis afectan a una gran proporción de la población con diversos grados de severidad, que van desde infecciones superficiales leves a micosis invasivas de elevada morbi-mortalidad. En las últimas dos décadas se observó un incremento en el número y gravedad de las infecciones fúngicas oportunistas, la aparición de patógenos emergentes y aislamientos resistentes a los antifúngicos en nuestro país. La vigilancia activa de la situación epidemiológica de las micosis en Argentina permite determinar las intervenciones necesarias para la prevención y el control de estas enfermedades. Es nuestro objetivo comunicar los casos de micosis notificadas en Argentina en 2012 por los laboratorios asistenciales jurisdiccionales.

**Materiales y métodos:** Recolección de datos: Se encuestaron 150 laboratorios asistenciales de Argentina que realizan diagnóstico de micosis humanas. Se distribuyó un formulario para el registro de las diferentes patologías fúngicas, que se acompañó de un documento que detalla los criterios diagnósticos para cada enfermedad fúngica, y se solicitó a los participantes que notificaran las micosis diagnosticadas desde el 1 de enero al 31 de diciembre de 2012. Para el análisis se calculó la frecuencia de las micosis notificadas.

**Resultados:** Ochenta y cuatro laboratorios, distribuidos en todo el país, salvo la provincia de San Juan, notificaron un total de 19.135 casos de micosis, cuya distribución se muestra en la tabla 1.

Las levaduras fueron los agentes etiológicos más frecuentes (56,48%), predominando las localizaciones vaginales. Las micosis superficiales fueron las más frecuentes (54,20%) y los dermatofitos fueron los principales agentes etiológicos. Entre las micosis sistémicas diseminadas (7,94%), las endémicas fueron menos frecuentes (1,02%) que las oportunistas (6,91%). Las micosis subcutáneas fueron las de menor frecuencia (0,14%), predominando la esporotricosis (0,07%).

**Tabla 1: Distribución de las micosis notificadas en 2012.**

Micosis	Número de casos	Porcentaje (%)
Dermatofitosis	7421	38,78
Micosis superficiales por levaduras y hongos miceliales oportunistas	2951	15,42
Infecciones vaginales	6257	32,70
Infecciones mucocutáneas, orofaríngeas y esofágicas por levaduras	707	3,69
Oculares	139	0,73
Óticas	89	0,47
Senos paranasales y maxilares	26	0,14
Micosis subcutáneas	26	0,14
Histoplasmosis	128	0,67
Paracoccidioidomicosis	58	0,30
Coccidioidomicosis	10	0,05
Fungemias	541	2,83
Criptococosis	217	1,13
Micosis sistémicas causadas por levaduras diferentes de <i>Cryptococcus</i> spp.	211	1,10
Aspergilosis brocopulmonar crónica	176	0,92
Aspergilosis invasora	50	0,26
Hialohifomicosis	29	0,15
Feohifomicosis	14	0,07
Mucoromicosis	13	0,07
Neumocitosis	72	0,38
<b>TOTAL</b>	<b>19.135</b>	

### Conclusiones:

Este estudio integra los datos de la patología fúngica generados por un número importante de laboratorios distribuidos a lo largo de todo el país. Los resultados representan las micosis notificadas, lo que implica que el número real de casos en Argentina es superior a los valores obtenidos mediante este estudio. Sin embargo, estas notificaciones son una herramienta adecuada y de gran utilidad para hacer una aproximación a la situación de las micosis a nivel nacional.

### Palabras claves:

Epidemiología, Micosis, Argentina

## 2. Diagnóstico micológico

# Relevamiento de candida africana en muestras de flujo vaginal

**Podestá, M. V<sup>1</sup>; Tosello, M. E<sup>1</sup>; Amigot, S<sup>1</sup>; Dalman, M<sup>2</sup>; LermanTenenbaum, D<sup>1,2</sup>; Biasoli, M. S<sup>1</sup>**

1. Centro de Referencia de Micología (CEREMIC). Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario.

2. Hospital Escuela Eva Peron, Baigorria, Santa Fe, Argentina

**Introducción:** Candida africana surge como una nueva especie de Candida productora de vaginitis, indistinguible fenotípicamente de otras especies relacionadas como Candida albicans y Candida dubliniensis, constituyendo así parte del espectro a tener en cuenta en el diagnóstico y tratamiento de esta compleja patología.

**Objetivos:** Conocer la epidemiología de C. africana en muestras de flujo vaginal utilizando pruebas feno y genotípicas.

**Materiales y métodos:** Durante un período de 8 meses se recolectaron 76 cepas de C. albicans procedentes de muestras de flujo vaginal de mujeres de entre 19 y 54 años, que habían sido previamente identificados por CHROMAgar Candida (CHR) como presuntiva C. albicans en distintas instituciones públicas de nuestra zona y que fueron remitidas a nuestro centro para posteriores estudios fisiológicos y molecular.

Las cepas fueron repicadas en el medio general Sabouraud glucosa y en un medio de agar harina de maíz con 1% de Tween 80 (AHM) para observar su micromorfología luego de 5 días a 28°C.

Posteriormente se utilizó una técnica de biología molecular con cebadores específicos que amplifican un segmento específico del gen hwp1 (hyphal wall protein gene) que permiten identificar las distintas levaduras pertenecientes al complejo C. albicans. En el caso de C. albicans sensu stricto, la reacción amplifica un fragmento de 1000 pb, para C. dubliniensis se obtiene una banda de 569 pb, mientras que para C. africana se obtiene una banda de 700 pb aproximadamente.

**Resultados:** Micromorfología en AHM: 58 cepas, (58/76, 76%) filamentizaron y produjeron clamidoconidios; 13 cepas (13/76, 17%), filamentizaron sin la producción de clamidoconidios, y las 5 (5/76, 6%) cepas restantes no filamentizaron.

**Análisis molecular:** El 96% de las cepas estudiadas (72/76) amplificaron una banda de 1000 pb, 2 cepas (2/76, 2%) presentaron una banda a 569 pb y otras 2 cepas (2/76, 2%) presentaron la banda a 700 pb característica de C. africana.

Al analizar conjuntamente los datos obtenidos por la técnica de biología molecular y la micromorfología en medio AHM se pudo observar que: De las 72 C. albicans sensu stricto (94%) obtenidas mediante la técnica de PCR, 56 (78%) produjeron clamidoconidios en el medio AHM, mientras que, sólo 11 cepas (15%) no lo hicieron y 5 cepas (7%) del total no filamentizaron en este medio.

Las dos cepas identificadas como C. dubliniensis (2/76, 3%) produjeron clamidoconidios en el medio anteriormente descrito, mientras que, las dos cepas (2/76, 3%) identificadas como C. africana filamentizaron en el medio AHM pero no produjeron clamidoconidios luego de 5 días de incubación a 28°C.

**Conclusión:** A pesar de ser C. africana una especie de baja incidencia, su estudio en diversos centros a nivel mundial ha ido incrementando su frecuencia de aparición. En la actualidad, en nuestro país no se disponen de datos epidemiológicos sobre la misma, por lo que es de suma importancia clínica su correcta identificación molecular debido a que los métodos fenotípicos no son suficientes.

**Palabras claves:** Candida africana, Candida albicans, Candida dubliniensis, Flujo vaginal

## 2. Diagnóstico micológico

# Úlcera de Cornea por *Fusarium* spp.

**Bioq. Serrano J. A.**

Las úlceras de cornea han aumentado considerablemente entre las patologías oculares, siendo los hongos oportunistas, uno de los principales agentes etiológicos (junto a *Pseudomonas* sp. y *Staphylococcus aureus*), sobre todo por su agresividad.

Se presenta seis casos de pacientes con úlceras de cornea por hongos: dos de sexo femenino y cuatro de sexo masculino; todos mayores de edad y con antecedentes de microtraumatismos por cuerpos extraños, principalmente, fragmentos vegetales. Las mujeres eran ama de casa y los hombres realizaban trabajos rurales.

Todos recibieron tratamiento con diversos colirios con antibióticos (vancomicina, amikacina, ofloxacina, etc) y corticoides, sin mejoría alguna. Por el contrario, la úlcera progresó en forma tórpida en todos los casos. Cuatro de los pacientes, llegaron a perder por completo la visión.

Las muestras de las lesiones corneales se tomaron con espátula de Kimura y se hicieron observaciones directas, coloración de Gram y cultivos en medio Sabouraud miel, BHI agar, Agar Chocolate y Agar sangre.

En todos los casos, el examen directo reveló la presencia de filamentos hialinos, lo mismo que la coloración de Gram, lo que permitió instaurar rápidamente un tratamiento antimicótico en forma de colirio.

En los primeros 2 casos se empleó Anfotericina B al 15%, 1gota/hora, junto a fluconazol oral de 400 mg, sin una buena respuesta. Los pacientes manifestaron dolores intensos del ojo afectado y presentaron riesgo de perforación con pérdida de tejido ocular.

En otros, se utilizaron fortificados de Fluconazol, sin respuesta al tratamiento. Y por último, en los 2 pacientes restantes, se emplearon fortificados de Voriconazol con una mejora significativa de los síntomas y cultivos negativos.

Las cepas aisladas fueron: cuatro identificadas como *Fusarium solana*; y dos como *Fusarium dimerum*.

**Palabras clave:** úlcera, cornea, colirios, fusarium

## 2. Diagnóstico micológico

# Técnica rápida y sencilla para la extracción y amplificación del ADN de Dermatofitos

**Sordelli A<sup>1</sup>, Rodríguez Del Valle N<sup>1</sup>, Cuestas ML<sup>1</sup>, Carnovale S<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM, UBA-CONICET), Facultad de Medicina, UBA, Argentina.

Los dermatofitos son hongos filamentosos que tienen la capacidad de invadir los tejidos queratinizados del ser humano humano y de los animales causando infecciones que se denominan dermatoficias. La identificación del género y especie de estos hongos utilizando métodos convencionales es a veces dificultosa debido a que pueden presentar una macro y micro morfología atípica. Los estudios moleculares, como la amplificación de genes por PCR y su posterior secuenciación nucleotídica, se presentan como una alternativa para una rápida identificación de los mismos

El objetivo de este trabajo es presentar una técnica rápida y sencilla para la extracción del ADN fúngico de diversos aislamientos clínicos de dermatofitos y su posterior amplificación mediante PCR usando primers universales.

Para ello, se analizaron 20 cepas de dermatofitos previamente identificados macro y micromorfológicamente provenientes de escamas de pelos, piel y uñas. Se utilizó la técnica de extracción descrita por Makimura et al, donde las colonias fueron lisadas con un buffer específico, sometidas a tratamientos térmicos con ciclos de congelamiento-descongelamiento, con la posterior extracción del ADN usando fenol/cloroformo/alcohol isoamílico.

Luego de su extracción, se realizó una lectura espectrofotométrica a las longitudes de onda 230, 260 y 280 mediante NanoDrop para cuantificar y analizar su pureza. Posteriormente, el ADN extraído se utilizó como templado para la reacción de amplificación por PCR utilizando los primers ITS1 eITS4. Los productos de amplificación se separaron electroforéticamente en un gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio (0,5 µg/ml).

Los resultados de las lecturas espectrofotométricas del material extraído evidenciaron altos rendimientos y alta pureza del ADN en todos los casos. Los productos de PCR presentaron un tamaño de amplicón esperado (600 pb).

Dichos resultados sugieren que el método empleado demostró ser una herramienta útil y sencilla para la extracción y amplificación de ADN de dermatofitos para ser empleado posteriormente en técnicas de secuenciación nucleotídica.

2. Diagnóstico micológico

# Feline sporotrichosis: evaluation of cytopathology and fungal isolation during treatment with itraconazole

Silva, J. N.<sup>1,2</sup>, Reis, E. G.<sup>2</sup>, Gremião, I.D.F.<sup>2</sup>, Miranda, L.H.M.<sup>2</sup>, Menezes, R.C.<sup>2</sup>, Vieira, S. M. M.<sup>2</sup>, de Machado, A.C.<sup>2</sup>, Ferreiro, L.1, Pereira, S. A.<sup>2</sup>

1-Laboratório de Micologia, Faculdade de Veterinária, UFRGS.

2-Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos, INI/Fiocruz.

**Keywords:** sporotrichosis, cats, fungal culture, cytopathology

**Introduction:** Sporotrichosis is a subcutaneous mycosis caused by species from the *Sporothrix* complex and it is currently hyperendemic in Rio de Janeiro, Brazil. Cats have a great zoonotic potential since their cutaneous lesions usually present a high fungal load. The zoonotic transmission occurs through scratches and bites from infected cats or through the contact with exudate from their cutaneous lesions. The reference standard for the definite diagnosis of sporotrichosis is the isolation of *Sporothrix* spp. in culture medium from exudate or fragments of cutaneous lesions. Cytopathological examination has been used in the presumptive diagnosis of feline sporotrichosis due to its good sensitivity, which ranges from 78.9% to 84.9%, when compared to fungal culture. Therefore, because of its low cost, rapidity and easiness, cytopathology is routinely used for the presumptive diagnosis of feline sporotrichosis at veterinary clinics.

**Objective:** Evaluate the cytopathology and fungal culture in samples from cutaneous lesions of cats with sporotrichosis during the treatment with itraconazole.

**Material and Methods:** Cats with ulcerated cutaneous lesions and definite diagnosis of sporotrichosis were included in this study and treated with itraconazole 100 mg/cat/day. Cytopathological samples were obtained from impression smears on one glass slide of the ulcerated skin lesion and stained by the Quick Panoptic method. All slides were analyzed with a light microscope at a magnification of 1000x. Results were considered positive when at least one yeast-like structure suggestive of *Sporothrix* was verified. Concomitantly, a single collection of exudates from the edge of the same ulcerated skin lesion was performed with a sterile swab for fungal culture. The samples were seeded onto Sabouraud dextrose agar with chloramphenicol and Mycobiotic agar, incubated at 25 °C, and observed for four weeks. The isolates were subcultured on potato dextrose agar at 25°C and dimorphism was confirmed by conversion to the yeast phase in BHI broth at 37°C. The same procedures for sample collection were performed monthly in the same ulcerated lesion until its complete healing.

**Results:** A total of 82 cats with sporotrichosis were included. The results from cytopathology and fungal culture are shown in Table 1. Concerning the outcome, the complete healing of the cutaneous lesions was observed in 57 cats. Two cats died of sporotrichosis during the study and 14 cats were excluded from the study because their lesions remained active after two month treatment. Nine cats were also excluded due to treatment abandonment. Within 6 months, none of the cats presented active lesions and sample collections were no longer performed.

**Table 1: Results of mycological methods from ulcerated cutaneous lesions in cats with sporotrichosis during treatment with itraconazole.**

	Cats with ulcerated cutaneous lesions						
	T0 (n=82)	T1 (n=38)	T2 (n=16)	T3 (n=12)	T4 (n=2)	T5 (n=1)	
Mycological methods							
	EC	+ 73	23	7	3	0	0
	-	9	15	9	9	2	1
CM	+ 82	22	7	7	2	1	
	- 0	16	9	5	0	0	

CM: fungal culture / EC: cytopathology

**Conclusões:**

Within one month treatment, most of the cats had healed lesions and among those still presenting active lesions, there was a decrease in the percent of positivity in both mycological methods. This suggests a potential reduction in the fungal load and consequently in the risk of transmission of *Sporothrix* from cats to humans and other animals from this period of treatment.

## 2. Diagnóstico micológico

# Evaluación de la utilidad de Lateral flow device en el diagnóstico de Aspergilosis Invasora.

**Ignacio Delama<sup>1</sup>, Paulette Legarraga<sup>2,3</sup>, Tamara Gonzalez<sup>3</sup>, Patricia García<sup>2,3</sup> y Ricardo Rabagliati<sup>1</sup>**

1 Departamento Enfermedades Infecciosas del Adulto, Escuela de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago de Chile

2 Departamento de Laboratorios Clínicos. Escuela de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago de Chile

3 Laboratorio de Microbiología Red Salud UC-CHRISTUS.

**Introducción:** La incidencia de enfermedad fúngica invasora (EFI) ha ido en aumento en los últimos años. *Candida* spp y *Aspergillus* spp son los responsables entre 80 a 90% de éstas. Aspergilosis invasora (AI) es la EFI más frecuente en pacientes hemato-oncológicos. A pesar de los avances en el tratamiento antifúngico la mortalidad asociada sigue siendo elevada.

El diagnóstico definitivo de AI es difícil, requiriendo evidencia histológica de infiltración de tejidos o cultivo de *Aspergillus* spp. de un sitio estéril. La utilización de galactomanano (GMN), como marcador de EFI, ha significado un avance importante en el proceso diagnóstico de AI, sin embargo, no se encuentra disponible en todos los centros hospitalarios de nuestro país por dificultades de implementación y costos. Recientemente se ha descrito una nueva técnica diagnóstica mediante inmunocromatografía para el diagnóstico de AI, conocido como Lateral flow device (LFD) que permitiría realizar el diagnóstico de manera rápida y simple.

**Objetivo:** Evaluar el desempeño diagnóstico de LFD (OLM diagnostics®) en el diagnóstico de AI utilizando como gold standard el diagnóstico de AI basado en criterios EORTC/MSG.

**Materiales y métodos:** Se identificaron las muestras de suero y LBA conservadas en nuestro laboratorio congeladas a -80°C, que habían sido testeadas para GMN por vigilancia o sospecha de AI entre 2013 a 2015, provenientes de individuos > 15 años hospitalizados en nuestro Hospital.

Se realizó LFD según fabricante y se revisaron los datos clínicos de los casos para catalogarlos según criterios EORTC/MSG en AI probada/probable/posible o ausencia de AI. Se calculó sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) y concordancia entre LFD y GMN mediante Kappa.

**Resultados:** Se evaluaron 111 muestras de suero y 29 de LBA de las cuales 60,71% eran positivas para GMN. 61,42% de las muestras correspondían a pacientes hemato-oncológicos y 2,85% a trasplante de órganos sólidos. 64 (52,89%) correspondían a pacientes con AI probada/probable, 19 (13,57%) AI posibles y 57 (49,2%) a pacientes sin AI. De las muestras correspondientes a casos de AI probada/probable, LFD fue positivo en 79,7% y en el 48,3% de muestras de pacientes sin AI, resultando en una sensibilidad de 67,11% y especificidad de 71,1%. El VPP y VPN fue de 79,69% y 56,14% respectivamente con una concordancia entre GMN y LFD de 0,36 por Kappa.

### Conclusiones:

La sensibilidad de LFD obtenida fue similar a la reportada con GMN pero con una menor especificidad, esto puede ser debido a la subjetividad de la lectura de los resultados. Se hace necesario evaluar el desempeño de LFD en el seguimiento de los pacientes y optimizar la lectura objetiva del resultado. A nuestro juicio este test podría evaluarse como prueba de screening en pacientes de alto riesgo de AI permitiendo el inicio precoz de tratamiento a la espera de la confirmación mediante otra prueba con mejor especificidad como GMN u otra que se desarrolle en el futuro.

**Palabras claves:** Diagnóstico, Aspergilosis, Lateral Flow *Aspergillus*

## 2. Diagnóstico micológico

# Relevamiento de las micosis diagnosticadas en un Laboratorio de Asistencial de Rosario, período 2010-2015.

**Dalmaso H.; Ramadan S.; Amigot S.; Bulacio L.; Codino E.; Gómez C.; Luque A.; Podestá M.; Sortino M.; Tartabini M.; Tosello M.; Biasoli M.**

El número de micosis diagnosticadas en nuestro Centro se ha ido incrementando, entre otras causas, por el aumento de pacientes inmunosuprimidos. El objetivo de este trabajo es conocer la incidencia de las infecciones fúngicas en los últimos 5 años.

Se recibieron 6010 muestras, que fueron procesadas según análisis micológico de rutina incluyendo el examen microscópico y cultivo.

De 1099 muestras de piel y faneras, un 38% fueron positivas, obteniéndose desarrollo de: 203 (49%) *Candida* spp., 150 (37%) *Trichophyton* spp., 19 (4%) *Microsporum* spp., 1 (0,3%) *Epidermophyton* spp., 29 (7%) *Malassezia* spp., 10 (2%) *Scopulariopsis* spp. y 2 (0,6%) otros agentes.

De 280 flujos vaginales (FV) se obtuvieron 44 (16%) muestras positivas, aislándose *Candida albicans* en un 84% y un 16% de levaduras no *C. albicans*.

De 1053 líquidos cefalorraquídeos (LCR) analizados se aisló *Cryptococcus neoformans* en 31 muestras (3%), siendo el 97% restante muestras negativas.

En las 306 biopsias procesadas, se obtuvieron 62 (20%) muestras positivas encontrándose un 48% de hongos filamentosos, donde el hongo dimórfico *Histoplasma capsulatum* fue el más aislado; en tanto que un 52% correspondió a levaduras del género *Candida*.

En 128 orinas de punción suprapúbica (OPS) se encontraron 46 (36%) muestras positivas donde *C. albicans* fue la especie más aislada con un 47% y levaduras no *C. albicans* en un 53%. De 107 líquidos de punción (LP) analizados, sólo se recuperaron en 7 muestras (6%), cepas del género *Candida*. En 28 muestras de 84 (34%) lavados bronquioalveolares (BAL), se recuperaron cepas del género *Candida*. En 89 muestras (5 esputos y 84 BAL) recibidas para búsqueda de *Pneumocystis jirovecii*, se encontraron 6 muestras de BAL positivas. En 25 escarificaciones, se obtuvieron 5 (20%) resultados positivos para *H. capsulatum*. De un total de 1000 muestras de hemocultivos (HC) correspondientes a 431 pacientes, 54, pertenecientes a 36 pacientes (8%), resultaron positivas. Las levaduras del género *Candida* fueron las más aisladas (83%), siendo *Candida parapsilosis* la especie más recuperada (33,4%). El 17% restante correspondió a *C. neoformans* e *H. capsulatum* en igual proporción. En piel y faneras el género *Candida* y *Trichophyton* fueron los más aislados. Por otro lado en materiales de FV; biopsias; OPS; en LP y en BAL, el género *Candida* mostró el mayor porcentaje de aislamientos siendo *C. albicans* la más frecuente, seguida por *C. parapsilosis*; *C. tropicalis* y *C. glabrata*. Esto revela la importancia de este género en las patologías fúngicas. Por el contrario, en los HC la especie más aislada fue *C. parapsilosis*. Cabe aclarar que el carácter de agente etiológico de micosis por parte del género *Candida*, se evalúa en el contexto de la clínica general del paciente, su estado inmunológico y la terapéutica antimicrobiana recibida. Estos hallazgos aportan información a la epidemiología regional y nacional de las micosis, permitiendo visualizar micosis emergentes. La identificación permite la realización de las pruebas de sensibilidad antifúngica que favorece la instauración de un tratamiento seguro, rápido y eficaz; colaborando con la evolución favorable de los pacientes.

## 2. Diagnóstico micológico

# Entomoftoromicosis causada por *Conidiobolus* sp. en paciente diabética

**Ramadán S.1, Naninni E. 2, Toresani I.3, Luque A. 1**

Las especies de *Conidiobolus* son hongos patógenos capaces de producir sinusitis crónica; que puede extenderse al tejido subcutáneo adyacente. El objetivo del trabajo es presentar el primer caso en nuestro país de entomoftoromicosis causada por *Conidiobolus* sp. en una paciente con cuadro infeccioso a nivel sinusal.

La paciente diabética tipo II con requerimiento de tratamiento insulínico consultó por un cuadro de dolor sinusal y rinorrea de 2 meses de evolución. Al examen presentó edema facial de hemicara izquierda, obstrucción nasal y secreción purulenta por narina izquierda. El informe de la TAC de senos más los hallazgos clínicos coinciden con el diagnóstico de pansinusitis a predominio izquierdo y etmoidal, invasiva, con compromiso de partes blandas de orofaringe y cavum y asociada a celulitis facial. Se prescribe cefepime y clindamicina por vía endovenosa. El día posterior a la internación se realizó la sinusostomía endoscópica. Se tomaron muestras para cultivo microbiológico y una biopsia donde se constata cambios inflamatorios significativos de toda la mucosa sinusal.

En el laboratorio de micología se recibieron muestras de biopsias de orofaringe, seno maxilar y etmoidal. Se les realizaron exámenes microscópicos y cultivos micológicos a 28°C y 37°C. En el examen directo y coloraciones, se observaron hifas de 6-10  $\mu$ m con conidióforos desde el cual se desprendía un conidio primario de 14-29  $\mu$ m aproximadamente. Algunos macroconidios presentaban apéndices formados por microconidios de aproximadamente 13  $\mu$ m de diámetro. Desde el conidio primario también se visualizó la formación de microconidios. En los cultivos se obtuvo desarrollo de levaduras, *Mucor* sp. y *Aspergillus niger*, por lo tanto el hongo observado en los exámenes de los materiales clínicos no se pudo aislar, aunque sí se identificó como perteneciente al género *Conidiobolus* debido a las estructuras observadas en el material clínico.

La paciente recibió tratamiento con anfotericina B desoxicolato más trimetoprima-sulfametoxazol (TMP-SMZ) vía oral, realizándose procedimientos quirúrgicos de debridamiento. En los mismos se observaban zonas de necrosis en parche de la mucosa sinusal, faringe y cavum. A la semana se administró anfotericina B liposomal, a dosis de 4 mg/kg/día, continuando con TMP-SMZ por vía oral. Sin embargo, la paciente persistió con edema facial, obstrucción nasal significativa, dificultad en la alimentación requiriendo alimentación enteral, y deterioro progresivo de su estado general. Después de dos meses de hospitalización sin mejoría de su patología, la paciente resuelve no ser sometida a nuevos procedimientos quirúrgicos, decidiéndose su externación con TMP-SMZ vía oral en su domicilio, perdiéndose el seguimiento posterior.

El caso presentado reviste importancia al momento de manejar los diagnósticos diferenciales como: mucormicosis rinofaciocraneal, neoplasias, abscesos piógenos, tuberculosis y rinosporidiosis.

Las entomoftoromicosis son infecciones poco frecuentes y se producen en regiones tropicales y subtropicales. En América del sur hasta el momento sólo se habían producido casos en Brasil y Colombia, siendo éste el primer caso reportado en nuestro país de sinusitis causadas por *Conidiobolus* sp.

**Palabras claves:** *Conidiobolus*, sinusitis.

## 2. Diagnóstico micológico

# Devastador daño ocular por coinfección de *Fusarium solani* y *Acanthamoeba* sp.

**Apestey N.; Mujica T.; Pola S.; Peñalba J.; Miquel A.**

Hospital Oftalmológico Santa Lucía CABA Argentina - Centro de Micología Facultad de Medicina UBA Argentina.

### **Introducción**

Las queratitis se clasifican en grado I, II, III y IV de acuerdo al compromiso de las distintas capas corneales afectadas y presencia de hipopion. Ante un trauma o lesión, por causas intrínsecas o extrínsecas, los diferentes microorganismos pueden causar infecciones severas. Los usuarios de lentes de contacto presentan micro escoriaciones que se producen en la córnea por el uso inadecuado y/o por falta de higiene. Palabra clave: Coinfección.

### **Resumen Clínico**

Paciente de 57 años, sexo femenino, diabetes tipo I, hipertensa, usuaria de lentes de contacto, derivada de otro centro oftalmológico con un absceso corneal para descartar endoftalmitis. La paciente refiere dolor intenso en la córnea. El oftalmólogo realizó un examen inicial y controles posteriores bio-microscópico con lámpara de hendidura, agudeza visual, presión intraocular, fondo de ojo y ecografías.

Exámenes microbiológicos: se realizó raspado de córnea con espátula de Kimura en tres consultas consecutivas (examen inicial y controles posteriores). Se efectuó el examen directo con coloraciones de Gram, Giemsa y cultivo en medio de Sabouraud y Agar sin nutriente con suspensión densa de *Escherichia coli* ATCC 25922 con incubación a 37°C, para el aislamiento de *Acanthamoeba* sp. hasta diez días.

### **Resultados**

El examen directo de la primera muestra fue negativo, en la segunda muestra se observaron filamentos hialinos tabicados y en la tercera muestra se observaron micelios hialinos tabicados con quistes compatibles con *Acanthamoeba* sp. El primer y el segundo cultivo fueron negativo y en el tercer cultivo se aislaron dos agentes etiológicos distintos, *Acanthamoeba* sp. y *Fusarium solani*.

Tratamiento : se inició tratamiento tópico con Voriconazol 1% más Polixametilbiguanida 0.02%. Como la respuesta fue desfavorable, se realizó recubrimiento conjuntival de la córnea continuando con el tratamiento inicialmente instaurado (antimicótico y anti amebiasico).Actualmente continúa tratamiento con lenta y buena evolución.

### **Conclusiones**

En usuarios de lentes de contactos debe considerarse a las queratitis por las micoabrasiones y/o falta de higiene. Es necesario el diagnostico microbiológico para descartar la posibilidad de coinfección. *Fusarium solani* es una especie habitualmente implicada en queratomycosis. Es importante la búsqueda insistente de *Acanthamoeba* sp ante la persistencia del dolor intenso y la falta de respuesta al tratamiento empírico.

Señalamos la efectividad del recubrimiento conjuntival en combinación con voriconazol 1% más Polixametilbiguanida 0.02%. en las queratitis por *F. solani* y *Acanthamoeba* sp para este caso.

## 2. Diagnóstico micológico

# Aislamiento e Identificación de Levaduras en Queratopatías.

**Apestey N.; Iovannitti C.; Pola S.; Corvino V.; Brunzini R.**

Consultorio Oftalmológico Dr Brunzini CABA Argentina.  
Centro de Micología Facultad de Medicina UBA Argentina.

### **Introducción**

Los hongos filamentosos y levaduriformes son agente etiológicos de queratomicosis en nuestro país, siendo los hongos filamentosos los que afectan con mayor frecuencia y el principal factor de riesgo es el trauma vegetal. Las levaduras del genero *Candida* predominan cuando existen antecedentes de enfermedades crónicas de la superficie ocular, uso prolongado de esteroides tópicos, lentes de contacto, enfermedades metabólicas como diabetes mellitus, tratamientos con inmunosupresores y en trasplante de córnea relacionados con problemas en la sutura. Palabra clave: Queratomicosis.

### **Resumen clínico**

Se estudiaron ocho pacientes con queratitis micótica. Caso 1 por uso de lentes de contacto. Caso 2 injerto de córnea con historial de queratopatía. Caso 3 trauma por insecto más el uso de anestésico durante un mes. Caso 4 paciente con antecedente de diabetes mellitus, ojo seco, cirugía complicada no oftalmológica, con internación en unidad de cuidados especiales. Caso 5 trasplante de córnea por antecedente de queratopatías. Caso 6 trauma por aguijón de abeja. Casos 7 y 8 queratitis infecciosa con enfermedad penfigoide ocular.

### **Exámenes micológico**

En todos los casos el oftalmólogo procedió a la toma de muestra bajo lámpara de hendidura para el estudio microbiológico. En seis de las muestras se usó la técnica de raspado con espátula de kimura del borde externo de la lesión y se realizó in situ dos extendidos para coloración de Gram y Giemsa. Fueron sembradas en agar sangre, agar chocolate, agar Sabouraud y tioglicolato; y una muestra de humor acuoso obtenida por punción de cámara anterior en quirófano. La incubación de los medios se realizó a 37°C y a 28°C durante siete días. Resultados: Los aislamientos levaduriformes obtenidos se identificaron fenotípicamente por sus características morfológicas, y estudios bioquímicos tradicionales y pruebas de sensibilidad antifúngica. El resultado de estos estudios permitió aislar e identificar, *Cándida parapsilosis* en tres pacientes de los casos 1, 5 y 6. *Cándida albicans* en dos pacientes que correspondieron a los casos 4 y 5. *Candida guilliermondii* aislada del paciente del caso 2 y *Rhodotorula* spp aislada del caso 7. Del caso 8 se aisló *Candida* no *albicans* en estudio de secuenciación.

### **Conclusiones**

En las queratopatías infecciosas la etiología bacteriana es más frecuente que las micóticas, por lo que siempre se debe hacer el estudio microbiológico para bacterias y para hongos. Este trabajo micológico permitió conocer el género y especie de las levaduras alertando sobre la presencia de cepas no *albicans*, orientando el tratamiento antifúngico a seguir. El uso de antimicóticos en oftalmología es complejo ya que muchos de ellos necesitan una determinada preparación para alcanzar concentraciones adecuadas. Las infecciones oculares tienen un especial interés por el efecto devastador que un microorganismo puede causar en este órgano, si no se instaura o modifica un tratamiento adecuadamente eficaz desde los estadios temprano del proceso.

## 2. Diagnóstico micológico

# Micosis diagnosticadas en el Hospital Nacional Posadas en dos períodos: año 2000 y 2011

**Posse, G. <sup>1</sup>; Capece, P. <sup>1</sup>; Racca, L. <sup>2</sup>; Tosello, M <sup>3</sup>.**

1 Hosp. Nac. Posadas, Buenos Aires.

2 Area Estadística,

3 CEREMIC, Fac. de Cs. Bioq. y Farm.; UNR Rosario. Argentina.

### **Introducción**

Conocer las infecciones fúngicas de la población de una institución de salud permite implementar medidas preventivas y tratamientos adecuados.

### **Objetivo**

Determinar y comparar estadísticamente la frecuencia de las micosis diagnosticadas (superficiales, profundas y subcutáneas), en un hospital general del conurbano bonaerense en dos períodos (año 2000 y 2011).

### **Materiales y Métodos**

Se estudiaron 2792 pacientes con sospecha de micosis durante el año 2000, y durante el año 2011 asistieron 2863 pacientes. En los pacientes con sospecha de micosis superficiales las localizaciones estudiadas fueron: cuero cabelludo, piel lisa, uña de mano y de pie, interdigital y planta de pie. Las muestras de micosis profundas y subcutáneas analizadas fueron: LCR, líquidos de punción (pleural, ascítico, pericárdico y peritoneal), lavado bronquioalveolar, aspirados traqueales, esputos; escarificación de paladar, biopsias, hemocultivos, médula ósea y sueros. Para las muestras de micosis superficiales, el examen directo se realizó utilizando KOH 40% mezclado al medio con tinta azul negro permanente de Parker; los cultivos se realizaron en: Agar Saboureaud (Sb), Agar Sb con cloranfenicol, Lactrimel y agar DTM selectivo para dermatofitos. Se incubaron a 28 °C por tres semanas. Para Malasseziosis el diagnóstico se realizó por examen directo, no se realizaron cultivos. En tanto que para las de micosis profundas y subcutáneas todas las muestras líquidas fueron centrifugadas, y trituradas las sólidas. Se realizaron exámenes directos en fresco, con blanco de calcofluor y coloración de Giemsa, excepto los LCR donde los exámenes directos se prepararon con tinta china. Los cultivos se incubaron por cuatro semanas en: Agar Sabouraud (Sb) y Sb con cloranfenicol a 28°C; Sb y Agar cerebro corazón a 37°C. En todos los casos la identificación de los agentes fue por macro y micromorfología en los filamentosos y por sistema automatizado VITEC para las levaduras

### **Resultados**

El 50% de las muestras superficiales resultaron positivas, siendo el 60% de las mismas de pacientes del sexo femenino en ambos periodos estudiados. Entre las dermatofitosis las de mayor frecuencia fueron principalmente las onicomycosis de pies, con *Trichophyton rubrum* como agente más frecuente, en mayores de 20 años de ambos sexos y en ambos periodos; las candidiasis superficiales predominaron en las onicomycosis de manos. En pacientes de sexo femenino fue similar en ambos años alrededor del 60%, mientras que en pacientes del sexo masculino fue 15% en el año 2000 duplicándose en 2011. Las Malasseziosis resultaron similares en ambos períodos.

Las Neumocistosis y las Candidiasis sistémicas fueron más frecuentes en el año 2000 que en el 2011, aunque en éste último año predominaron especies no *Candida albicans*. Sin embargo las Criptococosis y las Aspergilosis aumentaron en el año 2011 respecto al año 2000. En ambos periodos las histoplasmosis resultaron similares, mientras que las Paracoccidioidomicosis y las micosis subcutáneas resultaron poco frecuentes.

### **Conclusiones**

Es importante conocer los agentes causales para identificar la fuente de infección, impartir la terapia antifúngica y poder detectar cambios en la epidemiología y parasitismo de especies fúngicas.

**Palabras claves:** epidemiología, micosis superficiales, micosis profundas

## 2. Diagnóstico micológico

# Producción de antígenos recombinantes para el diagnóstico serológico de histoplasmosis

**Cabeza M.<sup>1</sup>, Macedo D.<sup>1</sup>, Ibarra-Camou B.<sup>2</sup>, Dudiuk C.<sup>1,3</sup>, Leonardelli F.<sup>1,3</sup>, Suárez-Álvarez R.O.<sup>2</sup>, Gamarra S.<sup>1</sup>, Cantero C.<sup>2</sup>, Garcia-Effron G.<sup>1,3</sup>**

1 Laboratorio de Micología y Diagnóstico Molecular - Cátedra de Parasitología y Micología - Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas - Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe. Argentina.

2 Departamento Micología, INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán".

3 CONICET

### Introducción

La histoplasmosis es una infección fúngica sistémica que se adquiere por la inhalación de los conidios del hongo dimórfico *Histoplasma capsulatum* (Hc).

El gold standard para el diagnóstico de histoplasmosis es la detección de Hc en cultivo.

Este método requiere de hasta 45 días para observar el desarrollo del hongo, tiene poca sensibilidad y es peligroso ya que Hc es un patógeno clase 3. El método de diagnóstico indirecto que busca anticuerpos anti-histoplasmina por inmunodifusión es específico, de fácil realización e interpretación; por lo que es muy difundido mundialmente y utilizado por el 33% de los laboratorios de la Red Nacional de Laboratorios de Micología de Argentina. La histoplasmina es un antígeno crudo y se obtiene de manera artesanal, lo que hace que sea difícil de estandarizar y de producir en grandes volúmenes, además, de suponer un riesgo biológico importante por el manejo de cultivos vivos durante la producción.

### Objetivo

Producir antígenos de Hc (derivados de los antígenos H y M) empleando la tecnología del ADN recombinante evitándose así emplear cultivos fúngicos vivos.

### Materiales y métodos

Se construyeron modelos estructurales para las proteínas M y H utilizando modelado por homología. La información estructural generada se utilizó para definir las zonas más antigénicas. Las secuencias de interés se amplificaron por PCR utilizando ADN genómico como molde.

Las secuencias nucleotídicas se ligaron primero en un vector para conservación y secuenciación (pGEM-T Easy) y posteriormente en un vector de expresión inducible, que genera una fusión a la MBP de *Escherichia coli* y a una etiqueta de hexahistidinas. Luego, se indujo la expresión y se obtuvieron los extractos crudos por sonicado. De estos, se purificaron las proteínas de interés por cromatografía de afinidad a metal inmovilizado (IMAC). Finalmente se evaluó la antigenicidad de las proteínas mediante Dot Blot, utilizando un suero anti-histoplasmina obtenido en conejo.

### Resultados

Los modelos estructurales construidos permitieron definir las porciones de interés para el antígeno M (CterM) y para el antígeno H (CterH). Se logró amplificar por PCR dichas secuencias y en el caso de CterH, se eliminó un intrón presente en la región codificante, utilizando la técnica de PCR de fusión. La identidad de los clones obtenidos fue verificada por secuenciación.

Se obtuvo una buena expresión de ambas proteínas en *E. coli* y se las logró purificar en un solo paso mediante IMAC. Tanto CterM como CterH resultaron mejores antígenos que la histoplasmina al ser evaluadas por la técnica de Dot Blot.

### Conclusión

Se logró obtener dos antígenos recombinantes de Hc. El método de obtención es simple y evita la utilización de organismos patógenos. En estudios posteriores, mediante el desarrollo de un ensayo de ELISA, se evaluará si tanto CterH como CterM son útiles para el diagnóstico de la histoplasmosis.

**Palabras clave:** Modelado, antígenos recombinantes, histoplasmosis.

## 2. Diagnóstico micológico

# Prevalencia de histoplasmosis, neumocistosis, criptococosis y paracoccidiodomicosis en una cohorte de pacientes con sospecha clínica de infección fúngica invasora (IFI) y concordancia entre métodos de diagnóstico.

**Rivera V<sup>1</sup>, Gaviria M<sup>1</sup>, Muñoz CO<sup>1</sup>, Rodríguez LM<sup>3</sup>, Cano LE<sup>1,2</sup>, y Naranjo TW<sup>1,3</sup>**

1 Grupo de Micología Médica y Experimental, Corporación para Investigaciones Biológicas.

2 Escuela de Microbiología de la Universidad de Antioquia.

3 Escuela de Ciencias de la Salud de la Universidad Pontificia Bolivariana. Medellín-Colombia.

### Introducción

En nuestro país es muy poco lo que se conoce en cuanto a prevalencia/incidencia de histoplasmosis (HP), neumonía por *Pneumocystis jirovecii* (PcP), criptococosis y paracoccidiodomicosis (PCM). A pesar de su relevancia clínica, esta situación se da debido a que las IFI no son de notificación obligatoria, tienen baja sospecha clínica por parte del médico y existen dificultades para su diagnóstico.

### Objetivo

Determinar mediante un análisis de concordancia entre resultados obtenidos por métodos convencionales como moleculares, la prevalencia de IFI específicamente histoplasmosis, neumocistosis, criptococosis y paracoccidiodomicosis.

### Materiales y métodos

Estudio transversal analítico en el que se incluyeron pacientes con sospecha clínica de IFI, entre Julio de 2012 y Noviembre de 2014. Se recolectó información de las variables demográficas, clínicas y resultados de pruebas convencionales y moleculares a partir de los resultados de laboratorio como de la revisión de historias clínicas. Las variables cualitativas se describieron mediante frecuencias absolutas y relativas, y las cuantitativas con mediana y rango intercuartílico. La concordancia entre los métodos diagnósticos convencional y molecular se determinó estimando el acuerdo total y el coeficiente Kappa con un intervalo de confianza del 95. Se realizó un análisis exploratorio utilizando la prueba Chi cuadrado para determinar los posibles factores relacionados con la presencia de estas IFIS; se realizó un análisis multivariado de regresión binomial estimando las razones de prevalencia con intervalos de confianza del 95.

### Resultados

Se evaluaron 1069 pacientes, 57,5% fueron hombres, con una mediana de edad de 50 años (RIQ: 30-65), 44% eran inmunocomprometidos de los cuales 50,4% eran VIH. Los hallazgos clínicos más relevantes entre los infectados fueron las manifestaciones respiratorias (78%) y hematológicas (55%). Se observó que presentar un estado inmune alterado, aumenta la susceptibilidad a desarrollar alguna de las IFI evaluadas. La concordancia entre las pruebas de diagnóstico, presentaron coeficientes kappas para HP, PcP, C. neoformans/gattii y PCM 0,73; 0,2; 0,74 y 0,4 respectivamente. La prevalencia de IFI fue 13,3%, distribuida en 7,8%; 3,4%; 2,9% y 0,4% para PcP, criptococosis, HP y PCM, respectivamente.

### Conclusiones

Con el desarrollo de este primer estudio multicéntrico, se logró entender un poco más el comportamiento de estas IFI en nuestra población, evidenciando la importancia no solo de tener la sospecha clínica de infección, sino también de implementar métodos de diagnóstico convencional y molecular, que en conjunto permitan un correcto y oportuno diagnóstico de las IFI.

**Palabras clave:** IFI, diagnóstico convencional y molecular. Proyecto financiado por Colciencias, Código No.: 2213-519-28916

## 2. Diagnóstico micológico

# Evaluación del sistema BD Phoenix™ para la identificación de las especies más frecuentes del género *Candida* aisladas de muestras clínicas

**Marucco, A.<sup>1</sup>; Sorge, A.<sup>2</sup>; Minervini, P.<sup>3</sup>; Snitman, G. Guelfand, L. e Integrantes de la Red de Micología CABA**

1 Hospital de Agudos Santojanni, 2 instituto de Oncología Roffo, 3Hospital Oftalmológico Santa Lucía Guelfand.

### Introducción

*Candida albicans* es la levadura aislada con mayor frecuencia en muestras clínicas, pero otras especies se recuperan cada vez más en pacientes con infecciones fúngicas. La importancia de la identificación definitiva radica en que algunas especies de *Candida* pueden presentar o desarrollar una reducción en la sensibilidad a una o varias drogas antifúngicas, que conlleva a importantes repercusiones clínicas.

### Objetivo

Evaluar el panel YEAST ID del sistema BD Phoenix™ para la identificación de las levaduras del género *Candida* aisladas con mayor frecuencia de muestras clínicas

### Materiales y métodos

Se estudiaron 170 cepas del género *Candida* provenientes de muestras clínicas del cepario perteneciente a la Red de Micología del CABA: 39 *C. tropicalis*, 32 *C. glabrata*, 27 *C. guilliermondii*, 26 *C. albicans*, 20 *C. parapsilosis*, 21 *C. krusei*, 4 *C. dubliniensis*, 1 *C. lipolytica*. Las mismas fueron identificadas por API 20C AUX o API ID 32C (bioMérieux), como método de referencia. Las cepas se repicaron en CHROMagar *Candida* para verificar su pureza. Los paneles de BD Phoenix™ fueron inoculados a partir de un subcultivo en agar Sabouraud glucosado incubados por 48 h a 35°C. Se consideraron aceptables aquellas identificaciones que dieron porcentajes de confianza >90%. Se utilizaron como cepas control *C. krusei* ATCC6258, *C. parapsilosis* 22019, *C. albicans* ATCC 64548.

### Resultados

Todas las cepas analizadas tuvieron porcentajes de confianza entre 95-99%, el tiempo de detección promedio fue de 8,22 h (rango: 4,23-15,68). El porcentaje de concordancia del sistema BD Phoenix™ y API fue de 91%

Genero y especie	API (n)	BD Phoenix	Índice de Concordancia (%)	Tiempo de detección horas	Discrepancias por Phoenix
<i>C. tropicalis</i>	39	37	0,95	6,34 (4,23-8,43)	2 <i>C. utilis</i>
<i>C. glabrata</i>	32	27	0,84	10,32 (8,12-15,68)	3 <i>C. parapsilosis</i> , 1 <i>C. guilliermondii</i> , 1 <i>C. lusitanae</i>
<i>C. guilliermondii</i>	27	24	0,89	7,44 (4,43- 15,67)	2 <i>C. melobiosica</i> , 1 <i>C. parapsilosis</i>
<i>C. albicans</i>	26	26	1	5,42 (4,23- 8,45)	
<i>C. parapsilosis</i>	20	19	0,95	8,21 (4,25-15,66)	1 <i>C. tropicalis</i>
<i>C. krusei</i>	21	20	0,95	15,34 (8,42-15,67)	1 <i>C. glabrata</i>
<i>C. dubliniensis</i>	4	2	0,50	4,48	2 <i>C. albicans</i>
<i>C. lipolytica</i>	1	0	0	-	1 <i>C. rugosa</i>

### Conclusiones

Los paneles YEAST ID del sistema BD Phoenix™ resultaron ser un método confiable, útil y rápido para la identificación rutinaria de levaduras más frecuentes aisladas de muestras clínicas. Es importante resaltar que la identificación se realizó en un promedio de solo 8 hs, mientras que el sistema API el tiempo de detección es de 24 a 48hs

## 2. Diagnóstico micológico

# Utilidad de un equipo de ELISA para la detección de antígeno de Histoplasma en pacientes con sida

**Bianchi M., Arechavala A., Messina F., Santiso G., Depardo R., Marín E.**

Unidad Micología, Hospital de Infecciosas F. J. Muñiz, CABA, Argentina

La histoplasmosis es una micosis sistémica que afecta frecuentemente a individuos infectados por HIV. Ese grupo de enfermos padecen formas agudas o subagudas y cuando presentan lesiones cutáneo-mucosas (> 60% de los casos en nuestro país), el diagnóstico temprano se ve facilitado porque es posible la visualización de las levaduras en exámenes directos. Sin embargo, hay un porcentaje de enfermos que no presentan manifestaciones cutáneas y cuya sintomatología es similar a la de varias infecciones asociadas al sida. En estos casos el diagnóstico se alcanza muchas veces a partir de los hemocultivos, pero esto demanda un tiempo considerable y la mortalidad en pacientes no tratados es muy elevada (30%).

En los últimos años se han desarrollado técnicas de Elisa para la detección de antígenos circulantes de Histoplasma en orina o suero con resultados promisorios. Estos métodos son accesibles en EE. UU. y hace poco tiempo el CDC ha desarrollado un equipo que fue validado en Guatemala y también en Colombia.

### Objetivos

Analizar la sensibilidad y especificidad de un equipo de diagnóstico de histoplasmosis por Elisa para detección de antígeno galactomanano en distintas muestras de pacientes con histoplasmosis asociada al sida.

### Materiales y métodos

Se analizaron 98 muestras de diversos fluidos orgánicos.: 66 sueros, 28 orinas, 3 LBA y 1 LCR correspondientes a 61 pacientes. (25 con histoplasmosis asociada al sida y 7 en HIV negativos y como control 27 enfermos con otras afecciones que podían hacer sospechar esta micosis y a los que se les había solicitado su investigación).

Se realizaron las determinaciones con un equipo para detectar galactomanano de Histoplasma de IMMY (Immunomycologics, Norman Ok. EE. UU.)

### Resultados

Controles. Catorce muestras de suero y 2 de orina fueron negativas. En las 11 muestras positivas los niveles de antígeno variaron entre 0,75 y 2,65 ng/ml excepto en un caso de aspergilosis donde el valor ascendió a 14,59 ng/ml. Histoplasmosis en HIV positivos. Los resultados fueron positivos en 25/33 sueros y 18/24 orinas, 2/3 LBA. Fueron negativos en 8/33 sueros y 6/24 orinas, 1/3 LBA y 1 LCR. De estos resultados negativos, algunos fueron sueros de pacientes con antigenuria positiva, otros correspondieron a controles post tratamiento y solamente en 3 pacientes fueron negativas en el momento del diagnóstico. Ocho de los 10 pacientes con ID positiva, mostraron la presencia de galactomanano en suero u orina. La concentración de antígeno en los 2 LBA positivos fue muy elevada (46 y 38,9 ng/ml)

Histoplasmosis en HIV negativos. Fueron positivos 2/8 sueros y 1/3 orinas. Los enfermos presentaron en su mayoría anticuerpos circulantes, algunos correspondían a controles de tratamiento y en un caso con 4,54 ng/ml de antigenemia también tenía inmunodifusión positiva con título 1/32 en el momento del diagnóstico.

### Conclusiones

La sensibilidad de la detección de galactomanano en suero de pacientes con histoplasmosis en sida fue de 76% y en orina del 75% y la especificidad en suero fue 56%. En orina solo se realizaron 2 determinaciones en el grupo control que resultaron negativas. Aunque el número de pacientes es escaso, observamos que esta técnica contribuye al diagnóstico de la histoplasmosis asociada al sida; los niveles de galactomanano fueron muy elevados en orina. Al igual que las técnicas para detección de antígenos para otras micosis presenta algunas reacciones cruzadas.

## 2. Diagnóstico micológico

# Caracterización molecular de cepas de *Cryptococcus* spp aisladas de casos de meningoencefalitis

**Autores: Cabeza. E; Arteta. Z; Perera. P; Carbia. M; Betancor. L.**

Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR. Montevideo-Uruguay.

### **Introducción**

*Cryptococcus* spp causa más de un millón de casos por año en pacientes con VIH-SIDA y 625.000 muertes. Dentro del complejo *Cryptococcus* spp se reconocen más de 30 especies patógenas en humanos, siendo *C. neoformans* y *C. gattii* las más prevalentes. La identificación de especie tradicionalmente se realiza con pruebas bioquímicas. De los diversos métodos descritos para su tipificación, PCR fringerprinting y MLST (Multilocus sequence typing) han demostrado gran utilidad.

### **Objetivo**

En este trabajo nos proponemos realizar la caracterización molecular de un conjunto de aislamientos obtenidos de casos de criptocosis humana con el fin de comparar los resultados obtenidos previamente por caracterización fenotípica y conocer las variedades genéticas circulantes.

### **Materiales y métodos**

A partir de un cepario disponible en nuestro laboratorio que incluye más de 300 cepas, seleccionamos 57 provenientes de meningoencefalitis. Estas fueron identificadas fenotípicamente como *C. neoformans* var. *grubii* (N=44), *C. neoformans* var. *neoformans* (N=11) y *C. gattii* (N=2) y siendo todas susceptibles a fluconazol y anfotericina B. Todos los aislamientos fueron caracterizados por PCR fingerprinting durante el año 2013, siguiendo el protocolo descrito por Meyer y colaboradores (<http://mlst.mycologylab.org/>), utilizando el primer del minisatélite del fago M13. En función de los resultados obtenidos seleccionamos 8 cepas representativas de la diversidad genética para analizar por MLST según los protocolos disponibles (<http://mlst.mycologylab.org/defaultinfo.aspx?Page=MLSTconsensustable>)

### **Resultados:**

**PCR fingerprinting:** De las 44 cepas previamente caracterizadas como *C. neoformans* var. *grubii* sólo 29 resultaron pertenecer a un tipo molecular correspondiente a esta variedad (22 VNI y 7 VNIII). Las restantes 15 cepas se clasificaron como VNIV (*C. neoformans* var. *neoformans*). De las 11 cepas identificadas previamente como *C. neoformans* var. *neoformans* ninguna perteneció a un tipo molecular característico de esta variedad. 10 se clasificaron como el tipo molecular VNI (*C. neoformans* var. *grubii*) y una resultó no tipificable. No logramos obtener un resultado reproducible para las cepas de *C. gattii*, por lo cual se incluyeron para MLST.

**MLST:** Para este análisis seleccionamos 6 cepas de *C. neoformans* (4 VNI, 1VNIII y 1 no tipificable) y las 2 cepas de *C. gattii*. Las *C. neoformans* se distribuyeron en 5 STs (sequence type) distintos correspondientes a los tipos moleculares VNI, VNIII y VNB. Las *C. gattii* correspondieron a 2 STs distintos, previamente descritos como asociados a los tipos moleculares VGI y VGII.

### **Conclusión**

Hemos encontrado inconsistencias entre la identificación fenotípica y la caracterización molecular, lo cual indica el aporte de la incorporación de éstos métodos al diagnóstico micológico. Este trabajo demuestra por primera vez que existen diferentes variedades genéticas causantes de meningoencefalitis en nuestro medio. El tipo molecular más frecuente encontrado fue el VNI seguido de VNIII. Éstos resultados son concordantes con los obtenidos por MLST. Los aislamientos del tipo mayoritario VNI se distribuyen en distintos ST. La caracterización de nuestros aislamientos es comparable a los reportes de la bibliografía internacional para la región.

**Palabras claves.** *Cryptococcus* spp, Criptocosis, tipos moleculares.

## 2. Diagnóstico micológico

# Candidemias y candidiasis invasora, características clínicas, epidemiológicas y perfil de sensibilidad

**Messina F., Arechavala A., Negroni R., Depardo R., Benchetrit A., Di Virgilio E., De Vedia L., Bianchi M., Dominguez C., Cunto E., Marin E., Romero M., Santiso G.**

Hospital de Enfermedades Infecciosas "F. J. Muñiz". CABA, Argentina

### **Introducción**

*Candida* spp es la causa más frecuente de infección fúngica invasora en el paciente hospitalizado. Ocupa en muchas series el cuarto lugar dentro de los microorganismos recuperados en los hemocultivos. La principal vía de infección es la endógena, con lo cual todos los pacientes son susceptibles de padecerla y quedan expuestos a sufrirla dependiendo de su sistema inmunológico.

Los factores de riesgo más relevantes son: la antibioticoterapia prolongada de amplio espectro, la presencia de cualquier tipo de catéter, la corticoterapia a altas dosis, la diabetes, la neutropenia, las cirugías abdominales, la alimentación parenteral, la insuficiencia renal crónica, etc.

### **Objetivo**

Conocer la epidemiología de candidiasis invasora en nuestro hospital y las especies de *Candida* junto al perfil de sensibilidad a los antifúngicos para lograr optimizar los tratamientos empíricos.

### **Materiales y métodos**

Estudio retrospectivo observacional, se analizaron las historias clínicas de los pacientes con candidemias y/o candidiasis invasora (CI) entre enero 2012 y Junio 2015.

La determinación de la CIM se realizó según las normas del documento del M27-A3 del CLSI

### **Resultados**

Se aislaron levaduras en 42 hemocultivos, 2 LCR, 1 líquido peritoneal y 1 absceso de partes blandas. Las especies aisladas fueron *Candida albicans*: 45,6 %, *C.tropicalis*: 21,7%, *C parapsilosis*: 13%, otras 19,7%. El 60,8% eran hombres y la mediana de la edad fue 40 años. El 68,4 % eran hiv positivos y el factor de riesgo más frecuente fue la utilización de varios esquemas de antibióticos previos, incluyendo el uso de drogas tuberculostáticas, ya que esta fue la comorbilidad más frecuente, seguida por la neumonía aguda de la comunidad y por las infecciones de partes blandas. El 60,8% estaban internados en unidad de cuidados intensivos. La mortalidad global fue de 55,2%. Todos los aislamientos de *C.tropicalis* fueron sensibles a fluconazol y anfotericina B in vitro, para *C.parapsilosis* se presentó un aislamiento resistente a fluconazol y otro dosis dependiente, lo mismo ocurrió con *C.albicans*.

### **Discusión**

La utilización de múltiples fármacos antibacterianos ante la persistencia de un cuadro febril suele ser el común denominador en el medio hospitalario y en especial en las unidades de cuidados intensivos. La complejidad y las pocas manifestaciones que presentan los enfermos con deterioro inmunológico grave hace que en muchos casos se recurra a los tratamientos empíricos; en nosocomios donde la tuberculosis es una patología habitual muchos enfermos reciben las cuatro drogas de primera línea ante la ausencia de un diagnóstico de certeza.

### **Conclusiones**

La mayoría de los casos se presentaron en enfermos que estaban recibiendo tratamiento con las drogas tuberculostáticas. La especie más frecuente fue *C albicans*. El fluconazol sigue siendo una droga útil, pero en pacientes graves se recomienda utilizar equinocandinas y luego de obtenida la CIM ajustar el tratamiento.

**Palabra clave:** candidemia, candidiasis invasora.

## 2. Diagnóstico micológico

# Evaluación de métodos de pcr para detección de ADN de histoplasma capsulatum en muestras de orina de pacientes con sida: estudio piloto

**FROLA C.<sup>1</sup>, GUELFANDI L.<sup>2</sup>, CANTEROS CE.<sup>3</sup>, TORANZO AI.<sup>3</sup>, SALAS HD.<sup>3</sup>, SUEDO O.<sup>4</sup>, PÉREZ H.<sup>1</sup>**

1. Servicio de Infectología. 2. Laboratorio de Microbiología. Hospital Juan A. Fernández. 3. Departamento de Microbiología, INEI-ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán. 4. Fundación Huésped. Buenos Aires, Argentina.

**PALABRAS CLAVES:** HIV, histoplasmosis, PCR, orina

**INTRODUCCIÓN:** La histoplasmosis, cuyo agente causal es *Histoplasma capsulatum* (Hc), es la segunda micosis sistémica en frecuencia en la Argentina en pacientes HIV positivos con recuentos de CD4 menores a 100 células/ $\mu$ L. Los métodos de referencia para el diagnóstico siguen siendo el examen microscópico y los cultivos, que suelen requerir semanas de incubación. Entre los métodos de diagnóstico rápido se encuentran la detección del antígeno urinario (AgU) y las PCRs. La orina es un material atractivo para diagnóstico por la simplicidad de su colecta, sin embargo, su utilidad como muestra de elección para detección de ADN de Hc fue poco explorada.

**OBJETIVO:** Evaluar la sensibilidad (S) y la especificidad (E) de dos métodos de PCR para diagnosticar histoplasmosis a partir de muestras de orina de pacientes HIV positivos con enfermedad avanzada y compararlos con la detección de AgU.

**MATERIALES Y MÉTODOS:** Se analizaron muestras de orina de micción espontánea procedentes de 27 pacientes HIV positivos con  $\leq 100$  CD4/ $\mu$ L o estadio clínico III/IV de la OMS, sin tratamiento antirretroviral o en falla virológica. A todos los pacientes se les realizó hemocultivos por técnica de lisis-centrifugación, detección de anticuerpos anti-Hc en suero por inmunodifusión y cuando fue posible, se analizaron otras muestras por examen microscópico y cultivo. Siete pacientes tenían histoplasmosis confirmada por los métodos de referencia. En los 20 restantes (10 con cuadro clínico compatible y 10 asintomáticos) el diagnóstico se excluyó.

Volúmenes de 2-3 ml de cada muestra de orina se mantuvieron a una temperatura de entre -70 y -80 °C para estudios moleculares.

La detección del AgU se realizó utilizando ensayo inmunoenzimático de captura (EIA, IMMY). El ADN fúngico fue extraído utilizando el equipo comercial DNeasy Tissue Kit (Qiagen). Para detectar el ADN de Hc se utilizaron: (a) PCR anidada (PCRa) que amplifica un fragmento del gen HcP100, específico de Hc y (b) PCR en tiempo real (qPCR) utilizando como blanco un fragmento del ITS1 específico de Hc. Se realizaron los cálculos de S y E de cada método.

**RESULTADOS:** Los resultados de las 27 muestras de orina analizadas y, la S y E de cada técnica, se muestran en la Tabla 1.

Método	Pacientes		S (%)	E (%)
	con histoplasmosis (n:7) positivos/negativos	sin histoplasmosis con síntomas (n:10) positivos/negativos (n:10) positivos/negativos sin síntomas		
AgU	5/2	0/10	71	100
PCRa	5/2	3/7	71	70
qPCR	4/3	0/10	57	100

**CONCLUSIONES:** Los métodos de detección de AgU y de PCRa fueron los más sensibles, mientras que la qPCR y el AgU fueron 100% específicos. Estos resultados sugieren que la muestra de orina es un material útil para diagnosticar histoplasmosis por técnicas de PCR y EIA-AgU. Estas metodologías podrían ser una estrategia eficaz en nuestro medio para el diagnóstico rápido de histoplasmosis en pacientes HIV positivos.

## 2. Diagnóstico micológico

# Antigenuria para histoplasma capsulatum como método diagnóstico en pacientes con infección avanzada por HIV

**FROLA C.<sup>1</sup>, STRAMINSKY F.<sup>2</sup>, GUELFAND L.<sup>2</sup>, SUED O.<sup>3</sup>, PÉREZ H.<sup>1</sup>**

1Servicio de Infectología. 2Laboratorio de Microbiología. Hospital Juan A. Fernández. 3 Fundación Huésped. Buenos Aires, Argentina.

**PALABRAS CLAVES:** HIV, histoplasmosis, antígeno urinario

**INTRODUCCIÓN:** En personas viviendo con HIV la histoplasmosis es la segunda micosis sistémica en frecuencia en la Argentina, después de la criptococosis. En nuestro país se reportó una prevalencia de histoplasmosis en esta población entre 5.3 y 6%, siendo diseminada en aquellas con bajo recuento de células CD4 (<100 cél/ $\mu$ L). El examen microscópico y los cultivos continúan siendo los métodos de referencia para el diagnóstico, aunque estos últimos suelen demorar semanas hasta su resultado y ambos presentan una sensibilidad limitada. En este escenario, la detección del antígeno en orina (AgU) de *Histoplasma capsulatum* podría representar un avance importante para el diagnóstico.

**OBJETIVO:** Explorar el valor agregado de la detección rutinaria de AgU en personas HIV positivas con enfermedad avanzada, sin tratamiento antirretroviral estable.

**MATERIALES Y MÉTODOS:** Entre abril de 2014 y enero de 2015, se realizó la detección del AgU mediante ensayo inmunoenzimático de captura (ELISA, IMMY) en todos los pacientes HIV positivos con  $\leq 100$  CD4/ $\mu$ L o estadio clínico III/IV de la OMS, sin tratamiento antirretroviral o en falla virológica, que aceptaron participar en el estudio. Se consideró positivo para histoplasmosis un punto de corte de 0.5 unidades. Simultáneamente se realizaron hemocultivos por técnica de lisis-centrifugación y detección de anticuerpos en suero por inmunodifusión. En caso de lesiones muco-cutáneas se realizaron examen microscópico y cultivos de tejidos.

**RESULTADOS:** Se incluyeron 123 pacientes: hombres, 64.2%; mujeres, 31%; mujeres trans 4.8%; media de edad, 38 años (DS 9.7) y mediana de CD4, 46 cél/ $\mu$ L (RIC 18-85). Con la metodología habitual se diagnosticaron 7 casos de histoplasmosis (3 con hemocultivos más examen microscópico, 2 sólo microscopía y 2 sólo hemocultivos). La serología fue positiva en un sólo paciente. Los 4 casos positivos sólo al AgU se consideraron diagnósticos adicionales. De estos, 2 estaban sintomáticos y mejoraron con itraconazol, los 2 restantes se perdieron en el seguimiento. La sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo fueron de 77%, 96%, 63% y 98%, respectivamente. Al incluir las muestras positivas de AgU como casos de histoplasmosis, la incidencia aumentó del 5.7% al 8.9%.

**CONCLUSIONES:** La detección del AgU aumentó en un 57% el diagnóstico de histoplasmosis. Estos resultados preliminares sugieren que dicha metodología podría ser una estrategia eficaz en nuestro medio para mejorar el diagnóstico y posterior tratamiento oportuno en esta población.

## 2. Diagnóstico micológico

# Polyclonal antibodies to soluble antigens from *Paracoccidioides brasiliensis* and *P. lutzii* and levels of serum antigens in Paracoccidioidomycosis

**Itano, E.N.<sup>1</sup>; Assolini, J.P.<sup>1</sup>; Takabayashi C.R.<sup>1</sup>; Lenhard-Vidal A.<sup>1</sup>; Chiyoda F.A.S.<sup>1</sup>; Ono M.A.<sup>1</sup>; Hirooka E. Y.<sup>1</sup>; Tano Z.N.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> State University of Londrina, Londrina, PR, Brazil.

Paracoccidioidomycosis (PCM) is a systemic mycosis caused by *Paracoccidioides brasiliensis* (S1, PS2, PS3 and PS4), as well as by the new species, *P. lutzii*. Current research was designed to produce and analyze polyclonal antibodies (pAbs) to *P. brasiliensis* (S1) and *P. lutzii* and to evaluate the antigenemia in patients with PCM using these antibodies. The pAbs were obtained by rabbit immunization with cell free antigens (CFA) from *P. brasiliensis* (B339) and *P. lutzii* (LDR2) and were analyzed by immunoblotting. In the second step, the antigen levels were evaluated in serum samples from patients with chronic PCM (n=14) and normal human serum (NHS; n=10), using the pAbs in indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay (icELISA). By immunoblotting, the pAbs to B339 recognized mainly gp43 and gp70 in CFA from B339 and gp70 from LDR2. The pAbs to LDR2 recognized mostly gp43 in CFA from B339 and gp70 in CFA from LDR2. There was a significant difference in the levels of total serum antigens between PCM and NHS with p-value <0.0001 and =0.0194 with pAbs anti-B339 and anti-LDR2, respectively, and also a low positive correlation between antigen levels ( $r=0.5290$ ). In conclusion, the antigen recognition pattern differs between the antibodies anti-*P. brasiliensis* (B339) and anti-*P. lutzii* (LDR2) and this difference may be related to the low correlation between total antigen levels determined by the use of these polyclonal antibodies.

## 2. Diagnóstico micológico

# Higher IgE reactivity of High Molecular Mass antigen from *Paracoccidioides lutzii* than *P. brasiliensis* in human chronic Paracoccidioidomycosis

**Assolini J. P.<sup>1</sup>, Lenhard-Vidal A.<sup>1</sup>, Bredt C. S. O<sup>2</sup>, Tano Z.N.<sup>1</sup>, Sano A<sup>3</sup>, Itano, E. N.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> State University of Londrina, Londrina, PR, Brazil.

<sup>2</sup> State University of Western Parana, Cascavel, PR, Brazil

<sup>3</sup> University of the Ryukyus, Okinawa, Japan

### **Abstract**

Paracoccidioidomycosis (PCM), the most important systemic mycosis in Latin America, is caused by the dimorphic fungus *Paracoccidioides brasiliensis* (S1, PS2, PS3 and PS4) and by the new species *P. lutzii*. The severity of the disease is associated with Th2 response and high IgE levels. Therefore, the current research aimed to evaluate IgE and IgG serum reactivity to *P. lutzii* and *P. brasiliensis* antigens in human chronic PCM (n=24), by means of ELISA using high molecular mass antigen (hMM), gp70 or total soluble antigens (CFA) from *P. lutzii* (LDR2), *P. brasiliensis* B339 (S1) and LDR3 (PS2). Immunoblot was employed to analyze the total antigens from the three fungi. There was stronger IgE and weaker IgG reactivity to hMM from *P. lutzii* than *P. brasiliensis* (p<0.05) and the opposite with CFA. The IgE anti-gp70 presented similar reactivity, but for IgG it was higher with *P. lutzii* and LDR3 than B339 (p<0.05). In immunoblotting, IgE recognized at least three components in *P. lutzii* antigens (MM >150kDa, ~70kDa and <37kDa) and gp43 was the main reactive antigen in B339. In conclusion, during human chronic PCM, the strain of *Paracoccidioides* affects the antigen recognition pattern by IgG and IgE, and the hMM from *P. lutzii* possibly stimulates a greater IgE response than *P. brasiliensis* (S1 and PS2).

## 2. Diagnóstico micológico

# Identificación a nivel de especie de aislados del género *Fusarium* recuperados de muestras clínicas

**Ardizzoli K.<sup>1</sup>; Malbrán I.<sup>2</sup>; Mourellos C.<sup>2</sup>; Sallaber S.<sup>1</sup>; Lori G.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> H.I.G.A. "Dr. R. Rossi";

<sup>2</sup> CIDEFI-CICBA-UNLP, Fac. de Cs. Agrarias y Forestales, U.N.L.P., La Plata, Bs. As., Argentina.

### **Introducción**

Las enfermedades micóticas por hongos oportunistas han tomado relevancia en estos últimos años. Las tasas de incidencia las colocan como un problema de salud pública en todo el mundo, con un incremento creciente en los ancianos, en las personas inmunosuprimidas y en las receptoras de trasplantes de órganos. Un género representativo de este grupo de hongos patógenos emergentes es el género *Fusarium*. La fusariosis diseminada constituye una causa de morbimortalidad importante en pacientes oncohematológicos y en receptores de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas con neutropenias prolongadas. En huéspedes inmunocompetentes, puede llevar a la pérdida de la visión en forma permanente por queratitis post traumática. La complejidad de estas infecciones radica en su tórpida evolución y en la poca actividad que tienen los antifúngicos conocidos sobre especies del género *Fusarium*.

### **Objetivo**

Identificar a nivel de especie una colección de aislados del género *Fusarium* recuperados de pacientes hospitalarios.

### **Materiales y Métodos**

Se obtuvieron cultivos monospóricos de 73 aislados de una colección de *Fusarium* spp. recuperados de pacientes adultos entre julio de 2007 y julio de 2015. Como medio de cultivo se empleó Agar Papa Glucosado al 2 % con el agregado de 0,25% de Cloranfenicol preparado artesanalmente con extracto de papa y se incubó en estufa a 23° C +/- 2° C durante 7 días. Se realizó la caracterización morfobiométrica y cultural convencional, considerando fundamentalmente la ontogenia conídica.

### **Resultados**

De los 73 aislados, 45 (62%) fueron identificados como *F. solani*, 24 (33%) como *F. oxysporum*, 4 (5%) como *F. verticillioides*. En cuanto a la procedencia de los aislamientos, 48 (65%) provinieron de escamas de uñas, 16 (21%) de materiales corneales, 7 (9%) de muestras de piel y 5 (5%) de hemocultivos.

### **Conclusiones**

La especie más frecuentemente recuperada fue *F. solani* seguida por *F. oxysporum* y sólo cuatro aislamientos de *F. verticillioides*. Los resultados del presente trabajo coinciden con los reportes que ubican a *F. verticillioides* como la tercera especie en orden de importancia responsable de infecciones en humanos dentro del género, tras *F. solani* y *F. oxysporum*. Debido a que el número de muestras fue exiguo, no se pudo determinar la prevalencia según tipo de muestra. Dos aislamientos de *F. verticillioides* recuperados de córnea provenían de pacientes que desarrollaban tareas rurales en cultivos de maíz, coincidiendo con las citas bibliográficas que describen a *F. verticillioides* como uno de los principales fitopatógenos de ese cereal. En todos los casos analizados existió un factor predisponente para la infección. En pacientes inmunocompetentes el factor de riesgo más común fue la ruptura de los tejidos provocada por un traumatismo directo o por la presencia de un cuerpo extraño. En los pacientes inmunodeprimidos el factor predisponente más importante fue la neutropenia severa. Estas observaciones concuerdan con lo expuesto por otros autores.

**Palabras clave:** Fusariosis

## 2. Diagnóstico micológico

# Diagnóstico Molecular de Infección Fúngica Invasora causada por hongos miceliales: estudio multicéntrico

**Refojo N.<sup>1</sup>, Dignani C.<sup>2</sup>, Hevia A.<sup>1</sup>, Abrantes R.A.<sup>1</sup>, Fernández J.<sup>1</sup>, Damiano M.C.<sup>2</sup>, Greco G.<sup>2</sup>, Pineda G.<sup>2</sup>, Mestroni S.<sup>2</sup>, Ponessa A.<sup>2</sup>, Ardizolli K.<sup>2</sup>, Amigot S.<sup>2</sup>, Pestana L.M.<sup>2</sup>, Tula L.<sup>2</sup>, Canteros C.E.<sup>1</sup>, Ianonne L.<sup>1</sup>, Davel G.<sup>1</sup>, \*REMIIN.**

<sup>1</sup> Departamento Micología, INEI "Dr. Carlos G. Malbrán"- ANLIS;

<sup>2</sup>\* Registro de Micosis Invasoras (REMIIN). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

### Introducción

Las infecciones fúngicas invasoras causadas por hongos miceliales (IMIs) afectan principalmente a pacientes inmunocomprometidos. El diagnóstico microbiológico convencional permite tomar decisiones terapéuticas pero posee limitaciones en los casos de exámenes directos (ED) o cultivos negativos. El desarrollo de métodos que permitan diagnosticar e identificar los agentes IMIs, independientemente del cultivo, ofrece la posibilidad de alcanzar un diagnóstico rápido y preciso que complemente las pruebas convencionales.

Objetivo. Detectar e identificar ADN fúngico en tejido fresco y fijado en formalina embebido en parafina (FFPE) de pacientes con IMI.

### Materiales y métodos

Se estudiaron las muestras de tejido FFPE o fresco de los pacientes inmunocomprometidos no-HIV, con diagnóstico de IMI enrolados en el Registro de Micosis Invasoras (REMIIN). El ADN fue extraído con el equipo QIAamp DNA FFPE Tissue y QIAamp DNA Blood & Tissue (Qiagen) según indicaciones del fabricante, con el agregado de una etapa de lisis con lincasa recombinante. Se amplificó por PCR la región ITS2 y en paralelo, la región de la Beta globina humana como control positivo, para validar la prueba. Los productos de PCR se secuenciaron y las secuencias se identificaron por homología a la base de datos Genbank con el software BLASTn (NCBI).

### Resultados

Se estudiaron 36 muestras de tejido FFPE y tres biopsias frescas, todas ellas con exámenes directos positivos para estructuras fúngicas. En el 31% de los casos fue posible alcanzar un resultado de identificación final: Fue posible diagnosticar infecciones por *Rhizopus* sp. (2), *Fusarium* sp. (4), *Aspergillus* Sección *flavi* (4), y *Aspergillus* S. *terrei* (1). En un 25% (9) de los casos se obtuvieron resultados no válidos (control positivo: negativo) y esto se debe a la presencia de inhibidores en la muestra. En el 14% pudo detectarse amplificación del ITS2 pero en concentración insuficiente para llevar a cabo la secuenciación, en el 17 % se detectaron contaminantes comunes (*Cladosporium*, *Penicillium*, *Candida* spp.) y en un 14% los resultados fueron negativos.

### Conclusiones

El diagnóstico molecular permitió confirmar los agentes recuperados en cultivo en 8 casos y permitió conocer los agentes en presencia de cultivos negativos en dos (*Fusarium* sp. y *Aspergillus* S. *flavi*). En un caso permitió corregir la sospecha del agente por *Aspergillus* S. *flavi* en presencia de un cultivo de *A. niger*. Quedan por resolver las dificultades de contaminación que pueden haber ocurrido durante el procesamiento histopatológico (que no se realiza en esterilidad) y la presencia de inhibidores, como la formalina, conocido inhibidor de la PCR. Esta herramienta de diagnóstico molecular permite complementar el diagnóstico microbiológico para alcanzar el mejor diagnóstico posible, especialmente en casos de ED y/o cultivo negativos.

**Palabras claves:** Diagnóstico molecular, infección fúngica invasora, Aspergilosis invasora

## 2. Diagnóstico micológico

# Micosis sistémica por *Inonotus tropicalis* en un perro doméstico

**Iachini R.<sup>1</sup>, Hevia A.I.<sup>2</sup>, Fernández J.<sup>2</sup>, Toranzo A.I.<sup>2</sup>, Suárez-Alvarez R.O.<sup>2</sup>, Lazzari J.<sup>3</sup>, Refojo N.<sup>2</sup>, Canteros C.E.<sup>2</sup>**

1 Instituto de Zoonosis “Luis Pasteur”, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

2 Departamento Micología. INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

3 Veterinaria Azcuénaga. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

### **Introducción**

Las micosis por *Inonotus tropicalis* fueron recientemente documentadas en el hombre y animales. Una de los principales inconvenientes para su diagnóstico radica en que estos basidiomicetos rara vez exhiben características morfológicas que permiten su identificación.

### **Resumen clínico**

Canino de raza indefinida de talla mediana, de 9 años, que habita en un departamento de la Ciudad de Buenos Aires, con antecedentes de permanencia en zonas mesopotámicas de la Argentina en los primeros años de vida y visitas periódicas a posteriori. Tuvo como antecedente mordeduras leves de otro perro en la zona rostral. Luego de 60 días comenzó con decaimiento, síndrome febril y adenomegalia pre-escapular. Se le realizó un drenaje quirúrgico del ganglio abcesado y se tomó una muestra para estudios histológicos y microbiológicos (1era muestra). La adenomegalia evolucionó con fistulas supurativas sanguinolentas y en examen clínico se observaron adenomegalias pre-escapulares, axilares, inguinales superficiales. Tratamiento antifúngico de por medio instaurado con el primer estudio se tomaron nuevas muestras de los ganglios pre-escapulares derecho e izquierdo para estudios histológicos y microbiológicos (2das muestras).

### **Exámenes complementarios**

Diagnóstico por imágenes. Estudios ecográfico y radiográfico confirmaron la presencia de adenomegalias ilíacas internas y mediastínicas.

Histología. En la 1ra y las 2das muestras se observaron hifas positivas por tinción con Ácido Periódico de Shiff. La tinción de Hematoxilina-Eosina mostró hifas contenidas en un granuloma con células gigantes epilelioides y dendríticas.

Otros análisis. Se realizaron estudios bioquímicos, hematológicos, serológicos y moleculares para descartar otras patologías como brucelosis, leishmaniasis, hemoparasitosis y toxoplasmosis. Como única alteración se halló una banda monoclonal tipo IgM en el proteinograma electroforético.

Microbiológicos. En el examen directo con hidróxido de potasio de los ganglios preescapulares se observaron hifas hialinas tabicadas y ramificadas. En los medios de cultivo para bacterias se aisló *Staphylococcus intermedius* y en agar Sabouraud desarrolló un hongo de micelio blanco de crecimiento lento. El hongo no produjo fructificación características en Agar papa dextrosado (APD), Agar avena arrollada y agar extracto de malta.

Estudios Moleculares. Se extrajo ADN genómico a partir del (a) material fresco de las segundas muestras y (b) del hongo desarrollado en el medio APD. El hongo fue identificado como *Inonotus tropicalis* por secuenciación del fragmento ITS en todos los materiales analizados.

### **Discusión y Diagnósticos Diferenciales**

Si bien la presencia de hifas en el tejido permite un diagnóstico micológico, no alcanza para determinar cuál es el agente causal. Para ello son necesarios los estudios complementarios como cultivo e identificación definitiva del agente. *Inonotus tropicalis* es un hongo que se aísla de la madera en descomposición en zonas tropicales y subtropicales. No se pudo determinar cual fue la vía de infección y los pocos casos reportados se asociaron con pacientes inmunosuprimidos.

Este canino fue tratado con itraconazol por vía oral con favorable respuesta clínica.

**Palabras Claves:** *Inonotus tropicalis*, ITS, perro.

## 2. Diagnóstico micológico

# Evaluación de dos técnicas de PCR para detectar ADN de *Histoplasma capsulatum* en muestras clínicas

**Toranzo A.I.1, Salas H.D.1, Suárez-Alvarez R.1, Fernández N.2, Ibarra-Camou B.1, López-Joffre C.2, Tiraboschi I.N.2, Canteros C.E.1**

1 Servicio Micosis Profundas, Departamento Micología. INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

2 División Infectología del Hospital de Clínicas "José de San Martín", UBA. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

**Introducción:** *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* (Hc), es el agente etiológico de la histoplasmosis (HP), una enfermedad subaguda o crónica, endémica en Argentina. El diagnóstico de la HP se basa en la observación del hongo en el tejido cuya sensibilidad es baja, en el desarrollo del mismo en los medios de cultivo que insume entre 3 a 4 semanas o en detección de anticuerpos anti-Hc que depende del estatus inmunológico del huésped. Las técnicas moleculares se han establecido como métodos sensibles y específicos para el diagnóstico de enfermedades infecciosas y poseen la ventaja de dar resultados rápidos.

**Objetivo:** Conocer la eficiencia de dos técnicas de PCR para detectar ADN de Hc en muestras clínicas.

**Materiales y Métodos:** Se utilizaron dos técnicas moleculares: (a) una PCR anidada que amplifica un fragmento del gen HcP100, específico de Hc y (b) una PCR en tiempo real (qPCR) utilizando como blanco un fragmento del ITS1 específico de Hc. En estudios previos se calcularon el límite de detección de ambas PCR en 50 fg de ADN y la especificidad analítica >98%.

Entre enero de 2010 y diciembre de 2013, se analizaron muestras clínicas obtenidas de 85 pacientes con diagnóstico de HP y 91 con enfermedades que por sus características clínicas requerían un diagnóstico diferencial. Además, se incluyeron en el estudio 150 muestras de sangre de individuos voluntarios sanos. Se consideró paciente con HP a aquellos que tuvieron un cultivo positivo y/o una serología positiva para Hc, y/o hallazgos histopatológicos (levaduras intracelulares y granuloma) consistentes con la presencia del hongo. Las muestras analizadas fueron: sangre entera, materiales respiratorios, raspado de lesiones cutáneas, material de biopsia en fresco y fijadas e incluidas en parafina, líquidos de punción, materiales improntados y fijados en portaobjetos. El número de muestras por pacientes fue variable, y en la mayoría de los casos se analizaron dos muestras seriadas de sangre. Se calcularon y compararon los siguientes parámetros: sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN).

**Resultados:** Los resultados de las técnicas moleculares se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1. Resultados de las técnicas de PCR**

Población	N	PCR anidada		qPCR	
		Positivo	Negativo	Positiva	Negativa
Con HP	85	80	5	71	14
Sin HP con sintomatología	91	8	83	7	84
Individuos sanos	150	0	150	0	150

Los valores de S, E, VPP y VPN fueron 94%, 97%, 91% y 98% para la PCR anidada y de 84%, 97%, 91% y 94% para la PCR real time. Los diferencias en S y VPN fueron estadísticamente significativas ( $P < 0,01$ )

**Conclusiones:** Ambas técnicas mostraron la misma especificidad y VPP, sin embargo, los valores de S y VPN de la PCR anidada resultaron significativamente mayores que los de la qPCR. El resultado negativo en las 150 muestras de sangre de individuos sanos, nos confirmaría que la población que vive en el área endémica de HP, donde se calcula que alrededor del 35% de la población tuvo una primoinfección, no tienen ADN de Hc en sangre. Sugerimos la utilización de ambas técnicas en el diagnóstico de HP.

**Palabras claves:** Histoplasmosis, *Histoplasma capsulatum*, PCR.

## 2. Diagnóstico micológico

# Creación de una base de datos in-house para la identificación de levaduras de interés médico por la plataforma MALDI-TOF de Bruker.

**Taverna C.G.<sup>1</sup>, Bosco Borgeat M.E.<sup>1</sup>, Mazza M.<sup>1</sup>, Guelfand L.<sup>2</sup>, Maldonado I.<sup>3</sup>, Relloso S.<sup>4</sup>, Davel G.<sup>1</sup>**

1 Departamento Micología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas “Dr. C.G.Malbrán”, CABA, Argentina.

2 Laboratorio de Microbiología, Hospital “J.A. Fernandez”, CABA, Argentina.

3 Sección Microbiología, Hospital Alemán, CABA, Argentina.

4 Laboratorio de Microbiología, CEMIC. CABA, Argentina

La técnica de MALDI-TOF ha revolucionado la identificación de microorganismos en el laboratorio clínico ya que tiene la ventaja de ser útil para una amplia variedad de microorganismos, ser rápida y de fácil utilización. Varios estudios han demostrado su utilidad en la identificación de levaduras. Sin embargo, la creación de una base de datos in-house con cepas autóctonas es necesaria con el fin de obtener un mayor número de identificaciones correctas.

El objetivo del presente trabajo fue crear una base de datos in-house para la plataforma de MALDI-TOF de Bruker y su posterior comparación con la base de datos del proveedor.

En la creación de la base de datos se incluyeron 47 cepas pertenecientes a 7 especies de levaduras frecuentes y 40 cepas pertenecientes a 23 especies infrecuentes aisladas de muestras clínicas previamente identificadas por los métodos fenotípicos y por secuenciación del ADN. Además se incorporaron 10 cepas ATCC como control. Las cepas fueron subcultivadas en agar Saboureaud a 28°C durante 48-72 h y se realizó la extracción proteica por el método de extracción en tubo con etanol/ácido fórmico/acetonitrilo. La creación de los perfiles proteicos para la base de datos fue de acuerdo a las recomendaciones del proveedor. Para evaluación de las bases de datos se utilizaron 159 aislados clínicos distintos a los incluidos en la creación de la base de datos y cuya identificación fue realizada previamente por secuenciación del ADN ribosomal. Los mismos se subcultivaron en agar Saboureaud a 28°C durante 48-72 h y se realizó la extracción proteica por el método de extracción directa con ácido fórmico al 100%.

La identificación de las especies más frecuentemente aisladas en muestras clínicas dio como resultado en la mayoría de los casos valores de score más altos al utilizar la base de datos in-house respecto a los obtenidos con la base de datos de Bruker. Del total de los aislados, el 25.15 % dio scores  $\geq 2.300$ ; el 49.70 %  $\geq 2.000$ , el 7.54 %  $\geq 1.700$  y un 17.61 % no obtuvo una identificación confiable con la base de datos in-house. Utilizando la base de datos de Bruker solo el 1.26 % dio scores  $\geq 2.300$ ; el 52.83 %  $\geq 2.000$ , el 38.99 %  $\geq 1.700$  y un 6.92 % no obtuvo una identificación confiable. Ninguna de las dos bases de datos dio como resultado una identificación errónea. Tres aislados no fueron identificados por ninguna de las bases de datos a pesar de estar incorporada la especie a las mismas. Ocho aislados pudieron ser identificados por la base de datos in-house y no por la base de datos de Bruker. Entre los aislados no identificados por la base de datos in-house, para el 78,57 % aún no habían sido incorporados los perfiles de estas especies.

La creación de la base de datos in-house mejoró la identificación de los aislados. Sin embargo, es necesario ampliar esta base con un mayor número de cepas de especies infrecuentes. La complementación de ambas bases de datos permite una mejor identificación abarcando un mayor número de perfiles de especies que pueden ser identificados.

### **Palabras claves:**

MALDI-TOF; levaduras; identificación

# **3. Micosis endémicas**

### 3. Micosis endêmicas

## Comparative study of Itraconazole plus Potassium iodide on refractory and treatment-naïve feline sporotrichosis.

**Reis, E.G.<sup>1</sup>; Gremião, I.D.F.<sup>1</sup>; Pereira, S.A.<sup>1</sup>; Silva, J.N.<sup>1,2</sup>; Salgueirinho, B.F.S.<sup>1</sup>; Rocha, R.F.D.B.<sup>1</sup>; Schubach, T.M. P.<sup>1</sup>**

1- Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

2- Laboratório de Micologia, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

**Key words:** feline, sporotrichosis, treatment, association

**Introduction:** Sporotrichosis is an implantation mycosis caused by different species of the genus *Sporothrix*. The domestic cat is involved in the zoonotic transmission due to the high fungal burden in the skin lesions. Treatment of feline sporotrichosis presents a challenge, as there are a limited number of oral antifungal agents, requires a long period of treatment and the high cost. Prognosis will depend on the number and extension of the lesions; occurrence of respiratory signs; the cat's overall condition and the early diagnosis and the start of an appropriate antifungal therapy.

**Objective:** To compare the efficacy of itraconazole plus potassium iodide in cats treatment-naïve and refractory to itraconazole 100mg/day for a minimum period of 8 weeks.

**Methods:** A bidirectional cohort study was conducted between 2012 and 2014. *Sporothrix* spp was isolated by culture from all cats, which were submitted to clinical and laboratory evaluation once a month. The therapy protocol consisted of potassium iodide capsule (5mg/kg/day) and itraconazole capsule (100mg/day). In the cases where the complete healing of the lesions and remission of clinical signs were observed, the treatment was maintained for 4 additional weeks. The clinical and laboratory data were analyzed with the R software v. 3.3.2. The categorical variables are reported as frequencies and the continuous variables (age, weight, time until discharge) are reported as mean, median, and standard deviation (SD). Time until discharge was compared by the Student t-test with a p-value < 0.05 considered statistically significant.

**Results:** Sixty-eight cats were enrolled in the study, of which 30 were treatment-naïve and 38 refractory to itraconazole (Table 1). Clinical cure was observed in 25/30, (83.3%) cats of the naïve group and 24/38 (63.2%) of the refractory group. The mean ( $\pm$ SD) time until discharge differed between the two groups (naïve: 16.4  $\pm$  6.5 weeks; refractory: 27  $\pm$  9.1 weeks; p<0,001). The adverse clinical effects were more frequent among the refractory group (n = 29, 76.3%) compared to the naïve group (n = 11, 37%). All adverse effects were manageable with a temporary suspension of the drugs (7 days) and classified as mild event.

**Conclusion:** The association of itraconazole and potassium iodide is an effective treatment for feline sporotrichosis, especially when it is administered in naïve patients.

Variables	Treatment-naïve group	Refractory group
Number of cats	30	38
Male (%)	80	86.8
Good overall condition (%)	83.3	81.6
Age in months (median)	21	36
Weight in kg (mean/SD)	3.9 $\pm$ 0.65	4.07 $\pm$ 0.82
Respiratory signs (%)	20	71.1
Adverse clinical effect (%)	37	76.3
Elevation in transaminase levels (%)	30	55.2
Clinical cure (%)	83.3	63.2
Therapeutic failure (%)	0	13.2
Death (%)	3.3	2.6
Lost to follow-up (%)	13.4	21.1

Table 1:  
Cohort characteristics - frequency of clinical data, clinical signs, adverse effects and outcome

### 3. Micosis endémicas

## Cobertura diagnóstica de micosis superficiales en los laboratorios públicos de una provincia

**Alvarez C<sup>1</sup>; Noblega LM<sup>1</sup>; Colombres MS<sup>1</sup>; Atjian MC<sup>1</sup>; Márquez NE<sup>1</sup>; Orellana NR<sup>1</sup>.**

1-Laboratorio de Salud Pública de Tucumán- Servicio de Micología- Mendoza 128- S.M. de Tucumán, Argentina. CP: 4000

### **Introducción**

Actualmente, según los reportes de la literatura mundial, existe un incremento exponencial en la incidencia de las micosis superficiales. Sin embargo, en determinados territorios existe un sub-diagnóstico de estas patologías. Esta situación podría atribuirse a la falta de personal capaz de sospechar de una micosis, escasa cobertura diagnóstica por falta de profesionales entrenados para diagnosticar las micosis microbiológicamente o falta de equipamiento adecuado. El objetivo de dicho trabajo es determinar qué laboratorios del sector público de una provincia cumplen con los requisitos necesarios para implementar el diagnóstico de las micosis superficiales y gestionar los recursos para concretar dicho objetivo.

### **Materiales y métodos**

Para la realización de este trabajo se recabó información aportada por la Dirección de Estadísticas, el Ministerio de Salud y el Departamento Bioquímico de la provincia entre Febrero a Mayo de 2015. El relevamiento consistió en determinar en cual/es Servicios de Salud cumplen con estas tres condiciones: (1) existe una demanda de estudios micológicos por parte del cuerpo médico y la población; (2) había profesionales dispuestos a formarse en toma y procesamiento de muestras de micosis superficiales; (3) tenían las condiciones edilicias y el equipamiento adecuado.

### **Resultados**

El sector público de la provincia, actualmente, está compuesto aproximadamente por 60 laboratorios de diferentes grados de complejidad. El 10% (n=6) realizan toma de muestra y cultivos para micosis superficiales, de estos, el 100% forman parte del Servicio de Microbiología de Hospitales y se encuentran ubicados en la zona céntrica y solo 1 en el Área Este. Del 90% (n=54) de los restantes laboratorios, el 7,4% (n=4) cumple con las tres condiciones para implementar el diagnóstico de las micosis superficiales. Por lo que, se inició la capacitación práctica para la toma de muestra de micosis superficiales, durante Junio, de una bioquímica perteneciente a una Policlínica, cuya área de responsabilidad e influencia son de 13.200 y 65.000 habitantes respectivamente. Lo que corresponde a un 0,9% y el 4,5% de la población total de la provincia y se coordinó la derivación de muestras al Servicio de Micología del Laboratorio de Salud Pública. Posteriormente, se continuará con la capacitación y coordinación de los otros 3 servicios.

### **Conclusiones**

En esta primera etapa, la gestión realizada permitirá mejorar la accesibilidad al diagnóstico micológico de un mayor número de individuos, optimizará los recursos humanos y físicos del estado, descomprimirá la demanda en los hospitales y fortalecerá la vigilancia epidemiológica de las micosis. Por último, en base a los resultados obtenidos, se recomienda continuar fortaleciendo a los laboratorios públicos del nivel I y II a fin de mejorar la cobertura del diagnóstico en micosis superficiales.

**Palabras claves:** cobertura diagnóstica, micosis superficiales

### 3. Micosis endémicas

## Casos de micetoma en un hospital de Santiago del Estero, República Argentina

**Dr. Serrano, J. A.**

Laboratorio de Micología, Hospital Independencia, Santiago del Estero, Argentina

Los micetomas son infecciones crónicas granulomatosas y supurativas que comprometen piel, tejidos blandos, huesos y articulaciones. Son causados por inoculación traumática de hongos (eumicetomas-EM-) o de bacterias del orden de los actinomicetales (actinomicetomas-AM-). El objetivo de este trabajo fue describir las características epidemiológicas, clínicas y microbiológicas de 26 casos de micetoma diagnosticados entre 1991-2014 en un hospital del Noroeste Argentino.

Los pacientes fueron 14 varones y 12 mujeres (1,2:1) de entre 17-57 años (promedio 37 años). El tiempo de evolución fue de  $11,1 \pm 6,6$  años. Las lesiones fueron: 22 en pies (3 hallux), 3 en tobillos y una en rodilla. En todos los casos se documentó antecedente de micro trauma. Los estudios por imágenes mostraron lesiones óseas asociadas directamente con el tiempo de evolución. Se diagnosticaron 21 AM (20 por *Actinomyces madurae* y 1 por *Streptomyces somaliensis*) y 5 EM (3 por *Madurella grisea*, 1 por *Madurella mycetomatis* y otro por *Acremonium* spp.). Los AM fueron tratados 7 con trimetoprima+sulfametoxazol (TMS)+estreptomicina, 3 con TMS+amicacina y 11 con TMS+ciprofloxacina. Los EM fueron tratados, 3 con ketoconazol, 1 con itraconazol y 1 con voriconazol. En 14 pacientes, con menor tiempo de evolución, tuvieron remisión clínica completa. Siete AM por *A. madurae* mostraron mejoría clínica (en 3 se observó recidiva) aunque persistió el dolor causado por las lesiones óseas. Otro paciente con EM por *Acremonium* sp, tuvo deformación del pie, lesiones osteolíticas y gran dolor; no aceptó la amputación sugerida y sigue en tratamiento con voriconazol. Otros dos casos de EM por *M. grisea* fueron tratados: uno con ketoconazol, mejoró la funcionalidad motriz pero conserva lesiones en el astrágalo; el otro recibió itraconazol, logrando reducir las lesiones. Otros dos EM (1 por *M. micetomatis* y otro por *M. grisea*) requirieron amputación por debajo de la rodilla.

En este estudio, el principal agente fue *A. madurae* (actinomicetal); la población más afectada fue la adulta joven con antecedente de traumatismo. Todas las lesiones fueron en miembros inferiores: 83% fueron en el pie. El 58% de los pacientes curaron. Este hecho puede estar relacionado al diagnóstico oportuno, la terapia adecuada y a que los AM responden mejor al tratamiento que los EM.

**Palabras Clave:** micetomas, actinomicetomas, eumicetomas

### 3. Micosis endémicas

## Diversidad genética de aislamientos en *Histoplasma capsulatum* circulantes en Argentina por multilocus sequence typing.

**C. H. Veciño<sup>1</sup>, G. López Daneri<sup>1</sup>, L. Zapata<sup>2</sup>, A. Rubio<sup>2</sup>, C.A. Iovannitti<sup>1</sup>, M.T.Mujica<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup> Centro de Micología. Dpto de Microbiología. Fac. Medicina. UBA.

<sup>2</sup> Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y SIDA (INBIRS), Fac. Medicina, UBA.

La especie *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* (Hc) es dimorfa y productora de la histoplasmosis, una micosis sistémica endémica del continente Americano y con una distribución universal. El curso de la infección con Hc difiere entre aislamientos provenientes de América Latina y América del Norte. Los provenientes de América Latina presentan mayor mortalidad y dermatotropismo. Diferentes técnicas moleculares se usaron para caracterizar el perfil genético de Hc basado en la región ITS1/2 del rDNA o en la variación de genes que codifican para proteínas. Fundamentado en estos últimos genes, se identifican los clados: North American 1 (NAM 1), North American 2 (NAM 2), Latin American A (LAM A), Latin American B (LAM B), Australian, Netherlands (Indonesian?), Eurasian y African.

### **Objetivos**

Caracterizar a los aislamientos de Hc circulantes en nuestra ciudad mediante los genes que codifican para proteínas por multilocus sequence typing (MLST).

### **Materiales y métodos**

Al considerar al rDNA de aislamientos de Hc provenientes de muestras clínicas y de suelo se identificaron los clados South America B (n=45, 91,8%), North America 1 y South America A (2 aislamientos, 4,1 % cada uno). En el presente trabajo, se seleccionaron y amplificaron por PCR con genes que codifican para proteínas (factor de ADP ribosilación -arf, precursor de antígeno H - anti H y alfa tubulina- tub1) a aislamientos pertenecientes a los clados South America B (n= 3), NAM 1 (n= 2) y South America A (n= 2). La amplificación se realizó por con el uso de los respectivos cebadores. Las secuencias de nucleótidos para los genes arf, anti H y tub1 se alinearon con las pertenecientes a Hc de diferentes clados depositadas en el GenBank con el programa CLUSTAL W. El análisis filogenético se realizó con el método de Neighbor-joining, mientras los arboles se obtuvieron con 1000 replicas con el programa Mega.

### **Resultados**

El análisis filogenético se efectuó con las secuencias de arf, anti H y tub 1 y con la secuencias parcial de los tres genes en forma concatenadas. En los arboles consenso obtenidos para el locus arf y con las secuencias concatenadas de los tres genes estudiados, con un valor de bootstrap mayor de 70% quedaron constituidos los grupos LAM B, LAM A y NAM 1 que incluyeron a nuestros aislamientos. El grupo LAM A, en los tres locus, resultó heterogéneo al incluir a los Hc de Asia, México, Colombia, Brasil y ahora los de nuestro país. Dos aislamientos formaron un grupo bien definido con NAM 1 en los locus arf, Tub 1 y en el árbol concatenado. El clado LAMB, resultó heterogéneo al considerar nuestros Hc y los de Colombia, probablemente por la distancia geográfica de los Hc.

### **Conclusiones**

Existe una equivalencia entre los clados determinados por el análisis del rDNA y por genes que codifican a proteínas por MLST. El clado de Eurasia se encontró incluido en LAM A dado el origen que se considera a este. LAM B es el clado mayoritario que circula en nuestro país y fue aislado a partir de muestras clínicas y de suelo. Nuestros Hc proporcionaron una mayor heterogeneidad a al LAM A. Esta diferente diversidad genética podría ser uno de los factores del mayor dermatotropismo observado en los pacientes con histoplasmosis en nuestro país.

### 3. Micosis endémicas

## Coccidioidomicosis en Santiago del Estero

**Bioq. Serrano, J. S.**

Hospital Independencia de Santiago del Estero - Argentina

### **INTRODUCCIÓN**

Coccidioidomicosis es una patología endémica en el sudoeste de Estados Unidos, México y Sud América. La exposición a las artroconidias que se encuentran en el aire de zonas endémicas es el mecanismo primario de infección, ingresando éstas por vías aéreas superiores. En el noroeste argentino, hay una zona endémica que abarca los Departamentos Río Hondo, Guasayán y Choya, de la Provincia de Santiago del Estero. Esta región posee suelos ricos en minerales, pH alcalino, soporta temperaturas muy extremas (frío en Invierno con T° de -10°C y mucho calor en verano con 50°C), pocas lluvias y muchos vientos.

### **MATERIALES**

Seis pacientes fueron diagnosticados con coccidioidomicosis a través de muestras clínicas, de Anatomía Patológica y del Laboratorio de Micología. Todos los pacientes habían estado en el área endémica en algún momento, y al momento de los estudios presentaban síntomas pulmonares como derrame pleural, hemoptisis, infiltrados nodulares, etc.

### **MÉTODOS**

El Laboratorio de Micología recibió muestras clínicas a las cuales se les realizó: observación directa; coloración de Ziehl-Neelsen; Giemsa; y fueron sembradas en Sabouraud miel, Agar Cerebro-Corazón e incubadas a 28°C y 37°C. También, se realizaron pruebas serológicas con Antígeno de Coccidioidina por Inmunodifusión radial. Anatomía Patológica realizó cortes y coloraciones con Hematoxilina-Eosina, PAS, Grocott.

### **RESULTADOS**

Todos los pacientes eran oriundos de Santiago del Estero, Argentina, y habían estado en la zona endémica mencionada. Un paciente, de profesión estudiante, estaba infectado por HIV y se le observaron esferas típicas de Coccidioides sp en una muestra de derrame pleural. Todos los pacientes dieron positivo las pruebas serológicas por la técnica de Inmunodifusión Radial. Los pacientes respondieron bien a la terapia antifúngica: Itraconazol 400 mg en dos tomas de 200mg por seis meses. Solo una paciente continúa con lesiones en piel producto de su inconstancia con el tratamiento. Tres pacientes eran maestros rurales que ya no se encontraban en actividad y hacía más de 20 años que no habitaban en el área endémica.

### **CONCLUSIONES**

Las características físico-químicas del suelo de esta región precordillerana y la aparición de casos clínicos de Coccidioidomicosis hacen suponer que en esta región se encuentra una área endémica por lo que se deben realizar estudios epidemiológicos, del suelo, de animales y seguir buscando casos clínicos, ya que estos casos, muchas veces son diagnosticados como tuberculosis.

**Palabras clave:** coccidioidomicosis; micosis; artroconidias

### 3. Micosis endémicas

# Histoplasmosis en sistema nervioso central. Paraparesia en huésped inmunocompetente.

**Calfunao D.<sup>a</sup>; Morales A.<sup>a</sup>; Schinchirimini M.<sup>a</sup>; Salvatori L.<sup>a</sup>; Gargiulo R.<sup>b</sup>; Finkelievich J.<sup>c</sup>; Canteros C.<sup>d</sup>**

a Htal. Dr. Eduardo Castro Rendón, Neuquén, Argentina.

b Clínica Moguillansky, Neuquén, Argentina.

c Centro de Micología, IMPAM, CONICET-UBA, Facultad de Medicina, UBA, Argentina.

d Departamento de Micología, INEI-ANLIS Dr. Carlos Malbrán, Buenos Aires, Argentina.

## **INTRODUCCION**

La histoplasmosis (H) es una infección endémica en todo el mundo. Menos del 1% de las personas infectadas presentan manifestaciones clínicas y en su mayoría son formas pulmonares. Cuando se produce una diseminación sistémica, el *Histoplasma capsulatum* (Hc) alcanza al sistema nervioso central (SNC) en 20 al 30% de los casos y habitualmente por déficit en la inmunidad celular. Presentamos un caso muy infrecuente de mielitis por Hc en huésped inmunocompetente.

## **RESUMEN CLINICO**

Varón de 16 años inmunocompetente con antecedente de viaje al norte de Argentina quien consultó por pápula en pierna derecha. Recibió distintos antibióticos sin respuesta, presentando semanas más tarde paraparesia leve y retención aguda de orina. En internación se solicitó TAC de toráx, abdomen y pelvis sin alteraciones. RMN de columna evidenció engrosamiento del cordón medular cervicodorsal con edema difuso y lesiones nodulares a nivel de C6 y C7 con realce en anillo. HIV negativo. LCR: 2 células, glucorraquia 50 mg/dl, proteinorraquia 2 gr/dl. Gram, tinta china, Ziehl-Neelsen y PCR para *Mycobacterium tuberculosis*, negativos. La biopsia de piel descartó hongos y *Leishmania*. Con sospecha de proceso desmielinizante inició corticoides a altas dosis con mejoría transitoria. Evolucionó con síndrome meníngeo, fiebre y paraparesia severa. LCR: 57 células, hiperproteinorraquia y glucorraquia de 9 mg/dl. Inició antibióticos. RMN sin cambios. Por falta de respuesta y cultivos negativos se inició en forma empírica tratamiento con tuberculostáticos y anfotericina desoxicolato con lenta pero progresiva mejoría de la paresia.

Se aisló Hc del LCR e inmunodifusión positiva para el mismo hongo en suero. Cumplió un mes de anfotericina y se rotó a fluconazol más itraconazol (vo) continuando con recuperación del cuadro neurológico.

## **DISCUSION Y DIAGNOSTICOS DIFERENCIALES**

Presentamos un caso de histoplasmosis de SNC en huésped inmunocompetente, sin otras manifestaciones sistémicas. El compromiso del SNC en la H sigue a una diseminación sistémica, es diagnosticado solo en 25% de los casos y se presenta como histoplasmosis o meningitis crónica. En una serie de 77 casos de H de SNC solo el 2,4% correspondió a mielitis. Los factores predisponentes para la diseminación se relacionan habitualmente con disminución de la inmunidad celular: HIV, tumores hematológicos, trasplante, corticoides, inmunosupresores, lactantes, etc. Entre los diagnósticos diferenciales se deben considerar abscesos piógenos intramedulares, tuberculosis, paracoccidiodomicosis y tumores.

## **CONCLUSIONES**

Esta entidad muy infrecuente debe ser considerada ante cuadros neurológicos en pacientes de áreas endémicas, aún sin compromiso inmunológico. Ante la sospecha de mielitis por H es fundamental la búsqueda del Hc en LCR. El uso de métodos serológicos sensibles y específicos contribuye para el inicio de la terapia antifúngica precoz disminuyendo la mortalidad y las secuelas neurológicas. El antimicótico de elección es la anfotericina B liposomal no descartándose la desoxicolato. La experiencia con azoles es menor, prefiriéndose el itraconazol y el fluconazol.

## **PALABRAS CLAVE**

*Histoplasma capsulatum*; Histoplasmosis; paraparesia; inmunocompetente.

### 3. Micosis endémicas

## Situación de la histoplasmosis en pacientes VIH/Sida en los últimos 5 años

**López Daneri G.<sup>1</sup>, Arechavala A<sup>2</sup>, Iovannitti C<sup>1</sup>, Mujica MT<sup>1</sup>.**

1 Centro de Micología. Fac Medicina. UBA. Buenos Aires. Argentina

2 Unidad de Micología. Hospital F. Muñiz. Buenos Aires. Argentina

Las histoplasmosis producida por el *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* (Hc) ha modificado en estos últimos 10 años sus aspectos epidemiológicos, clínicos y diagnóstico en pacientes VIH/Sida.

#### **Objetivos**

Relevar datos clínicos, epidemiológicos en forma retrospectiva de las historias clínicas en pacientes con histoplasmosis y VIH/Sida entre los años 2009-2014.

#### **Materiales y métodos**

Se analizaron 105 pacientes VIH/Sida e histoplasmosis. Se registraron datos epidemiológicos, estado inmunológico del paciente, manifestaciones clínicas, tratamiento antirretroviral, infecciones asociadas, tasa de letalidad, diagnóstico y tratamiento.

#### **Resultados**

De los 105 pacientes la relación hombre/ mujer fue de 3,4 con edades entre 20-70 años. El recuento de LT CD4+ osciló entre 4-239/mm<sup>3</sup>. Las infecciones asociadas se diagnosticaron en el 41,9 % y el 16,2 % (n=17) eran de origen bacteriano, de las cuales un 12,4% (n=13) por *Mycobacterium tuberculosis*. El 1% fue parasitario, el 5,7% resultó fúngico y el 19,0 % (n=20) fueron virales. Manifestaciones clínicas: las lesiones cutáneas (ulceras, lesiones costrosas) se presentaron en el 74,2 % (n=78). Las úlceras bucales, anales, laríngeas, faríngeas y nasales se observaron en un 18,1 % (n=19). Los cuadros respiratorios con disnea, tos, expectoración mucopurulenta acompañada de fiebre y distress respiratorio se observaron en el 34,3 % (n=36) y a la Rx el compromiso miliar fue prevalente (55,6 %, n=20). Las adenopatías y las manifestaciones gastrointestinales (diarrea acuosa y síndrome de mala absorción) se presentaron solo en un 4,1% (n=3) y 3,1% (n=3), respectivamente. Diagnóstico. La identificación de Hc se realizó a partir de escarificaciones en el 91,1 %, por LBA en el 72,2 % (n=26) y por hemocultivos 56,5%. El estudio micológico de las biopsias (cutáneas, ganglionares, punción de medula ósea y mucosas-nasal, oral y perianal) demostró la presencia de Hc en un 94,1 % (n=34). La serología por inmunofusión fue positiva en el 6,6 % (n=5) de las muestras. Tratamiento. Al diagnóstico de la histoplasmosis solo recibían TARGA un 31,4 %. Se prescribieron como antifúngicos: anfotericina B desoxicolato en un 73,2 %, Itraconazol en un 25,8 % y la asociación de ambas drogas en un 1%. La tasa de letalidad global fue del 18,1 %.

#### **Conclusiones**

En la asociación VIH/Sida la forma aguda/subaguda de la histoplasmosis se presentó en pacientes con bajo recuento de LT CD4+ (media 46 /mm<sup>3</sup>). El sexo masculino fue prevalente. Las manifestaciones clínicas más frecuentes fueron las lesiones cutáneas mucosas, seguidas por las respiratorias. Es de destacar que el patrón radiológico (infiltrado intersticio nodulillar-miliar) fue coincidente con el observado en pacientes con tuberculosis diseminada, con la cual debe realizarse diagnóstico diferencial o considerar la asociación de ambas patologías. La adherencia al TARGA se observó en menos de un tercio de los pacientes y este sería el principal factor para las infecciones asociadas. Para el diagnóstico, las escarificaciones, los hemocultivos y las biopsias fueron efectivas; y en pacientes con compromiso respiratorio el LBA permitió el diagnóstico de Hc. La gravedad del cuadro condiciona la terapia antifúngica. Múltiples factores son los responsables de la elevada tasa de letalidad global.

### 3. Micosis endémicas

## Feline histoplasmosis: a case report in a hyperendemic area of sporotrichosis

**Viana, P.G.<sup>1</sup>; Pereira, S.A.<sup>1</sup>; Rocha, R.F.D.B.<sup>1</sup>; de Oliveira, M. M.<sup>1</sup>; Almeida-Paes, R.<sup>1</sup>; Gremião, I.D.F.<sup>1</sup>**

1- Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

### **Introduction**

Histoplasmosis is a systemic infection caused by the dimorphic fungus *Histoplasma capsulatum*, which affects humans and different animal species. It is the second most commonly reported systemic fungal disease in cats. Little information is available on feline histoplasmosis in Brazil and to the authors' knowledge, there are only five reported cases in Brazil. The aim of this report is to describe a case of histoplasmosis in a cat from Rio de Janeiro, Brazil.

### **Clinical summary**

The animal was a 17-year-old non-castrated male crossbred cat, weighing 4 kg and in good general health. The clinical examination revealed an ulcerated lesion on the chin region and at the pre-auricular region of the left pinna as well as nodule in the outer surface of the same pinna, besides sneezing and serosanguineous discharge, bilateral pseudotumoral rhinitis, which obstructed the upper airways, causing dyspnea. The patient was an indoor cat and had exposure to the outdoor environment. The house was surrounded by trees, plants, wood and vegetation. Oral itraconazole (50 mg) was prescribed once daily. The drug was well tolerated and adverse effects were not detected in the cat. After six months of treatment, the lesions had healed completely and the remission of the initial clinical signs was observed.

### **Supplementary examinations**

For cytopathological examination, impression smears of the two ulcerated skin lesions were prepared on clean and dry glass slides and stained by the Quick Panoptic method. For fungal culture, exudate from the ulcerated lesion was collected with a sterile swab and seeded on routine culture media onto Sabouraud dextrose agar and Mycobiotic agar and incubated at 25°C. Dimorphism was confirmed by conversion to the yeast phase in brain-heart infusion at 37°C. Blood samples were collected for complete blood count and serum biochemical analysis. Yeast-like cells were not observed in cytopathological examination and *H. capsulatum* was isolated in mycological culture, however, the mycelial growth is highly infectious and should be handled with extreme caution. No relevant alterations were identified in routine haematology or serum biochemical panels.

### **Discussion and differential diagnosis**

Sporotrichosis was the initial clinical suspicion due to the similarity of the clinical signs. The feline histoplasmosis is rarely described in Brazil, thus the differential diagnosis is important, particularly due to the sporotrichosis epidemic that has been occurring in Rio de Janeiro since 1998, in which more than 4,000 cats were diagnosed in a single research institution. Unlike sporotrichosis, direct transmission of *H. capsulatum* from animals to animals or zoonotic transmission has not been reported.

### **Conclusion**

We presented the data of a feline disease considering the importance of histoplasmosis for Veterinary Mycology as well as the scarcity of case reports in cats in Brazil. Thus, it is very important that veterinary practitioners be aware of the clinical features of feline histoplasmosis and differential diagnosis.

Key words: cat, histoplasmosis, sporotrichosis

### 3. Micosis endémicas

# Feline sporotrichosis: evaluation of the therapeutic response to sodium iodide in capsules

**Carvalho, B.W.<sup>1</sup>; Gremião, I.D.F.<sup>1</sup>; Pereira, S.A.<sup>1</sup>; Antonio, I.M.S.<sup>1</sup>; Figueiredo, A.B.F.<sup>1</sup>; Silva, L.C.<sup>1</sup>; Schubach, T.M.P.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Laboratory of Clinical Research on Dermatозoonosis in Domestic Animals, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases (INI)/Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), Rio de Janeiro, Brazil.

## **Introduction**

Sporotrichosis is a subcutaneous mycosis caused by species of *Sporothrix* complex that affects humans and animals. The treatment of cats with sporotrichosis is difficult and the use of iodides compounds is limited mainly due to the difficulty of administration of the pharmaceutical form in solution, and the occurrence of adverse effects. The advantage of the iodides is the lower cost compared to itraconazole, which is the drug of choice. In a recent study, the use of potassium iodide in capsules demonstrated a higher percentage of healing in comparison to saturated solution of potassium iodide. Clinical cure with sodium iodide solution has been described in a few cases and the effectiveness of the drug in capsules has not been reported yet. Further, according to the literature, cats have better tolerance to sodium iodide than to potassium iodide.

## **Objective**

To evaluate the therapeutic response of the sodium iodide in capsules in cats with sporotrichosis.

## **Methods**

It was conducted an observational cohort study of cats with sporotrichosis confirmed by the isolation of *Sporothrix* spp, from 2014 to 2015. The treatment consisted of the administration of sodium iodide capsules at a dose of 5 mg/kg/24 hours, by the animal's owners. In the absence of satisfactory clinical response and adverse effects, the dose was increased to 10 mg/kg/24 hours. The animals were monthly submitted to general clinical examination and laboratory tests. The animals with clinical and/or laboratory adverse effects classified as severe had the medication discontinued for seven days with the reintroduction of 2.5 mg/kg/24 hours. Animals showing stagnation, worsening of clinical symptoms and/or occurrence of clinical and/or laboratory alterations classified as severe during treatment were withdrawn from the study and considered as treatment failure

## **Results**

The study included 28 cats with 22 males (78.6%). Fifteen animals (53.5%) had clinical adverse effects and 80% were classified as mild, 6.7% as moderate and 13.3% as severe. Loss of appetite occurred in 30.4% of cases. The laboratory tests conducted over the therapeutic follow-up showed that twelve animals (42.8%) presented increased transaminases, urea and creatinine, which ranged from mild to severe, being 8.3% classified as moderate (transaminases), 8.3% as severe (urea) and life-threatening severe (creatinine). In six cats (21.4%) the dose of sodium iodide was increased to 10 mg/kg/24 hours. Two animals (7.1%) were discharged, one received a dose of 5 mg/kg and the other 10 mg/kg. In seven cases (25%) treatment were dropout and in other 11 cases (39.2%) the treatment failure was observed. One animal (3.5%) died during the treatment due to the progression of the disease. Seven (25%) animals remain on treatment.

## **Conclusion**

The sodium iodide capsules proved to be less effective than previously described for potassium iodide, and the safety was similar. However the use of this drug should not be disconsidered in cases of feline sporotrichosis and further clinical trials should be carried out to determine the optimal dose and its effectiveness.

**keywords:** sporotrichosis, sodium iodide, cats, therapy

### 3. Micosis endémicas

## Neurohistoplasmosis: A propósito de un caso

**Catanzariti M.J, Visus M., De Cristofano A., Marcó del Pont J., Greco G., Oyhamburu J.**

### **Introducción**

*Histoplasma capsulatum* es un hongo dimorfo, agente etiológico de histoplasmosis. Ésta es una micosis sistémica endémica que generalmente se presenta como infección pulmonar autolimitada. La afección del sistema nervioso central ocurre en forma esporádica y se comporta clínicamente como meningitis crónica, encefalitis, o desarrolla lesiones focales encefálicas.

### **Resumen clínico**

Niña de 12 años de edad, inmunocompetente, oriunda de la provincia de Tucumán que ingresó al Hospital derivada de otra institución con cuadro de encefalitis, síndrome febril prolongado, irritabilidad y crisis de llanto. Presentó alteración del sensorio sin recuperación de la conciencia, sin foco motor y con pares craneales conservados. Se realizó tomografía computada de cerebro donde se evidenció hidrocefalia con edema periependimario, disminución de surcos y cisuras vinculables a edema asociado a signos de hemorragia subaracnoidea y cortical parenquimatosa. Se realizó drenaje ventricular externo. Para realizar diagnóstico microbiológico diferencial se solicitaron cultivos para bacterias, micobacterias y hongos, así como estudios serológicos en líquido cefalorraquídeo (LCR) y en sangre. Se inició tratamiento para tuberculosis. En función de los resultados obtenidos se rotó a tratamiento anti fúngico con anfotericina liposomal durante 6 meses y luego voriconazol vía oral por un año. La paciente mejoró con el tratamiento.

### **Exámenes complementarios**

El examen físico-químico del LCR muestra glucorraquia = 48 mg/dL, proteinorraquia = 56 mg/dL y leucocitos = 440 /mm<sup>3</sup>.

Los exámenes directos para gérmenes comunes y micobacterias fueron negativos así como los cultivos.

La prueba serológica para *Histoplasma capsulatum* resultó positiva. Las PCR para *Histoplasma capsulatum* fueron negativas en suero, biopsia de cerebro, calota y duramadre. (Determinaciones realizadas en otras instituciones).

Estudio micológico del LCR: El examen directo resultó negativo. El cultivo de un gran volumen de LCR, previamente centrifugado, en medio Sabouraud a 28 °C y en medio Agar Cerebro Corazón a 37°C, luego de 30 días de incubación mostró el crecimiento de *Histoplasma capsulatum*, identificado por su micromorfología.

Discusión y diagnósticos diferenciales

Frente a un cuadro que afecta al sistema nervioso central las probables etiologías que se sospechan son la bacteriana, viral, fúngica o tuberculosis. Debe realizarse el estudio microbiológico para llegar al diagnóstico etiológico diferencial.

### **Conclusión**

El contexto epidemiológico del paciente al provenir de un área endémica debe hacer pensar en este tipo de micosis aunque un cuadro de encefalitis no sea la presentación más frecuente.

Resultó importante el aislamiento del hongo en LCR para confirmar el diagnóstico de la paciente ya que las pruebas serológicas y de biología molecular, aunque permitieron obtener resultados rápidamente, pueden no ser concluyentes.

**Palabras claves:** Neurohistoplasmosis, *Histoplasma capsulatum*, encefalitis.

### 3. Micosis endémicas

## Emergence of juvenile paracoccidioidomycosis in Northeast Argentina

**Cattana ME<sup>1</sup>, Sosa MA<sup>1,4</sup>, Fernández M<sup>1</sup>, Rojas F<sup>1</sup>, Aguirre C<sup>2</sup>, Vratnica C<sup>3</sup>, Corallo T<sup>2</sup>, Giusiano G<sup>1</sup>**

1 Instituto de Medicina Regional, U.N.N.E, Av. Las Heras 727, Resistencia, Argentina

2 Hospital Pediátrico "Dr. A. Castelán", Resistencia, Argentina.

3 Hospital Pediátrico "Juan Pablo II", Corrientes, Argentina.

4 Laboratorio Central de Salud Pública, Corrientes, Argentina.

Paracoccidioidomycosis (PCM) is an endemic neglected disease in Northeast Argentina without mandatory reporting.

Even though in this area the PMC typically affects predominantly male adults with a chronic evolution, in the last five years, several cases (never described before) of sub-acute clinical forms with progressive evolution in children aged 10 to 16 years (median 12) were described.

We present 6 cases (Table 1) in which were observed cutaneous, mucocutaneous and exacerbated subcutaneous manifestations, also bone and multisystem involvement.

No gender difference was observed. In some patients PCM presentations were severe, in a few weeks with multi-organ affectation and lymph node chains involvement.

Interestingly, four cases were urban without any exposure to rural environment and one case had negative serology.

All patients received itraconazole as treatment and amphotericine B in severe cases. Only one patient died, in other cases good outcomes were observed.

Since there were no previous reports of juvenile PCM clinical form in children in Northeast Argentina, the diagnosis was challenging, difficult and delayed. This should be considered and require a higher level of suspicion throughout the endemic area, but also in the main referral centers.

The recognition of this emergence requires urgent research to explore the circulating *Paracoccidioides* species implicated in PCM in order to improve the diagnostic and therapeutic tools.

**Keys words:** serological diagnosis, bone lesion, multisystem infection

Tabla 1. Cases of sub-acute paracoccidioidomycosis en children, never described in the Northeast of Argentina

	<b>Case 1</b>	<b>Case 2</b>	<b>Case 3</b>	<b>Case 4</b>	<b>Case 5</b>	<b>Case 6</b>
Location	Pres. R. Saenz Peña	Avia Terai	Resistencia	Las Breñas	Corrientes city	Corrientes city
Province	Chaco	Chaco	Chaco	Chaco	Corrientes	Corrientes
Age/Gender	10 years / Female	10 years / Male	12 years / Male	13 years / Male	16 years / Female	13 years / Male
Area	Urban	Rural	Urban	Rural	Urban	Urban
Evolution time	4 months	2 months	1 month	2 months	1 month	2 months
Clinical profile	Malnutrition, Adenomegaly, Subcutaneous nodules, Pathologic humerus fracture, Osteolytic lesions in long and cranial bones, Hepatosplenomegaly	Emaciation, Fever, Asthenia, Adenomegaly, Osteolytic lesion in parietal bone, clusters of nodes in the neck, lung, and peritoneal cavity. Hepatosplenomegaly	Emaciation, Asthenia, Submandibular lymph nodes, Pulmonary nodule	Emaciation, Fever, Asthenia, Acute abdomen, Adenomegaly, Hepatosplenomegaly	Pain and swelling in ankle and right leg, Osteomyelitis, Osteolytic lesion in the diaphysis of right leg.	Fever, Erythematous papules in limbs and trunk, Fauces ulcers and small nodules in the oropharynx, Adenomegaly
Serology	1/8	1/8	1/8	Negative	N/D	1/32

### 3. Micosis endémicas

## Manifestaciones cutáneas poco frecuentes de la paracoccidioidomicosis

**Rojas F<sup>1</sup>, Sosa M<sup>1</sup>, Fernández M<sup>1</sup>, Cattana ME<sup>1</sup>, Alegre L<sup>1</sup>, Chacon Y<sup>2</sup>, Valdez R<sup>2</sup>, Giusiano G<sup>1</sup>**

1 Instituto de Medicina Regional, UNNE, Av. Las Heras 727, Resistencia, Argentina.

2 Hospital Señor del Milagro, Av. Sarmiento 557, Salta, Argentina.

### Introducción

La paracoccidioidomicosis (PCM) es una micosis sistémica endémica en áreas tropicales y subtropicales húmedas de América Latina, producida por el hongo dimorfo *Paracoccidioides*. La forma crónica del adulto es la más frecuente de las presentaciones clínicas. Puede presentarse de manera unifocal o multifocal. La lesión cutánea más frecuente es un nódulo indurado rojo-violáceo que posteriormente se ulcera, mostrando una costra serohemática adherida a un fondo granulomatoso hemorrágico típico. Varias lesiones pueden fusionarse produciendo placas elevadas, a veces vegetantes y costrosas de considerable diámetro. Como presentación inusual se han descrito lesiones del tipo de pápulas acneiformes diseminadas y en otros casos de aspecto psoriasiforme.

**El objetivo** de este trabajo fue describir lesiones cutáneas poco frecuentes de pacientes con diagnóstico de PCM, observadas recientemente.

### Materiales y métodos

Se describen lesiones cutáneas de 4 pacientes con diagnóstico de PCM. En todos los casos la micosis fue confirmada por estudio microbiológico de las lesiones y serología por inmunodifusión radial semicuantitativa positivas.

### Resultados

La tabla 1 describe los cuatro pacientes de acuerdo al lugar de residencia, edad, sexo, tipo y localización de lesión, y resultados de la serología.

### Conclusiones

La presentación unifocal cutánea de la PCM es poco frecuente, como así también las formas multifocales con manifestaciones cutáneas sin presentar lesiones mucocutáneas.

A pesar de la variedad en el tipo de lesiones, en todos los casos pudo realizarse el diagnóstico a partir del escarificado de dichas lesiones. Además debemos tener en cuenta que este tipo de lesiones en piel no son patognomónicas de una enfermedad y es fundamental el diagnóstico diferencial.

La PCM es una micosis olvidada reemergente en los últimos años en Argentina. La diversidad de las manifestaciones cutáneas encontradas remarca la importancia de considerar esta micosis en la sospecha clínica frente a lesiones cutáneas atípicas en pacientes oriundos de la región endémica, vivan o no actualmente en dicha zona. La divulgación de estos casos permite alertar al personal de salud para conducir a un diagnóstico definitivo certero y temprano.

**Palabras claves:** *Paracoccidioides* sp.- pápula - placa eritematosa - úlcera

**Tabla 1.** Descripción de los cuatro pacientes con paracoccidioidomicosis

	paciente 1	paciente 2	paciente 3	paciente 4
Edad /sexo	62 años / femenino	30 años/ masculino	45 años/masculino	42 años /masculino
Localidad	Resistencia	Isla de Cerrito	La Leonesa	Embarcación
/Provincia	Chaco	Chaco	Chaco	Salta
Área	Urbano	Rural	Rural	Rural
Tipo de lesión cutánea	Pápulas eritematosas múltiples y diseminadas en tronco con bordes bien definidos, algunas con costra central.	Placa eritemato-des-camativa en muslo de bordes poco definidos y placas eritemato-costrosas en zona dorsal con bordes irregulares	Lesiones de aspecto mamelonado y límites irregulares, sobreelevados e hiperpigmentados, con eritema peri-lesional, que confluyen formando lesión única de gran diámetro en región cervical posterior	Lesiones ulcerativas de bordes irregulares algunas con centro hemático costroso, en región fronto parietal, temporal y en cara. Además presentó coinfección con <i>Leishmania</i> .
Serología	1 /128	1 / 4	1/1	1 /64

### 3. Micosis endémicas

# Coccidioidomicosis con formas miceliales en tejido pulmonar

**CARRIZO S.<sup>1</sup>, LITTVIK A.<sup>1</sup>, SARQUIS G.<sup>1</sup>, AICARDI C.<sup>1</sup>, CAMBURSANO H.<sup>1</sup>, GONZALEZ A.<sup>1</sup>, SANDRONE S.<sup>1</sup>, LÓPEZ-JOFFRE MC.<sup>2</sup>, CANTEROS CE.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Hospital Rawson de Córdoba, Córdoba.

<sup>2</sup> Departamento Micología, INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". Buenos Aires.

## Introducción

La coccidioidomicosis (CDM) es una micosis sistémica causada por *Coccidioides immitis* y *C. posadasii*. En Argentina el hongo es endémico en la región precordillerana con mayor incidencia en la Provincia de Catamarca. El diagnóstico se realiza por observación microscópica de las esférulas, estructuras características de la fase parasitaria, en los materiales clínicos y por desarrollo in vitro del hongo, que a 25°C y 37°C forma micelio con artroconidias.

## Resumen Clínico

**Caso 1:** Paciente masculino 47 años, de Catamarca, con diabetes tipo II de 4 años de evolución. Comenzó con tos, expectoración mucopurulenta, fiebre y signos radiológicos de lesión cavitaria. En el hospital de origen fue tratado con antibióticos sin respuesta y se diagnosticó CDM por desarrollo de *Coccidioides* sp.; se le administró itraconazol sin respuesta y luego se rotó a anfotericina B, observándose intolerancia. Se deriva a un hospital de mayor complejidad donde se le realizó lobectomía pulmonar.

**Caso 2:** Paciente femenino, 41 años, de Catamarca, con diabetes tipo 1, hipertensión arterial e insuficiencia renal crónica. En 2011, con un diagnóstico de aspergiloma, se le realizó una lobectomía de lóbulo inferior derecho y se trató con itraconazol con buena respuesta. Dos años después presentó hemoptisis y una lesión cavitaria en lóbulo superior del mismo pulmón. Recibió itraconazol durante un año, el cuadro no mejoró y se le realizó una lobectomía. La paciente falleció por infección de herida quirúrgica asociada a su patología de base.

Exámenes complementarios. En ambos casos los tejidos pulmonares se enviaron para estudios microbiológicos e histológicos. En el examen directo con KOH y en los cortes histológicos se observaron esférulas compatibles con *Coccidioides* spp. e hifas tabicadas. En los medios de cultivo desarrolló, un hongo de micelio hialino con artroconidias, que fue identificado como *C. posadasii* por secuenciación del fragmento específico del gen Ag2PRA. En ambos pacientes se detectaron anticuerpos anti-*Coccidioides*.

## Discusión y Diagnósticos Diferenciales

La presencia de hifas y esférulas en el tejido pulmonar nos hace pensar en una micosis por hongos miceliales asociada a la CDM, sin embargo, los cultivos confirmaron el desarrollo de *Coccidioides* spp. como único agente causal. En las formas cavitarias de CDM el hongo puede desarrollar en el tejido produciendo hifas con artroconidios y esférulas. Ambos pacientes tenían factores de riesgo para contraer la infección y provenían de un área geográfica endémica de CDM. Nuestro hallazgo coincide con otros trabajos donde observan micelio de *Coccidioides* spp. en tejido, en pacientes diabéticos, con lesiones cavitarias y más de 8 meses de evolución. La identificación de especies de *Coccidioides* solo es posible utilizando métodos moleculares.

## Conclusiones

En pacientes con imágenes cavitarias pulmonares, que habitan o transitan las áreas geográficas donde la CDM es endémica es necesario realizar estudios exhaustivos (microbiológicos, histológicos y serológicos), ya que a veces en secreciones respiratorias pueden observarse en el examen directo abundantes hifas, pasando desapercibidas otras estructuras que pueden conducir a un diagnóstico erróneo.

**Palabras clave:** Coccidioidomicosis - formas miceliales - diabetes -

### 3. Micosis endémicas

## Paracoccidioidomicosis en Sistema Nervioso Central

**Tracogna M.F., Cattana M.E., Fernández Lugo S., Marques I.A., Carol Rey M.**

Hospital "Dr. Julio C. Perrando", Av. 9 de Julio 1100, Resistencia, Argentina.

La paracoccidioidomicosis (PCM) es una micosis sistémica, endémica en áreas tropicales y subtropicales húmedas de América Latina, producida por el hongo dimorfo *Paracoccidioides* sp.. Un 10% de los pacientes con la forma crónica de PCM presenta compromiso del sistema nervioso central (SNC). Los síntomas más comunes son cefalea, convulsiones y algún signo de foco, lo más frecuente es un síndrome cerebeloso. Las lesiones son granulomas abscedados que se ponen en evidencia mediante tomografía computarizada o resonancia nuclear magnética.

Se presentan 3 casos de PCM en SNC diagnosticados entre agosto de 2013 y octubre de 2014.

**Caso 1.** Paciente masculino de 30 años de edad, que residía en Machagay, Chaco. Antecedentes de trabajado rural, etilanolista y tabaquista. En el año 2012 se le realizó el diagnóstico de PCM a partir del escarificado de una lesión mucocutánea. Realizó tratamiento incompleto con Itraconazol 200 mg/día. Al año siguiente, consulta por cefalea intensa de 10 días de evolución. Se realizó RMN de encéfalo, observándose una lesión expansiva heterogénea en hemisferio cerebeloso derecho.

**Caso 2.** Paciente masculino de 53 años de edad, que residía en Resistencia, Chaco. Antecedente de trabajo rural. Al momento de la consulta presentó adelgazamiento, cefalea y vértigo. Se realizó RMN de encéfalo donde se observó una lesión expansiva heterogénea polilobulada de bordes definidos en el hemisferio cerebeloso izquierdo y la misma lesión en el sector basal del lóbulo occipital izquierdo.

**Caso 3.** Paciente masculino de 39 años de edad, que residía en La Tigra, Chaco. Antecedentes de tabaquista, etilanolista y trabajo rural. Al momento de la consulta refirió pérdida brusca de la agudeza visual. Se solicitó RMN de encéfalo donde se evidenció lesión heterogénea a nivel del lóbulo frontal izquierdo, acompañado de deformación del quiasma óptico.

En los 3 casos se indicó resección quirúrgica de la lesión, enviándose el material purulento recuperado al laboratorio de microbiología, donde en el examen en fresco se observaron abundantes levaduras multibrotadas compatibles con *Paracoccidioides* sp. En la tabla 1 se muestran algunos datos complementarios.

		Caso 1	Caso 2	Caso 3
Serología		(-)	S/D	(+)
Tratamiento	inicio	AMB-50 mg/día	AMB-50 mg/día	AMB-50 mg/día
	consolidación	TMS-10 mg/kg/día		TMS-10 mg/kg/día
Evolución		Buena	Óbito	Buena

S/D: sin datos; TMS: trimetoprima/sulfametoxazol; AMB: anfotericina B deoxicolato; (-): negativo; (+): positivo.

En todos los casos se asumió como una patología tumoral no infecciosa. La frecuencia de PCM con compromiso del sistema nervioso central en el nosocomio, en el periodo estudiado, es de 16%, algo mayor a lo descrito en la bibliografía.

El Chaco es la provincia con mayor prevalencia de PCM del área endémica. En los últimos 3 años se detectó un incremento en el número de casos de 4 veces, acompañado de localizaciones poco frecuentes. Por esto, es importante pensar en la PCM como diagnóstico diferencial en pacientes con lesiones tumorales de sistema nervioso central. Esto se podría realizar con pruebas serológicas, rápidas y económicas, que en caso de ser positivas orientan al diagnóstico y podría derivar en un tratamiento precoz

**Palabras clave:** *Paracoccidioides* sp., absceso cerebeloso, PCM crónica

### 3. Micosis endémicas

## NEUROPARACOCCIDIOIDOMICOSIS

**FROLA C.<sup>1</sup>, ARANDA J.<sup>1</sup>, ROLÓN MJ.<sup>1</sup>, BARRIOS R.<sup>2</sup>, CHAILE F.<sup>3</sup>, GUELFAND L.<sup>3</sup>, PÉREZ H.<sup>1</sup>**

1 Servicio de Infectología.

2 Servicio de Clínica Médica.

3 Laboratorio de Microbiología. Hospital Juan A. Fernández, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

### **INTRODUCCIÓN**

Paracoccidiodomicosis (PCM) es una micosis sistémica ocasionada por *Paracoccidioides brasiliensis/lutzii* de distribución limitada a América Latina. Puede involucrar cualquier órgano, aunque la afección del sistema nervioso central (SNC) ocurre sólo en un 13% y puede ser fatal.

### **RESUMEN CLÍNICO**

Masculino de 37 años, oriundo de Paraguay, residencia en ciudad de Buenos Aires desde hace 20 años. Trabajador de aserradero. Tabaquista y enolista. Ingresó por cefalea holocraneana y hemianopsia unilateral temporal izquierda de 2 meses de evolución. Laboratorio con leucocitosis. Tomografía Computada (TC) y Resonancia Magnética (RMN) de encéfalo: lesión ocupante de espacio occipital derecha con realce periférico al contraste y edema perilesional. TC de tórax: múltiples nódulos de contornos lobulados, algunos cavitados, en ambos lóbulos superiores. Parches de vidrio esmerilado. Nodulillos centrolobulillares con patrón de “árbol en brote”. Espirometría: alteración ventilatoria obstructiva de carácter moderado. Lavado broncoalveolar: examen en fresco y giemsa compatible con *Paracoccidioides* spp. Serologías para HIV y Chagas: no reactivas. Serología de *Paracoccidioides* spp.: positiva a título puro. Se inició tratamiento con anfotericina B desoxicolato más corticoterapia por edema a nivel del SNC. Evolucionó febril persistente, con hemocultivos para gérmenes comunes, micobacterias y hongos negativos. Se rotó tratamiento a trimetoprima-sulfametoxazol (TMS), con buena respuesta clínica e imagenológica a nivel pulmonar. RMN de encéfalo a las 6 semanas de tratamiento sin cambios significativos, por lo que se decidió realizar excéresis de la lesión, siendo la biopsia por congelación compatible con *Paracoccidioides* spp. y su informe definitivo de absceso micótico. Se continuó tratamiento ambulatorio con TMS por buena evolución. Actualmente con leve mejoría de alteración visual a 4 meses de tratamiento.

### **DISCUSIÓN**

PCM es la micosis endémica más frecuente en América Latina. Se adquiere por la inhalación del hongo y posterior diseminación a órganos extrapulmonares a través de vía linfo-hemática. El diagnóstico inicial de nuestro reporte fue a través de muestra respiratoria. El daño pulmonar progresa a fibrosis produciendo hipoxemia y disfunción ventilatoria. Este caso presentó mayor compromiso respiratorio en las primeras semanas de tratamiento, sin hallazgos de otros gérmenes, como posible manifestación de un síndrome paradójico. La falta de mejoría de la lesión en SNC, motivó la biopsia de la misma para excluir otros posibles diagnósticos, como tumor cerebral, tuberculoma o absceso de otra etiología. La infección en el SNC puede desarrollarse después de la diseminación de una infección pulmonar activa o reactivación de un foco latente después de una inmunosupresión. Si bien este paciente no presentaba patología asociada, la ocupación, el tabaquismo y el enolismo son factores predisponentes.

### **CONCLUSIONES**

Según estudios de autopsia, la PCM es más frecuente de lo que se sospecha, con retraso en el tratamiento y alta mortalidad. La diseminación a SNC es una entidad poco habitual y de diagnóstico difícil. Una mayor sospecha debe estar presente cuando se observan manifestaciones neurológicas en casos de PCM concomitante en otro órgano, especialmente a nivel pulmonar.

**PALABRAS CLAVES:** Paracoccidiodomicosis, sistema nervioso central

### 3. Micosis endémicas

## Impaired cytokine transcription levels in cats with sporotrichosis coinfecting with Feline leukemia virus

Miranda, L.H.M.<sup>1,2</sup>, Meli, M.<sup>2</sup>, Conceição-Silva, F.<sup>1</sup>, Menezes, R.C.<sup>1</sup>, Pereira, S.A.<sup>1</sup>, Novacco, M.<sup>2</sup>, Sugiarto, S.<sup>2</sup>, Gremião, I.D.F.<sup>1</sup>, Hofmann-Lehmann, R.<sup>2</sup>.

1 - Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro-RJ, Brazil

2 - Vetsuisse-Faculty, University of Zurich, Zürich-ZH, Switzerland

**Introduction:** Sporotrichosis is a mycosis that affects humans and many animals worldwide, and is caused by *Sporothrix schenckii* complex species. The cat is the species most affected by sporotrichosis and the occurrence of severe feline sporotrichosis is frequently described and associated to lesions with high fungal load, even in animals that are apparently immunocompetent. Both the Feline Leukemia Virus (FeLV) and the Feline Immunodeficiency Virus (FIV) cause immunodeficiency in cats, which results in the development of secondary infections. Several former studies tried to find a connection between the apparent susceptibility of cats to sporotrichosis and these retrovirus coinfections, but no correlation has been detected so far.

**Objective:** The aim of this study was to verify if the variation of cytokine levels among cats with sporotrichosis is related to the coinfection with FeLV.

**Material and Methods:** Blood samples were obtained from 27 cats with sporotrichosis during the period of April to August, 2013, for cytokine assessment and detection of FIV and FeLV coinfection. The quantitative RT-qPCR was performed for relative quantification of the interleukins (IL) 4, 10 and 12. Standard curves were made from samples and from reference genes and normalized results were obtained when the samples values (number of copies) were divided by the geometric means of the reference genes. The FeLV coinfection was assessed through PCR for the detection of FeLV provirus and through ELISA for the detection of FeLV p27 antigens. All cats were also tested for the coinfection with FIV through Western-blot. The Mann-Whitney U-test (pMWU) was performed for statistical differences in cytokines expression between the two groups: 1 - cats with sporotrichosis and no retrovirus coinfection; 2 - cats with sporotrichosis coinfecting with FeLV.

**Results:** Among the 27 cats included, six were positive for FeLV through both provirus and p27 antigens evaluation. All cats were negative for FIV coinfection. The expression of IL-10 was significantly higher in FeLV-positive cats than in retrovirus-negative cats (pMWU = 0.04). The levels of IL-4 and IL-12 were significantly lower in FeLV-positive cats compared to retrovirus-negative cats (both pMWU = 0.04). Table 1 shows the cytokines expression levels in FeLV-positive cats and retrovirus-negative cats.

**Conclusions:** Our results also indicate that both, the Th1 and Th2 responses, may be compromised in cats with sporotrichosis coinfecting with FeLV in comparison with cats without retroviral coinfection, since IL-4 and IL-12 were lower in the earlier animals. Moreover, the higher levels of IL-10 in coinfecting animals suggest that the coinfection with FeLV may be related to the increased severity of sporotrichosis in cats. In experimental sporotrichosis, IL-10 is related to the impairment of fungicidal activity of macrophage, as well as with unresponsiveness of T-cells. These findings point to the importance of an accurate diagnosis of the coinfection with feline retroviruses in cats with sporotrichosis for their proper management and supportive therapy and assessment of prognosis.

**Table 1.** Assessment of cytokines levels by quantitative RT-qPCR in cats with sporotrichosis coinfecting or not with FeLV.

	IL4		IL10		IL12	
Retrovirus coinfection	Median (Min-Max)	n	Median (Min-Max)	n	Median (Min-Max)	n
No coinfection	1.40 (0.51-8.06)	21	0.21 (0.07-1.37)	21	13.35 (2.92-43.00)	21
FeLV	0.43 (0.17-1.17)	6	0.74 (0.17-2.73)	6	6.20 (0.96-20.27)	6

Note: Min = Minimum, Max = Maximum.

1 Mann-Whitney U-test: retrovirus-negative cats x FeLV-positive cats (p-value < 0.05 for significance) - \*p-value < 0.05

### 3. Micosis endémicas

# Histoplasmosis en pacientes con sida sin manifestaciones tegumentarias

**Messina F., Corti M., Negroni R., Arechavala A., Bianchi M., Santiso G.**

Hospital de Enfermedades Infecciosas "F. J. Muñiz". CABA, Argentina.

## **Introducción**

La histoplasmosis es una micosis sistémica endémica, de gran relevancia en pacientes con sida. El cuadro clínico puede ser muy variado, en pacientes que no manifiestan lesiones cutáneas suele confundirse con la tuberculosis debido a su similitud clínica y sintomática.

## **Objetivo**

Determinar características clínicas, microbiológicas y parámetros bioquímicos en enfermos con histoplasmosis y sida sin manifestaciones tegumentarias; para establecer pautas que permitan emplear un tratamiento empírico y precoz.

## **Materiales y métodos**

Estudio retrospectivo y observacional. Se analizaron las historias clínicas de 86 pacientes con histoplasmosis en el período comprendido entre enero de 2010 y diciembre de 2012. Se utilizó el programa Infostat 2011 para el análisis de los datos obtenidos.

## **Resultados**

Ochenta pacientes presentaron diagnóstico de histoplasmosis y HIV. La prevalencia de pacientes con sida e histoplasmosis sin manifestaciones tegumentarias fue de 38,75%. La mediana de edad fue de 36 años (rango 18-60 años). La fiebre fue el síntoma más frecuente y se observó en el 96,7% de los pacientes, 87% acusaron pérdida de peso, doce enfermos tuvieron tos y once disnea. El patrón radiológico pulmonar más frecuentemente hallado fue el miliar [(12/22), 54,5%]; el patrón retículo-nodulillar fue observado en seis pacientes y el compromiso intersticial se presentó sólo en cuatro. Nueve enfermos (29%) tenían una radiografía de tórax normal.

En la ecografía abdominal el signo más característico fue la esplenomegalia observada en 19 casos sin demostrar lesiones focales. Los hemocultivos demostraron una sensibilidad del 93,33% y la serología fue positiva en el 23,5% de los casos. Siete enfermos presentaron LDH mayor a 1000 UI/l y la anemia se observó en el 90,32%.

Fallecieron ocho pacientes (25,8%). En el 70% de los enfermos el diagnóstico se obtuvo luego de los 14 días del ingreso. Pacientes con linfocitos T CD4+ menor a 50 células/ $\mu$ l, albúmina menor a 2,5g/dl y pancitopenia presentaron un pronóstico desfavorable.

## **Discusión y diagnósticos diferenciales**

Las formas clínicas graves de histoplasmosis se vinculan a infecciones masivas o con déficit de los mecanismos locales o generales de la respuesta inmune. En la actualidad se asocian al sida, a los linfomas, a las leucemias linfáticas y a los trasplantes de órganos. Es necesario contar con métodos de detección rápida de antígenos de *H. capsulatum*, con tratamientos de primera línea pero sobre todo con algoritmos diagnósticos confiables.

Entre los diagnósticos diferenciales se encuentran principalmente la tuberculosis diseminada, los linfomas y la leishmaniasis visceral

## **Conclusiones**

No existe una determinación de laboratorio vinculable a histoplasmosis. Los pacientes que consulten por síndrome febril asociado o no a lesiones micronodulillares bilaterales en la radiografía de tórax deben ser sometidos a estudios por imágenes de abdomen.

Por el tiempo que demora el diagnóstico, si el paciente presenta los signos anteriormente mencionados y los factores de mal pronóstico debe considerarse realizar tratamiento empírico con anfotericina B.

**Palabra clave:** Histoplasmosis, sida.

### 3. Micosis endémicas

# Galleria mellonella como modelo de infección por hongos dimórficos

**A.N. Motter<sup>1</sup>, A.I. Toranzo<sup>2</sup>, H.D. Salas<sup>2</sup>, L.Vázquez<sup>1</sup>, C.E. Canteros<sup>2</sup>, R.O. Suárez-Alvarez<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>UOCCB-ANLIS;

<sup>2</sup>Departamento Micología INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”.

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

## Introducción

La larva de la “polilla de la cera” (*Galleria mellonella*), ha sido utilizada para reproducir infecciones causadas por hongos de importancia médica como *Cryptococcus* sp., *Aspergillus* spp. y *Candida* spp., entre otros. El modelo invertebrado ha sido poco explorado para evaluar la infección por hongos dimórficos como *Histoplasma capsulatum* (Hc) y *Coccidioides posadasii* (Cp), causantes de micosis sistémicas. Estos hongos ingresan al tracto respiratorio del hospedero susceptible cambiando de forma como primer factor de virulencia: de micelio a levadura en el caso de Hc y de micelio a esférula en Cp.

## Objetivo

Evaluar la potencialidad de *G. mellonella* para estudiar las primeras fases de infección por Hc y Cp.

## Materiales y métodos

Microorganismos: Se utilizaron cepas de Hc y Cp depositadas en una Colección de Cultivos.

Larvas: para cada patógeno fúngico se utilizó un lote de 95 larvas. Cada lote se separó en 5 grupos con 15 larvas cada uno, que se inocularon con 10 $\mu$ l de 2x10<sup>6</sup> cél/mL (células de la fase infectiva de cada especie fúngica). Se utilizaron 2 grupos control de 10 larvas: uno inoculado con 10 $\mu$ L de solución fisiológica estéril y el otro intacto.

Todos los lotes se mantuvieron a 37°C; oscuridad total; 40-50% de humedad y alimento ad libitum.

Seguimiento de la infección: tres larvas de cada grupo fueron procesadas desde las 6h para Hc; a las 24, 48, 72, 96h para Hc y Cp, y hasta 120h para Cp.

De la hemolinfa de dos de las tres larvas de cada tiempo, se realizaron: (a) extendidos para coloración de May-Grünwald-Giemsa (MGG); (b) fresco con KOH 20%, (c) extracción de ADN para PCR y (d) cultivo en BHI y ASCC. La tercera larva fue fijada en glutaraldehído 4%, se realizaron cortes histológicos y se buscó el hongo inoculado con técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) utilizando anticuerpos específicos anti-Hc o anti-Cp.

PCR anidada. Se extrajo el ADN total y se utilizaron los primers que detectan un fragmento del gen HcP100 específico de Hc y un fragmento del gen Ag2PRA específico de Cp.

## Resultados

Lote con Hc: En las coloraciones con MGG y en los cortes histológicos revelados con IHQ se observaron hemocitos (células de la linfa de las larvas) con levaduras intracelulares compatibles con Hc desde las 6 y hasta las 96h. En este mismo rango de tiempo, también se detectó ADN fúngico. El hongo se aisló, en cultivos puros, entre los 7 y 15 días a 28°C en todos los tiempos analizados.

Lote con Cp: En fresco con KOH 20% y en los cortes histológicos con IHQ se observaron: a las 24 y 48h fragmentos hifales y arthroconidios de Cp, y a partir de las 96h arthroconidios redondeados y esférulas en diferentes fases de formación. Se detectó ADN fúngico desde las 24 y hasta las 120h y el hongo se aisló en cultivos puros en todos los tiempos analizados a los 7 días a 28°C.

En los grupos control no se observaron microorganismos por ningún procedimiento, no hubo desarrollo microbiano en los medios a 28°C hasta los 30 días y no se detectó ADN fúngico por PCR.

## Conclusiones

El modelo invertebrado *G. mellonella*, mostró ser útil para estudiar los primeros pasos en la infección por Hc y Cp, ya que se observó el dimorfismo característico de cada uno de éstos patógenos en tiempos similares a los observados en mamíferos: levaduras intracelulares compatibles con Hc desde las 6h y esférulas de Cp desde las 72h.

**Palabras clave:** *Galleria mellonella*, dimorfismo

### 3. Micosis endémicas

## Especies filogenéticas de *Histoplasma capsulatum* circulantes en Argentina

**Ibarra-Camou B., López-Joffre M.C., Toranzo A.I., Salas D.H., Davel G., Refojo N., Canteros C.E.**  
Departamento Micología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas “Dr. Carlos G. Malbrán”- ANLIS. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

### Introducción

*Histoplasma capsulatum*, agente etiológico de histoplasmosis, es considerada una especie críptica formada por 7 especies filogenéticas [Norte América 1 (NAM 1); Norte América 2 (NAM 2); Latinoamérica A (LAM A); Latinoamérica B (LAM B); Australia; Holanda y Africa] y un clado (Eurasia). Estas especies filogenéticas fueron descritas con base en secuencias parciales de cuatro genes (Arf, Ole 1, Tub1 y H-anti) y se asocian al origen geográfico y/o fuente de infección. Estudios previos indican que la mayoría de las cepas circulantes en Argentina son LAM B.

### Objetivo

Vigilar las especies filogenéticas de *H. capsulatum* circulantes en diferentes regiones geográficas de Argentina.

### Materiales y Métodos

Se analizó el ADN de 46 cepas provenientes de pacientes de diferentes regiones geográficas de Argentina (cepas AR) y dos cepas de referencia: Downs (ATCC38904) prototipo de NAM 1 y G186B (ATCC26030) que representa un linaje de Panamá.

Se utilizaron dos técnicas para el análisis; un RAPD-PCR con primers 1281-1283 y la secuenciación de los genes Tub 1, Arf, Ole y H-anti.

Los patrones de RAPD-PCR se analizaron con el programa Biolomic y las secuencias se analizaron por agrupamiento múltiple. En el análisis de secuencia se agregaron las de las cepas H59 y H68 (LAM B), H61 (LAM A), H11 (NAM 2), H91 (África) y H176 (Holanda), todas depositadas en GenBank. Se construyeron los árboles filogenéticos con Neighbor Joining en el programa MEGA v6.0.

### Resultados

El RAPD-PCR permitió reconocer un patrón predominante y característico en 33 cepas AR (Patrón-AR), mientras que las 13 restantes presentaron perfiles diferentes del perfil predominante (Patrón-NoAR). El árbol de consenso originado a partir del análisis de las secuencias de los genes Tub, Arf, Ole y H-anti, agrupó las 33 cepas Patrón-AR en el clado LAM B con una relación clonal, confirmando lo observado en el RAPD-PCR. Dos cepas que tuvieron un Patrón-NoAR por RAPD-PCR fueron identificadas: una como Lam B, y la restante (073069 de Neuquén) si bien agrupó con las cepas LamB, no tuvo una relación clonal con el grupo.

Ocho cepas Patrón-NoAR agruparon como Lam A en un clado independiente; 6 de éstas provenían de pacientes del NOA, 5 de ellos de Tucumán y una de Jujuy, llamativamente fueron aisladas de SNC. Otras tres cepas AR con Patrón-NoAR agruparon con la progenie de Panamá, una de estas cepas fue aislada de un brote de histoplasmosis ocurrido en la Patagonia Argentina en 2002.

### Conclusiones

Los resultados sugieren que el RAPD-PCR tiene potencial como método de “screening” para reconocer genotipos o especies filogenéticas diferentes de LAM B (genotipo predominante en el cono Sur). La ventaja del RAPD-PCR es la rapidez y el bajo costo, sin embargo, para identificar la especie filogenética es necesaria la secuenciación génica. La presencia de un clado de cepas con alta similitud genética provenientes de pacientes del NOA, sugiere que estas cepas podrían provenir de una fuente común de infección y son un genotipo característico de la región geográfica con tropismo por SNC. Otros estudios son necesarios para confirmar estos hallazgos.

**Palabras claves:** *Histoplasma capsulatum*, RAPD-PCR, secuenciación, especies crípticas.

### 3. Micosis endémicas

## Perforación intestinal por Histoplasmosis en una persona con infección VIH/Sida

**CASTRO VARGAS, Juan Carlos, BONIFACIO MORALES, Nilo, CASTAÑEDA NÚÑEZ, María Luisa.**

Servicio de Infectología, Hospital Nacional, “Daniel A Carrión” - Callao, Perú

### 3. Micosis endêmicas

## Micose de implantação. Relato de Caso.

**Oliveira, C S.; Oliveira, C. S; Garbin, G; Gerhardt, J. Clarindo, M.V.; Moraes, C.F.**

### **Introdução**

As micoses subcutâneas são produzidas por diversas espécies de fungos que invadem a derme e/ou hipoderme e órgãos internos, com reação inflamatória habitualmente verrucosa. O seguinte relato expõe um caso típico de micose subcutânea, padrão verrucoso, em um trabalhador rural do sul do Brasil.

Resumo clínico: Paciente masculino, 53 anos, agricultor, branco, foi encaminhado ao Hospital Universitário do Oeste do Paraná em Agosto de 2015. Referia que há três meses, durante o trabalho na lavoura sofreu trauma por espinho em dedo médio de mão esquerda. Após quinze dias evolui com supuração local e em dois meses fistulização com secreção purulenta e formação de úlcera de difícil cicatrização. No mesmo período evolutivo apresentou nodulações subcutâneas, dolorosas, eritematosas, não pruriginosas de evolução ascendente em membro superior esquerdo e posteriormente membro superior direito, membros inferiores, tronco e dorso. Negava demais queixas, etilismo ou tabagismo. Referia ter realizado vários tratamentos com Ceftriaxona, Clindamicina, Sulfametoxazol-trimetoprim e Cefalexina sem sucesso. Ao exame físico, exibiam nodulações eritemato-arroxeadas em trajeto linfático em formação de rosário pelo membro superior esquerdo, dolorosas, algumas apresentando fistulização cutânea com secreção de purulenta, sem linfonodomegalias. Realizou-se a coleta de material para biópsia e cultura e iniciou-se tratamento com Itraconazol 200mg ao dia. O paciente retornou após um mês com melhora clínica importante, mantendo exames laboratoriais normais.

### **Exames complementares**

Hemograma normal. Aspirado de lesão evidenciando hifas hialinas septadas artroconidiadas com cultura em andamento. Exame histopatológico demonstrou um processo inflamatório crônico granulomatoso com granulomas tipo epitelióide sem necrose caseosa com microabscessos neutrofílicos. sugestivo de esporotricose ou cromoblastomicose.

### **Discussão e diagnóstico diferencial**

A esporotricose é uma doença crônica que afeta principalmente a pele causada pelo fungo dimorfo *Sporothrix schenckii* que habita o solo e penetra na pele através de solução de continuidade, em geral por traumatismo local. A forma mais comum é a cutâneo-linfática com lesões papulo-nodulares. Tipicamente a partir da lesão inicial surge um cordão de linfangite ao longo do qual encontram-se os nódulos, que podem se ulcerar, com aspecto comparável a um rosário. Em geral não há enfartamento de linfonodos regionais. O diagnóstico, comumente, baseia-se no exame micológico direto demonstrando elementos fúngicos “em charuto”, biópsia histopatológica com processo granulomatoso e corpos asteroides e cultura em ágar Sabouraud com crescimento de hifas finas, septadas com conídeos em cachos que a 37°C tornam-se leveduriformes. O tratamento padrão é feito com Itraconazol de 100 a 400mg por dia até cura clínica da lesão. O relato apresentado enquadra-se em um caso típico de esporotricose. Porém, a apresentação verrucosa impõe o diagnóstico diferencial com leishmaniose, cromoblastomicose e tuberculose e carcinoma espinocelular.

### **Conclusões**

Micoses subcutâneas são passíveis de acometimento sistêmico, seu diagnóstico precoce e tratamento adequado são essenciais para redução da morbidade associada a essas dermatoses.

### **Tabelas:**

**Palavras-chave:** micose profunda, micose subcutânea, esporotricose.

### 3. Micosis endémicas

# Adenopatías generalizadas en un varón infectado con VIH/SIDA

**Martínez L L. Lafont L L. Cruz K.**

Pontificia Universidad Católica Argentina. Buenos Aires, CABA

#### **Introducción**

La Histoplasmosis constituye la segunda micosis sistémica en orden de frecuencia en Argentina, después de Criptococosis, en pacientes HIV positivos. En éstos, la forma clínica diseminada progresiva es marcadora de sida. La coinfección HIV-histoplasmosis diseminada ha sido reportada entre 5,3 y 6 %.

El objetivo es exponer un evento de la práctica clínica que permite demostrar la diversidad de entidades sugestivas de este cuadro, resaltar la importancia de la consecución del agente causal en dilucidar con celeridad el caso, y también exaltar la oportunidad diagnóstica favoreciendo la evolución y pronóstico del paciente.

#### **Resumen clínico**

Se trata de un paciente masculino de 45 años nacido en corrientes, nordeste argentino; extabaquista, heterosexual, hepatitis A en la infancia, infección por VIH en año 2000, debutó con tuberculosis diseminada tratada por 18 meses con controles negativos, se desempeñó su juventud como empleado de circo con incursiones múltiples y repetidas en norte, centro y sur américa, las condiciones de su domicilio con luz eléctrica y manejo de excretas por cloaca, poseedor de 1 perro, 1 gato, convivía con tosedores crónicos, sin historial de adicciones, abandono de Terapia Antiretroviral de Gran Actividad (TAR-GA) hace aproximadamente hace 8 años, neumonía de la comunidad sin aislamiento de germen en 2010. Consultó por cuadro de aprox. 9 meses dados por astenia, adinamia, Mughet positivo, tos intermitente y diaforesis episódica nocturna, pérdida de aprox. 29 Kg, adenomegalias bilaterales cervicales anteriores, posteriores, pre y retroauriculares, occipitales no dolorosas sin rubor o calor y una úlcera en cara lateral izquierda de lengua y una lesión perianal elevada en placa con estigmas de prurito. Evaluado inicialmente en consultorios externos en otro centro, documentando laboratorio con elevación de FAL, ecografía abdominal sin visceromegalias, adenomegalias retroperitoneales, Rx de tórax de buena calidad, sin imagen sugestiva de lesión cavitada o nódulo pulmonar, no sugería neumopatía. Se indicó Fluconazol oral por lesiones mucosas, sin mejora clínica; por lo cual consultó.

#### **Exámenes complementarios**

Leucocitos 5.9 u/l, Creatinina 0.7 mg/dl, GOT 56 UI/l, GPT 99 UI/l, FAL 153, LTCD4+: 6 cel/mm<sup>3</sup> (1%), hemocultivos bacteriológico y BAAR (-), micológico (+) a Histoplasma capsulatum; Lavado Bronquio Alveolar (BAL) cultivos para hongos, BAAR y parásitos(-), HCV -, HBV-, serologías para Toxoplasmosis (+)1/64, Chagas, VDRL e histoplasmina (-), Rx tórax; normal, ecografía abdominal: sin visceromegalias, adenopatías retroperitoneales. Histopatología de escarificación de úlcera lingual: estructuras compatibles con "Histoplasma capsulatum", histopatología de escarificación de úlcera perianal no concluyente.

#### **Discusión y diagnósticos diferenciales**

Los síndromes adenomegálicos sub agudos o crónicos están vinculados a etiologías infecciosas o no e inespecíficas (30-60%). Se ha vinculado el uso de fármacos en este tipo de cuadros también ( $\beta$ -lactámicos, pirimetamina, minociclina entre otros). Hace parte de las micosis sistémicas endémicas, por hongos bifásicos con actividad en áreas geográficas determinadas y tropismo por el sistema reticuloendotelial.

#### **Conclusiones**

En el contexto de un paciente con inmunocompromiso y cuadro clínico crónico; el juicio clínico obliga agotar la batería de estudios diagnósticos que garanticen la celeridad diagnóstica y resolución del cuadro. Síntomas de orden inespecífico, como los citados por nuestro paciente; nos dispersan entre sintomatología B, tuberculosis diseminada, reactivación de tuberculosis, infección viral, bacteriana o micótica oportunista, evolución de enfermedad de base; entre otras. H. capsulatum es un hongo dimorfo, su reservorio habitual son terrenos con materia orgánica (heces de pájaros y murciélagos).

La Histoplasmosis en su forma diseminada, hace parte de las micosis sistémicas endémicas, son enfermedades debidas a hongos bifásicos que tienen su hábitat natural en áreas geográficas determinadas. Infechan en la mayoría de los casos por vía inhalatoria. No se transmite persona a persona y la mayor parte de las primoinfecciones son asintomáticas.

Está ampliamente documentado su tropismo por el sistema reticuloendotelial.

El tratamiento de elección en la infección pulmonar o diseminada grave es la anfotericina B en formulación lipídica 3 mg/Kg día, mientras el paciente requiera hospitalización, seguido de Itraconazol 400mg vía oral día por 6 a 18 meses. El Ketoconazol no es eficaz en pacientes con SIDA. En este caso se instauró tratamiento anfotericina B desoxicolato logrando remisión de las adenopatías cervicales e inguinales, remisión de la lesión mucosa lingual y mejora de la lesión perianal. Intercurrió con ligero deterioro de la función renal (dosis acumulada de anfotericina B a la fecha: 620 mg totales) por lo cual se rotó a Itraconazol 400 mg vía oral día en 2 dosis logrando remisión absoluta de las lesiones y mejora clínica y paraclínica.

**PARACLÍNICO**

CD8 conteo absoluto-porcentaje,  
 CD4 conteo absoluto-porcentaje,  
 rel. CD4/CD8

Escarificación mucosa lingual Giemsa,  
 Campo oscuro  
 Escarificación cutáneo mucosa perianal

Serologías *H. capsulatum*  
 Espudo seriado por 3  
 Toxinas *C. difficile*  
 Monotest

Coprocultivo,

Directo y seriado materia fecal (3 muestras)  
 Kinyoun

BAL (Gram Ziehl Nielsen, cultivos)

**INFORME**

349 cel/ul (67%),  
 6 cel/ul (1.0%),  
 0.01

Compatible levaduras *Histoplasma capsulatum*,  
 Sin islotes virales o espiroquetas, No BAAR, ZN (-)  
 Inflamación inespecífica

Negativa  
 No BAAR  
 Negativas  
 Negativo

No parásitos, no se aisló *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Aeromonas* spp, *Vibrio* spp, *E. coli*  
 Leucocitos escasa cantidad  
 Negativo

Árbol sin lesión, no BAAR, no se observan parásitos o crecimiento bacteriano, Kinyoun negativo

**Palabras claves:** Criptococosis, Histoplasmosis diseminada, Terapia Antiretroviral de Gran Actividad, Lavado Bronquio Alveolar (BAL), histoplasmina, Kinyoun.

# **4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos**

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Síndrome hemofagocítica associada à histoplasmose como primeira manifestação de síndrome da imunodeficiência adquirida-AIDS

**Carolina Toniolo Zenatti, Adriana Paulino da Silva - Silva, Ana Helena Figueiredo, Giovanna Baptista Sapienza, Roberto Muniz Junior, Taiana Cunha Ribeiro, Walton Del Tadesco Junior, Jaques Sztajnbo**

### INTRODUÇÃO

A Síndrome hemofagocítica (SH) é uma condição rara caracterizada pela estimulação exacerbada e ineficiente do sistema imune. Essa ativação acontece pela proliferação exagerada de linfócitos e macrófagos com consequente aumento da secreção de citocinas inflamatórias. É classificada em primária (desordens genéticas) ou secundária. A histoplasmose, causada pelo fungo *Histoplasma capsulatum*, é uma das infecções capazes de desencadear a SH. Por meio da inalação de esporos, acomete principalmente indivíduos com imunodeficiência celular como, por exemplo, pacientes infectados pelo vírus HIV. Descrevemos o caso de um paciente com diagnóstico recente de HIV que teve como primeira manifestação de AIDS a SH associada à histoplasmose.

### RELATO DE CASO

Homem, 47 anos, diagnóstico recente de HIV, sem terapia antirretroviral, contagem de células T CD4 de 9 cel/mm<sup>3</sup>, carga viral 7986130 cópias/mL com quadro de febre diária (39°C), sudorese noturna e emagrecimento há 1 mês. À admissão, apresentava febre, hepatoesplenomegalia, insuficiência respiratória e instabilidade hemodinâmica. Exames laboratoriais: Ur=54mmol/L, Cr=1,78mg/dL, DHL=5987U/L, PlaQ=30mil/mm<sup>3</sup>, Leuco= 800 cel/mm<sup>3</sup>, Hb=9,0g/dL, TG=318mg/dL, GGT=584U/L, FA=969U/L, AST=595U/L, ALT=235 U/L, PCR=181mg/L, ferritina maior que 1 milhão, PCR para CMV= 247cópias/mL. Demais exames sem alteração. O paciente foi internado em UTI, submetido à ventilação mecânica e uso de droga vasoativa. Pela hipótese de SH e pela gravidade do caso, foi instituída terapia empírica para os possíveis agentes causais (bactérias, micobactérias atípicas, citomegalovírus e histoplasmose), além de terapia antirretroviral de alta potência e pulsoterapia com corticoide para controle da hiperativação imune. Paciente evoluiu com melhora clínica, além de normalização dos exames laboratoriais dentro de 15 dias. Resultados finais da investigação inicial confirmaram histoplasmose (sorologia 1:64, imunoblotting reagente).

### CONCLUSÃO

O paciente foi investigado para SH devido a quadro arrastado, associado à pancitopenia, febre e hepatoesplenomegalia. Pela associação epidemiológica, o tratamento empírico inicial para os principais agentes causais foi iniciado. Acreditamos que pacientes com apresentação semelhante devem ser considerados para a possibilidade de SH e infecções associadas (CMV, EBV, HHV8, micobactérias, histoplasmose). O tratamento empírico precoce anti-infeccioso associado à imunomodulação podem ter sido determinantes para o desfecho favorável neste caso.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Enfermedad fúngica invasiva en pacientes lúpicos: experiencia en un Hospital Público de la Ciudad de La Plata

**Esposito A. García M. Marcos J. Ferrer F. Rocchia Rossi I. Yantorno M. Aguilera K. de la Parra G.**

### **Introducción**

Las infecciones son eventos frecuentes en los pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES), muchas de ellas producidas por gérmenes oportunistas, que conllevan una elevada mortalidad. Sin embargo los reportes de infecciones fúngicas en los pacientes con LES son escasos en la literatura.

### **Objetivo**

El objetivo de este trabajo fue describir la enfermedad fúngica invasiva (EFI) ocurrida en pacientes con LES asistidos en un hospital general de agudos.

### **Métodos**

Se realizó un estudio retrospectivo y observacional de los episodios de EFI ocurridos en pacientes lúpicos mayores de 18 años atendidos en el Hospital Interzonal General de Agudos "General San Martín" de la ciudad de La Plata, Argentina. Los datos fueron obtenidos de historias clínicas de pacientes atendidos desde el 1 de enero de 1993 al 1 de julio de 2013.

Se incluyeron solo las EFI probadas. Se analizaron las variables demográficas, clínicas, microbiológicas y bioquímicas al momento del episodio infeccioso.

Se aplicó el test exacto de Fisher en el análisis individual y *Milp* para cálculo de diferencia de riesgos. Se consideró significativa una  $p < 0.05$ .

### **Resultados**

EFI probada en 20 pacientes de 270 lúpicos (7,4%). Relación mujer varón 4:1. Edad promedio: 38 años (+13). Mediana de tiempo de evolución de LES desde el diagnóstico de su enfermedad hasta el episodio: 64 meses (1-264 meses). 55% (11/20) presentaron actividad severa de la enfermedad (SLEDAI > 10) al momento de cursar la infección; nefropatía lúpica: 75% (15/20), neutropenia: 45% (9/20); hipocomplementemia 60% (12/20). Internación UCI: 50% (10/20). Dosis media de meprednisona: 44 mg/día +/- 28. Pulsos de metilprednisolona: 55% (11/20) y ciclofosfamida: 35% (7/20). Azatioprina oral 30% (6/20). Presentación clínica: funguemia primaria: 5 (25%), meningitis: 5 (25%), EFI diseminada: 4 (20 %), infección respiratoria baja: 2 (10 %), bacteriemia asociada a catéter: 2 (10 %), infección abdominal: 1 (5%), infección de partes blandas: 1 (5%). Aislamientos: *Candida* spp: 7 (35%); *C. neoformans*: 7 (35%); *Aspergillus* spp: 2 (10 %); *H. capsulatum*: 2 (10 %); *P. jirovecii* 1 (5%); *H. capsulatum/Alternaria* spp (infección mixta): 1 (5 %). Hemocultivos positivos: 12/20 (60%), *Candida* spp: 7, *C. neoformans*: 2, *H. capsulatum*: 1, *Alternaria* spp: 1 y *Aspergillus* spp: 1. Óbito: 60% (12/20). Mortalidad atribuible directamente al proceso infeccioso: 50% (10/20). En el análisis individual se encontró que el tiempo de evolución del LES menor a 10 años se asoció significativamente a la mortalidad ( $p=0,009$ ). No se hallaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a los sobrevivientes de los episodios.

### **Conclusión**

Las EFI en los pacientes lúpicos presentados en nuestra serie se produjeron en individuos profundamente inmunosuprimidos. *Cryptococcus neoformans* y *Candida* spp fueron los patógenos prevalentes siendo la meningitis y la funguemia primaria las formas de presentación clínica más frecuentes. La infección fúngica contribuyó a la muerte en la mitad de los pacientes asociado estadísticamente a una evolución del LES menor de 10 años.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Anfotericina B + rifampicina: eficacia en un caso de criptococosis meníngea en paciente HIV+

**Godoy E1; Iannantuono M1; Hojman M1; Córdoba S2.**

1. Clínica de los Virreyes, CABA, Buenos Aires, Argentina
2. INEI "Dr. C. Malbrán", CABA, Buenos Aires, Argentina

### Introducción

La meningitis criptocócica es una infección grave en pacientes con SIDA.

El tratamiento de primera línea y sus alternativas están definidos en la literatura. Sin embargo, los métodos diagnósticos y la utilidad de las pruebas de sensibilidad para adecuar el tratamiento ante la recaída o el fallo, son aún objeto de discusión.

### Resumen clínico

Mujer de 64 años, ingresada de otro centro, diagnóstico reciente de SIDA y criptococosis meníngea con 26 días de tratamiento con anfotericina B (AB) Ingresada en regular estado general, afebril, vigil, desorientada, con paraparesia leve en miembros inferiores, sensibilidad conservada. Sin signos meníngeos.

Laboratorio: anemia (Hto 26 % Hb 8) leucopenia (GB 2440 C/mm<sup>3</sup>). CD4 13 cel/mm<sup>3</sup>, carga viral VIH-1 1440000 cop./mm<sup>3</sup>. Por sospecha de síndrome medular y control evolutivo de la criptococosis se solicita: LCR: citofísico químico normal, levaduras capsuladas, antígenorraquia 1/1024 y cultivo *Cryptococcus neoformans*. Resto de cultivos, VDRL y PCR virales negativos.

Fondo de ojo, tomografía de encéfalo contrastada, RMN columna y encéfalo sin hallazgos patológicos.

EMG: polineuropatía mixta severa axonodermielinizante, probable causa infecciosa.

Biopsia de médula ósea: cambios reactivos, tinciones y cultivos negativos. Carga viral para CMV 4250 cop./mm<sup>3</sup> y PCR en médula ósea detectable, cumple 21 días con ganciclovir por CMV diseminado.

A las dos semanas, punción lumbar control, citofísico químico normal, tinta china positiva con cultivo *C. neoformans*. Antígenorraquia 1/512. Se solicita determinación de la CIM para AB, flucitosina (FC), fluconazol (FZ), itraconazol (IZ), voriconazol (VZ) y posaconazol (PZ), y curvas de letalidad para evaluar interacción de AB+VZ, AB+FZ, AB+FC y AB+Rifampicina (RIF). En forma empírica se agrega al tratamiento FZ a la espera de resultados de sensibilidad.

### Resultados

La CIM en mg/L fue: AB 0,13; VZ 0,03; IZ y PZ 0,015; FZ y FC 4.

**Curvas de letalidad:** solo la combinación AB+RIF y AB+FC mostró inhibición completa del desarrollo de *C. neoformans* luego de 12 h y 48 h de incubación respectivamente; la AB en solo y las restantes combinaciones no mostraron actividad fungicida a las 48 h de incubación.

Se decide tratamiento con AB+RIF con mejoría clínica y esterilización del LCR luego de dos semanas. Inicia tratamiento antirretroviral y completa tratamiento 10 semanas. Queda con profilaxis secundaria con FZ. A los 18 meses no presentó recaídas.

### Conclusión

El fallo clínico con tratamientos convencionales de la criptococosis meníngea refuerza la necesidad de conocer en el laboratorio el perfil de sensibilidad del microorganismo.

En este caso, los resultados de las curvas de letalidad mostraron sinergia in vitro de AB+RIF y fueron útiles para la elección del tratamiento más eficaz acompañado con mejoría clínica y cultivo de LCR negativo. Son necesarios más estudios para confirmar a la RIF como parte de la terapia combinada para la criptococosis meníngea refractaria al tratamiento

**Palabras claves:** *Cryptococcus* - Anfotericina - Rifampicina

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

# Infecciones fúngicas invasivas (ifi) por hongos filamentosos en pacientes oncohematológicos: Nuestra experiencia en la última década

**María Victoria Pinoni\*<sup>1</sup>, Rosana Jordan<sup>1</sup>, Patricia Giorgio<sup>1</sup>, Sergio Verbanaz<sup>1</sup>, Jorge Martínez<sup>1</sup>, Iris Agorio<sup>1</sup>, Agustina Forastiero<sup>1</sup>, Jorge Thierer<sup>2</sup>, Ernesto Efron<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> HOSPITAL BRITANICO.

<sup>2</sup> Consultor externo, CABA, Argentina

### **Introducción**

Las IFI se asocian a elevada morbimortalidad en pacientes oncohematológicos (OH). El riesgo de IFI depende de la enfermedad de base y la profundidad de la inmunosupresión. El conocimiento de los antecedentes del paciente y la epidemiología local, y la utilización de herramientas diagnósticas, preventivas y terapéuticas eficientes, pueden ser responsables de la disminución de la letalidad atribuible a las IFI documentada en los últimos años.

Objetivo: Describir los aspectos demográficos, microbiológicos y clínicos de pacientes OH con IFI y analizar factores de riesgo independientes de mortalidad, en un período de 10 años desde la introducción sistemática de galactomanan (GM) y TAC para el diagnóstico de IFI, utilizando anti fúngicos más eficaces para profilaxis y tratamiento, y midiendo los niveles en sangre de los mismos.

### **Materiales y Métodos**

Se analizaron los casos de IFI diagnosticados y documentados en período enero 2004-diciembre 2014. Se analizaron variables demográficas, enfermedad hematológica, tipo de trasplante de progenitores hematopoyéticos (TCHP), neutropenia al diagnóstico de IFI, profilaxis antifúngica, GM (sangre y/o BAL), cultivos, anatomía patológica, TAC, tratamiento antifúngico, respuesta al tratamiento, mortalidad global y atribuible. Se analizó con test de Pearson, corrección de Fisher para variables categóricas y Mann Whitney para continuas y regresión logística múltiple para definir los predictores independientes de eventos.

### **Resultados**

48 episodios de IFI: 20 probadas y 28 probables. Con una edad media de 51 años. Se incluyeron 24 LMA y 13 TCHP. El 73% de los pacientes estaban neutropénicos, el 68.6% recibían profilaxis antifúngica. 33 casos fueron IFI localizada y la mediana de tratamiento antifúngico fue de 67 días. La mortalidad global fue del 50% y la atribuible del 17%. En el análisis comparativo, las variables de riesgo con diferencia estadísticamente significativa para muerte fueron enfermedad no controlada (p 0.02), tratamiento combinado (p 0.04) e IFI sistémica (p 0.03).

En el análisis multivariado con selección escalonada (stepwise forward y backward) la única variable independientemente vinculada con muerte fue: Enfermedad no controlada (OR: 5.9; IC95%:1.3-25.2; p:0.01).

### **Conclusiones**

En nuestra serie LMA fue la enfermedad de base más frecuente, y la mayoría de los pacientes tenían enfermedad no controlada y neutropenia. Aproximadamente dos tercios de los hallazgos microbiológicos correspondieron a *Aspergillus* spp., y tres cuartas partes de los pacientes recibieron Voriconazol como tratamiento. La mitad de los pacientes presentó respuesta al tratamiento a las 12 semanas con una mortalidad atribuible del 17%; esta tasa es significativamente inferior a las descritas en series publicadas en décadas pasadas. El único factor de riesgo independiente de mortalidad en nuestra serie, fue la enfermedad oncohematológica no controlada.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Cerebral Aspergillosis : Report of 2 cases with favorable response to voriconazole and neurosurgery

**Queiroz-Telles F., Mialski R., Magalhães FB., Queiroz-Telles JE. , Morales H., Graf ME., Gonsalves SS. , Oliveira CS. and Colombo A.**

### ***Introduction and Objectives***

Central nervous system aspergillosis (CNSA) is an often fatal disease that usually affects immunosuppressed patients. We report two cases of proved CNSA in immunocompromised and immunocompetent patients with favorable response to voriconazole (VCZ).

### ***Case Report***

**Case 1.** Caucasian 26 years old female, recently diagnosed with autoimmune hepatitis, taking azathioprine (50mg/day) and prednisone (60mg/day) with drowsiness, mental confusion, hemiplegia, upper right limb spasticity and positive Babinski reflex on right. Neuroimaging were compatible with expansive hypodense lesions with perilesional edema requiring decompressive craniectomy. The freezing biopsy was compatible with hyalohyphomycosis and culture revealed *Aspergillus flavus*. The patient received VCZ (400 mg/day) for 60 days and underwent abscess drainage with good clinical evolution but with physical sequelae.

**Case 2.** A Caucasian 67 years old male, farmer, previously healthy, presented with daily excruciating headache evolving with palpebral ptosis and mydriasis on right. Neuroimaging were consistent with expansive lesion on the right sphenoid region. Microsurgery was performed with partial resection of the lesion and revealed an invasion of the cavernous sinus and right orbit, encompassing carotid with mass effect. Histopathology was consistent with cerebral hyalohyphomycosis but culture depicted *A. fumigatus*. Chest and face sinus images did not show abnormalities. The Galactomannan antigen detection (GM) in serum and CSF was 0.246, 0.544 respectively. He was treated with VCZ (400 mg/day for 62 days with good clinical and neuroimaging responses. The GM index decreased in the CSF (0.201 and 0.173) at 40 and 60 days, respectively.

### ***Conclusions***

Although CNSA is disease for most of the affected patients, our patients survived after neurosurgery procedures associated to VCZ therapy. Because VCZ is the smallest molecule (349 Da) with activity against *Aspergillus* spp, this compound presents sufficient penetration across the blood-brain-barrier to attain fungicidal activity in the CNS. The determination of seriated GM in the CNF was helpful to evaluate therapy in our second patient.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Infección fúngica invasiva Rino-Sinusal en pacientes Onco-Hematológicos

**Margari, A; Guelfand, L; Bravo, M; Pidone, J; Pujato, N.**

### **INTRODUCCIÓN**

Las Infecciones Fúngicas Invasivas (IFI) son causa importante de morbi-mortalidad en pacientes inmunocomprometidos. Esto implica desafío diagnóstico y terapéutico. La presentación rino-sinusal (RS) aguda es la más frecuente. Su gravedad radica en la posibilidad de invasión de estructuras vecinas vitales como el cerebro. Se presentan tres casos IFI con compromiso (RS) en pacientes onco-hematológicos. Los diferentes microorganismos aislados ponen de manifiesto la heterogeneidad de ésta entidad y su dificultad en el diagnóstico de certeza, que resulta fundamental para el correcto el tratamiento.

### **CASO 1**

Paciente masculino 27 años, con LMA M4, ingresa no neutropénico con necrosis RS + imágenes pseudonodulares pulmonares y derrame pleural. Inició anfotericina B liposomal (AnfL) y antibacterianos. Se realizó escarificación: en el fresco y tinción con blanco de calcofluor, se observaron filamentos ramificados, gruesos y cenocíticos compatibles con mucorales y creció en cultivo: *Rizhopus* spp. Se efectuó limpieza quirúrgica con desarrollo del mismo hongo, confirmado por histopatología. Buena evolución con sucesivas limpiezas quirúrgicas. Los cultivos micológicos posteriores fueron negativos. Se realizó terapia coadyuvante con cámara hiperbárica; completó 45 días de AnfL y continuó con posaconazol (POS). TAC de tórax control con resolución de las imágenes pulmonares. Actualmente en profilaxis secundaria con POS, en plan de reconstrucción facial.

### **CASO 2**

Paciente femenina 50 años, con LMA. Ingresó por neutropenia febril. Recibió tratamiento antibiótico por infección respiratoria e inició quimioterapia (QT).

La TAC de tórax y senos paranasales (PN) evidenció sinusitis etmoidal y maxilar derecha + consolidación nodular a nivel pulmonar. Se realizó cirugía endoscópica RS con lavado de senos PN + sinusotomía maxilar derecha con desarrollo de *Fusarium* spp. Se confirmó con histopatología. Inició voriconazol (VOR), con buena evolución. Actualmente con recaída de enfermedad, continúa con QT y VOR.

### **CASO 3**

Paciente femenina 26 años, con LLA tipo B. Ingresó con neutropenia febril y enterocolitis con buena respuesta a los antibióticos. Evolucionó con ptosis palpebral de ojo izquierdo + edema bipalpebral y quemosis. Inició AnfL por sospecha de IFI. La RMN mostró edema y engrosamiento de tejido subcutáneo del párpado izquierdo (izq) con proptosis del globo ocular. Tuvo progresión de la celulitis con ocupación seno etmoidal y frontal izq. con refuerzo meníngeo. TAC de tórax: imagen nodular derecha con cavitación. Se realizó sinusotomía frontal izq. Examen directo de material: hifas tabicadas. Cultivo: *Alternaria* spp. Se agregó VOR, con buena evolución. Las imágenes de control evidenciaron cerebritis y absceso frontal izq. Se realizó drenaje estereotáxico. Anatomía Patológica: informa hifas. Requirió procedimientos quirúrgicos de drenaje. Sin desarrollo de elementos fúngicos en cultivos. Buena evolución. Completó 8 semanas antibióticos + AnfL+VOR. Luego continuó con VOR.

### **CONCLUSIÓN**

Las IFI constituyen un desafío diagnóstico y terapéutico. Es fundamental el correcto diagnóstico etiológico dada la escasa cantidad de opciones terapéuticas y lo onerosos que resultan los tratamientos. Es importante contar con un equipo multidisciplinario a la hora de tratar estos pacientes, para lograr buenos resultados.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Meningitis Criptocócica en una paciente con Lupus Eritematoso Sistémico

**Alvarez C<sup>1</sup>; Bianchi A<sup>2</sup>; Noblega LM<sup>1</sup>; Colombres MS<sup>1</sup>; Atjian MC<sup>1</sup>; Márquez NE<sup>1</sup>; Orellana NR<sup>1</sup>.**

1-Laboratorio de Salud Pública. División Micología. Mendoza 128. Tucumán. CP: 4000.

2- Centro de Salud Infantil Eva Perón. Misiones 1087. Santiago del Estero. CP: 4200.

### **Introducción**

Entre el 30-50% de la morbimortalidad de los pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES) es atribuida a infecciones, de estas el 3% afectan el Sistema Nervioso Central (SNC). Siendo la meningitis fúngica más frecuentes la Criptococosis e Histoplasmosis; y a menudo pueden producir complicaciones fatales si no son diagnosticadas. Resumen clínico: mujer de 20 años, con antecedente de LES y bajo tratamiento con prednisona (40 mg/día), consulta por cefalea intensa que no mejora con analgésicos. Al ingreso se constata desorientación temporo-espacial, excitación, variación de tensión arterial, temperatura corporal 36°C y palidez mucocutánea. Se solicitaron estudios por imágenes, de sangre y orina, hemocultivo, urocultivo y análisis microbiológicos de LCR. (Día 3) En el LCR se evidencio pleocitosis, hiperproteínorraquia e hipoglucorraquia y en la prueba de tinta china se observaron levaduras capsuladas compatibles con Criptococosis. (Día 6) Se aisló *Cryptococcus neoformans* de la misma muestra. Se inició tratamiento a partir del resultado positivo de la tinta china con Anfotericina B a 1 mg/kg/día y se mantuvo durante 3 semanas, con cultivos de LCR posteriores negativos, presentando buena evolución y la paciente fue dada de alta.

### **Exámenes complementarios**

En el hemograma se evidencio anemia microcítica hipocrómica, leucocitosis y neutrofilia. VSG:> 100 mm/hora. Los exámenes de química hématica fueron uremia: 1,76 g/L y creatinemia: 113 mg/dL. El análisis de orina fue normal. Los resultados para el hemocultivo, urocultivo y el cultivo bacteriológico del LCR, así como, los de los estudios virológicos del LCR fueron negativos. En el informe de la Tomografía axial computada se remarcó discreto aumento del volumen del sistema ventricular sin signos de trasudados peripendimario en cerebro.

### **Discusión y diagnósticos diferenciales**

Numerosos estudios han demostrado que la terapia corticoesteroidal incrementa la susceptibilidad a infecciones bacterianas, virales y fúngicas por sus efectos sobre la inmunidad celular. Por lo tanto, siempre es necesario realizar un diagnóstico diferencial de la meningitis del SNC por *C. neoformans*. Asimismo, las manifestaciones clínicas de la actividad lúpica del SNC (vasculitis) son inespecíficas. Dichas manifestaciones suelen atribuirse: al daño mediado por desregulación autoinmune, a las alteraciones metabólicas y a los medicamentos. Por lo que suelen confundirse con meningitis criptocócica. Por ello, en nuestra paciente se solicitó, (día 1), interconsulta con psiquiatría por probable psicosis lúpica y se mantuvo conducta expectante hasta el resultado positivo de la tinta china.

### **Conclusión**

Destacamos la importancia de informar sobre éste caso debido a la baja casuística encontrada en la bibliografía. Cabe destacar que, la prueba de tinta china (metodología sencilla y económica) permitió arribar a un rápido diagnóstico y tratamiento, lo cual evitó que el curso natural de la enfermedad produzca secuelas neurológicas severas o incluso la muerte.

**Palabras claves:** meningitis, *Cryptococcus*, LES

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Prototecososis en paciente con histoplasmosis y leucemia linfocítica de células T

**Fernández M<sup>1</sup>, Rojas F<sup>1</sup>, Cattana M.E<sup>1</sup>, Sosa M.Á<sup>1</sup>, Benzoni C<sup>2</sup>, Giusiano G<sup>1</sup>**

1 Instituto de Medicina Regional, U.N.N.E, Av. Las Heras 727, Resistencia, Argentina

2 Sanatorio Frangioli, Córdoba 198, Resistencia, Argentina

La prototecososis es una infección oportunista causada por algas aclorofílicas del género *Prototheca*, siendo *P. wickerhamii* la especie más frecuente. Presentamos el caso de una paciente con leucemia crónica y antecedente de histoplasmosis diseminada que en los últimos 5 años desarrolló diversos abscesos subcutáneos fríos.

### Resumen clínico

Mujer de 56 años, ama de casa, oriunda de Charata, Chaco, Argentina.

**06/2009.** La paciente refirió la aparición de un primer absceso en palma de mano derecha el cual desapareció sin tratamiento.

**06/2010.** Es internada por un cuadro de neumonía con mal estado general. Examen micológico directo y cultivo de esputo y sangre: *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*. Serología para histoplasmosis: positiva (1/8). Tratamiento inicial con anfotericina B (AMB) liposomal y luego itraconazol (ITC) 400 mg/día, 18 meses.

**02 y 11/2013.** Aparecen dos abscesos más. Primero en codo y después en palma de mano izquierda. Por ambos se atendió en otra institución. El primero se diagnosticó como bursitis del olecranon y la histopatología reveló granuloma inflamatorio con centro abscedado. La histopatología del segundo informó elementos compatibles con *Paracoccidioides brasiliensis*. No realizaron estudios microbiológicos ni serológicos ni tratamiento.

### Exámenes de laboratorio

Leucocitosis con linfocitosis y neutropenia. Se decide estudiar estado inmunológico por tipificación celular por citometría de flujo de sangre periférica e inmunohistoquímica en biopsia de médula ósea informó leucemia de grandes linfocitos granulares T.

**11/2014.** Aparece el cuarto absceso en el tobillo izquierdo. La paciente vuelve a nuestra institución. En el examen directo (fresco y Giemsa) de la punción se observó estructuras en forma de mórula, no gemantes, con endosporas, compatibles con *Prototheca* sp. En cultivo en Agar Sabouraud (48 hs) desarrolló *P. wickerhamii* identificada con API ID32C. La sensibilidad (microdilución en caldo, M27-A3 CLSI) resultó: fluconazol >64 µg/ml, voriconazol 1 µg/ml, ITC 2 µg/ml, AMB 0,5 µg/ml, terbinafina >16 µg/ml. Se trató con AMB deoxicolato 0,7 µg/Kg/día hasta completar los 3 gr, con mejoría clínica.

**02/2015.** La paciente es admitida en mal estado. Se decide su derivación por posible síndrome hemofagocítico. Tras una semana de internación en UTI, la paciente obitó.

### Exámenes complementarios

Serologías para VIH, hepatitis B y C: no reactivas, Artritest, Ac-antinucleocitoplasmáticos y Ac-antiDNA: negativos.

### Conclusiones

La recurrencia de abscesos cutáneos referidos por la paciente sugeriría una prototecososis de larga data. La enfermedad cutánea por *P. wickerhamii* ocurre principalmente en huéspedes con alteraciones en la inmunidad innata o celular; aquí la leucemia podría haber sido el factor predisponente.

La prototecososis no es una enfermedad de sospecha habitual. La ausencia de estudios microbiológicos y la dificultad diagnóstica de este microorganismo poco frecuente, que morfológicamente puede confundirse con otras micosis en las coloraciones habituales, fueron factores que demoraron el diagnóstico certero.

Poco se conoce sobre la sensibilidad de *Prototheca*. El aislamiento de esta paciente mostró altas CIMs in vitro frente a la mayoría de los antifúngicos probados excepto para la AMB, sin embargo, la respuesta terapéutica no fue exitosa.

**Palabras claves:** *Prototheca* sp., abscesos subcutáneos, anfotericina B

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

# Endocarditis infecciosa secundaria a *Aspergillus fumigatus* en paciente trasplantado renal. Reporte de un caso clínico.

**Dres. Prieto Jimena, Medina Julio Cesar, Iglesias Carolina, Frantchez Victoria, Tenaglia Karina, Orihuela Lucia, Nin Marcelo, Barloco Ana, Balleste Raquel.**

Hospital de Clinicas. Montevideo. Uruguay

### **Introducción**

*Aspergillus* spp es la segunda infección fúngica invasiva en frecuencia en pacientes trasplantados de órgano sólido (TOS); el compromiso endocárdico es una entidad poco frecuente de difícil diagnóstico y alta morbimortalidad.

### **Resumen clínico**

52 años, sexo masculino, nefropatía, fistula arterio-venosa (FAV) protésica de miembro superior izquierda (MSI), trasplante renal en año 2010.

Consulta por 20 días de evolución de disnea, tos con expectoración mucopurulenta y fiebre, se le indica antimicrobianos; ante la persistencia de la sintomatología reconsulta.

**Día 1:** Paciente lúcido, 22 rpm, saturación de oxígeno ventilando al aire 92%, soplo sistólico en foco aórtico 5/6.

Planteos diagnósticos: endocarditis infecciosa subaguda comunitaria en paciente inmunodeprimido portador de material protésico (FAV).

Planteos etiológicos: bacteriana inespecífica, más alejado fúngica (*Candida* spp, *Aspergillus* spp). Se inicia plan antimicrobiano en base de ampicilina-sulbactam, gentamicina y vancomicina. Consulta con cirujano cardíaco. Ecocardiograma transesofágico (TE): masa en valva no coronaria de 12 mm con perforación que determina insuficiencia aórtica severa.

Hemocultivos x 2 set realizado día 2, 3 y 6 de internación sin desarrollo.

**Día 8:** Peoría de situación clínica, cirugía cardíaca de urgencia con sustitución valvular aórtica por prótesis mecánica. Cultivo bacteriológico sin desarrollo de válvula.

**Día 15:** controles subfebriles. Se descartan foco infeccioso respiratorio e infección sitio quirúrgico profundo.

Día 27-47: persiste subfebril, 24 rpm, leucocitosis mantenida 12.000/mm<sup>3</sup>, PCT 0,24 ng/ml, PCR 44 mg/dl. Hemocultivos x 2 negativos. Se solicita ecocardiograma TE.

**Día 48:** Se realiza Ecocardiograma TE: fuga paravalvular leve. En porción tubular de aorta ascendente pseudoaneurisma de 2,7x 1,5 cm.

Planteos diagnósticos: Endocarditis precoz sobre válvula protésica. Diagnósticos etiológicos: Microorganismos inespecíficos multirresistentes vinculados a acto quirúrgico, Fúngica: *Aspergillus* spp, *Candida* spp

**Día 50:** se solicita Antígeno galactomanano en sangre, hemocultivos. Se inicia plan empírico en base a linezolid, meropenem, caspofungina.

**Día 62:** Antígeno galactomanano 2,19 ng/ml

Planteo diagnóstico: Endocarditis fúngica por *Aspergillus* spp. Se inicia biterapia antifúngica en base a voriconazol y caspofungina. Consulta con cirugía cardíaca.

**Día 76:** Sustitución de porción tubular de aorta ascendente, Resección de pseudoaneurisma aórtico. Cultivo micológico, bacteriológico.

Estudio micológico: se observaron abundantes filamentos hialinos en el examen directo y los cultivos desarrollaron colonias de *Aspergillus fumigatus*.

**Día 100:** Completa 8 semanas de tratamiento pos cirugía. Tratamiento supresivo con voriconazol posterior.

### **Discusión y diagnósticos diferenciales**

Estamos ante un caso de endocarditis infecciosa por *Aspergillus fumigatus* confirmada en paciente trasplantado renal en el pos trasplante alejado.

Este paciente presentaba como factor de riesgo para endocarditis fúngica *Aspergillus* spp el uso de corticoides en un paciente inmunodeprimido, esto junto la presencia de vegetaciones mayor a 1 cm y la presencia de un pseudoaneurisma en los estudios de imagen nos orientó al planteo de infección fúngica.

Nuestro principal diagnóstico diferencial una vez que llegamos al aislamiento microbiológico en este paciente es si el cuadro clínico fue desde el inicio secundario a un *Aspergillus* o si esta fue una complicación añadida en el acto intraoperatorio.

**Conclusiones:** la etiología fúngica y en particular *Aspergillus* spp. siempre debe estar entre los planteos en pacientes con endocarditis infecciosa sobre válvula protésica, siendo también una etiología a plantear en pacientes TOS que cursan endocarditis infecciosa subaguda sobre válvula nativa.

**Palabras clave:** Endocarditis. *Aspergillus*

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Infección suprarrenal por *Histoplasma capsulatum* en paciente diabético. Reporte de caso

**Bouchet D<sup>1</sup>, Surraco ME<sup>2</sup>, Carrizo G<sup>3</sup>**

1- Infectología, Hospital Rawson, Córdoba, Argentina

2- Endocrinología, Hospital San Roque, Córdoba, Argentina

3- Microbiología, Hospital Rawson, Córdoba, Argentina

*Histoplasma capsulatum* hongo patógeno, saprobio del suelo, cosmopolita, endémico en Córdoba con dimorfismo térmico, múltiples formas clínicas dependiendo del estado inmunitario del huésped y del tamaño del inóculo infectante, en inmunocompetentes como en inmunocomprometidos (patología oncohematológica, postquimioterapia, diabetes, SIDA) aprovechando defectos locales o sistémicos.

La afectación suprarrenal está descrita pero es infrecuente lo que no se sospecha, se retarda el diagnóstico y el inicio del tratamiento empeorando el pronóstico.

Caso clínico: masculino, 70 años, de Córdoba, 4 meses antes pérdida de peso significativa, astenia invalidante, hiporexia, fiebre hipertensión e hipotensión arterial, síndrome confusional agudo, vómitos

Antecedentes hipertensión arterial, diabetes mellitus insulino-requiriente, tabaquismo, tratado con amlodipina, insulina, metformina

Laboratorio inicial anemia, glóbulos blancos, fórmula leucocitaria y plaquetas normales, glucemia 121 mg/dl, hemoglobina glicosilada 7.9 gr%, clearance de creatinina 43 l/min, transaminasas elevadas, fosfatasa alcalina 2314 UI/l, anticuerpos anti músculo liso, antinucleares, Anti LKM, Ac Antimitocondriales y artritis negativos. Complementemia, proteinograma por electroforesis, Ag carcinoembrionario y Ca 19.9, Antígeno prostático específico normales. 2 test E.L.I.S.A VIH no reactivos, linfocitos T CD4+ 366 cells/l, 28%. Función adrenal metanefrinas totales y fraccionadas normales, aldosterona/actividad renina plasmática normal, DHEA normal, Eje Gc que evidencia cushing subclínico (Coam ligeramente elevado, CIU ligeramente por encima de lo normal, Test de Nugent positivo, Co en saliva 23 hs ligeramente por encima de lo normal)

Radiografía de tórax enfisema moderado sin infiltrados. Tomografía de tórax mediastino normal, cambios cicatrizales en vértices pulmonares, infiltrados en vidrio esmerilado subpleurales bilaterales, 6 micronódulos bilaterales Tomografía abdomen normal excepto ambas glándulas suprarrenales con nódulos inhomogéneos, bazo e hígado aumentados de tamaño homogéneos

Histopatología adrenales con granulomas, células gigantes multinucleadas con esporas PAS positivas de 2-3 micras con halo claro, características de *Histoplasma capsulatum*. No malignidad.

Microbiología examen directo de adrenales coloración de Giemsa levaduras intra y extracelulares. Gram y Zhiel-Neelsen sin microorganismos

Cultivo Agar Sabouraud glucosado a 28 °C y Agar cerebro-corazón a 37°C: hongo dimórfico identificado como *Histoplasma capsulatum*

Hemocultivos gérmenes comunes y por lisis-centrifugación sin desarrollo de micobacterias a 60 días

Tratamiento Itraconazol 600 mg/día, 3 días luego 400 mg/día, a los 30 días excelente respuesta clínica

**Discusión:** la clínica y los hallazgos tomográficos de suprarrenales grandes, nodulares condujo a pensar en neoplasia primaria (rara vez bilateral) o secundaria, o infección por micobacterias u hongos. Por la epidemiología, antecedentes de diabetes, linfopenia T CD4 y perfil bioquímico con hipercortisolismo subclínico se sospechó infección por *Histoplasma capsulatum*. Por su endemicidad la serología carece de valor diagnóstico, una muestra de suprarrenales confirmó la sospecha. La presentación bilateral es muy rara.

**Palabras claves:** tumor, suprarrenal, diabetes, histoplasmosis

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Feohifomicosis en pacientes oncohematológicos

**Soria L. Cabral M. Ruffolo S. Donaire S. Vernazzi L. Salina G.**

Hospital Central, Mendoza, Argentina

### **Introducción**

En los últimos años se ha observado un aumento de las infecciones por hongos filamentosos distintos de *Aspergillus*; son menos frecuentes, importantes desde el punto de vista médico y han contribuido a un aumento de la morbimortalidad, sobre todo en pacientes inmunodeprimidos. Existe dificultad para establecer un diagnóstico precoz, y en general evidencian una respuesta pobre al tratamiento antifúngico.

Las feohifomicosis se caracterizan por la presencia de hifas septadas (de pared oscura por la presencia de melanina), o levaduras o la combinación de ambas estructuras morfológicas en los tejidos. Se han descrito más de 150 especies y unos 70 géneros pueden producir enfermedad en el hombre. Este grupo de hongos es heterogéneo en relación al espectro clínico de las infecciones que producen y su respuesta al tratamiento.

En pacientes inmunosuprimidos la incidencia es baja, aunque puede llegar al 9%. La mortalidad global es del 7 al 57%.

### **Resumen clínico 1**

Paciente de sexo masculino de 40 años sin antecedentes patológicos. Ingresó por pancitopenia y fiebre el 27/12/2014. Diagnóstico: aplasia medular severa. Tomografía de tórax (30/12/14): Imagen pseudonodular con broncograma aéreo en su interior, en vértice pulmonar derecho (35 mm diámetro), con vidrio esmerilado adyacente. Videotoracoscopía: lobectomía pulmonar superior derecha. Anatomía patológica: proceso inflamatorio inespecífico, cultivo negativo. Inició quimioterapia: ciclosporina, timoglobulina y corticoides. Tomografía de tórax (14/4/15): derrame pleural derecho parcialmente encapsulado; en el segmento apical de lóbulo inferior derecho y en vértice izquierdo, lesiones expansivas con centro hipodenso. Tratamientos antimicrobianos: antibióticos de amplio espectro, anfotericina liposomal y voriconazol. Cirugía de resección de bola fúngica (dos masas pigmentadas). Hemotórax. Shock hipovolémico. Óbito. Cultivo: *Acinetobacter lowflii* BLEE y *Alternaria*. Diagnósticos diferenciales: *Aspergilosis* pulmonar, tuberculosis y absceso bacteriano

### **Resumen clínico 2**

Paciente de sexo masculino de 27 años con antecedentes de oligofrenia. Ingreso el 18/02/2015. Diagnóstico: leucemia linfoblástica aguda. Inicio quimioterapia. Neutropenia y fiebre. Presento lesiones necróticas en nariz y paladar duro. Tomografía de orbita: sin invasión ocular. Tomografía de senos paranasales: sin lesiones óseas, senos paranasales ocupados. Tomografía de tórax: infiltrado bilateral pseudonodular. Se realizó toma de muestra de las lesiones de la nariz. Cultivo: *Bipolaris*. Tratamientos antimicrobianos: antibióticos de amplio espectro, anfotericina liposomal y voriconazol. El paciente fue derivado a Buenos Aires para limpieza quirúrgica extensa y reparación plástica.

**Diagnóstico diferencial:** mucormicosis rino-maxilar.

### **Conclusiones**

La dificultad de un diagnóstico precoz, puede ser un motivo de la progresión de la enfermedad fúngica invasiva. La importancia de la cirugía en pacientes inmunocomprometidos como parte fundamental del tratamiento. Las formas de presentación de estas micosis, en ambos pacientes, son poco comunes de acuerdo a la bibliografía revisada y el diagnóstico microbiológico es fundamental para definir el tratamiento específico.

**Palabras claves:** Feohifomicosis. Infecciones fúngicas invasivas. Infecciones en pacientes neutropénicos.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Analisis epidemiologico en un servicio de oncohematologia

**Soria L. Cabral M. Donaire S. Vernazzi L. Salina G. Ruffolo S.**

Hospital Central, Mendoza, Argentina

**Introducción:** Los pacientes oncohematológicos tienen un riesgo aumentado de sufrir complicaciones infecciosas debido a la enfermedad de base y su tratamiento. Las infecciones determinan una morbimortalidad significativa y un aumento de los costos de hospitalización.

Los microorganismos involucrados varían según el centro y en el tiempo, por lo tanto el conocimiento de la epidemiología permite elegir los tratamientos antimicrobianos adecuados, (especialmente en la era de la multirresistencia) a fin de modificar la sobrevida de los pacientes neutropénicos febriles.

**Objetivo:** Evaluar la epidemiología en pacientes con cáncer hematológico a través de los resultados de los hemocultivos para definir los tratamientos antimicrobianos.

**Materiales y métodos:** Se realizó un análisis retrospectivo de pacientes neutropénicos febriles que ingresaron a Oncohematología desde el año 2007 al 2014. Se utilizó una planilla de Excel para la recolección de los datos que se obtuvieron de las historias clínicas y del laboratorio de microbiología.

Las variables cuantitativas se expresan como medias  $\pm$  desvío estándar, (DE) y las cualitativas como porcentajes con su Intervalo de Confianza 95%, (IC95%), para su análisis se utilizó chi cuadrado para tendencias. Se consideró significativa  $p \leq 0,05$ .

**Resultados:** Se analizaron 252 pacientes, 143 de sexo masculino (57%). Promedio de edad y estadía  $42,7 \pm 17,2$  años y  $23,3 \pm 29,4$  días, respectivamente. Los diagnósticos hematológicos fueron: 83% leucemia aguda, 13% linfoma, 3% aplasia medular y 1% mieloma múltiple. El 72,61% de los pacientes tenía colocado un catéter venoso central en momento en que se detectaron los hemocultivos positivos.

Los pacientes presentaron 278 episodios de bacteriemia/fungemia, de los cuales el 93,6% fueron monomicrobianos. El promedio de días transcurridos desde el ingreso hasta la detección microbiológica fue de  $9,6 \pm 11,3$  días.

Se aislaron 312 microorganismos: 60,57% bacilos Gram negativos, 32,69 % cocos Gram positivos y 6,73% hongos. Gráfico 1. Sin embargo al analizar la evolución temporal de los aislamientos se observa un descenso del porcentaje de aislamientos de Gram (-), con un incremento de hongos, ambos significativos. Gram (-) 61,1 vs 35,8%;  $p = 0,021$ . Gram (+) 37,0 vs 35,8%;  $p = NS$  y Hongos, 1,8 vs 28,2%;  $p = 0,002$ . Con respecto a los hongos aislados en hemocultivos se muestra la distribución en la Tabla 1. La mortalidad global de la muestra: 42%

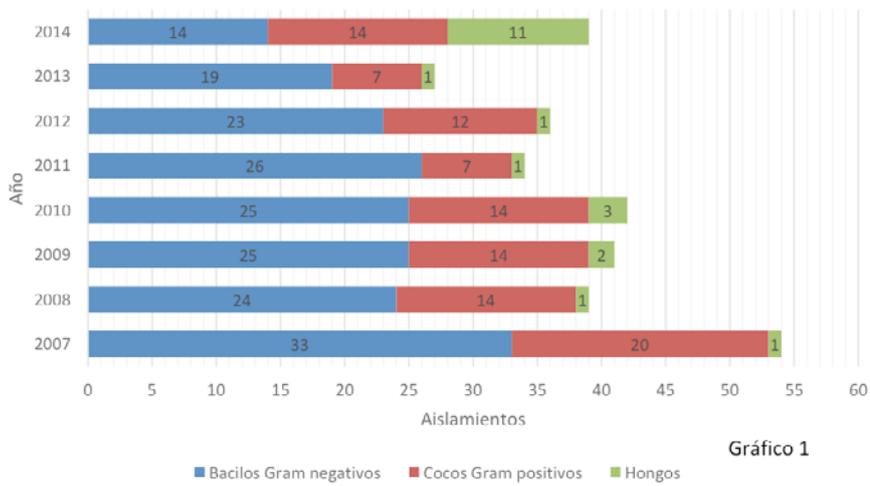
**Conclusiones:** El seguimiento de los aislamientos microbiológicos en pacientes neutropénicos febriles permite observar las variaciones anuales de los microorganismos, como en nuestra Institución donde detectamos el incremento del género *Cándida* en el año 2014. Este incremento puede deberse a la mejora en las técnicas microbiológicas para el aislamiento de hongos, a la utilización de quimioterapias más agresivas que provoca periodos prolongados de neutropenia, a la necesidad del uso de antibióticos de amplio espectro en la era de microorganismos multiresistentes, al uso de catéteres venosos centrales para la administración de quimioterapia y antibióticos y al prolongado tiempo de internación.

**Palabras claves:** Neutropénicos febriles-Epidemiologia-Hongos- Fungemia

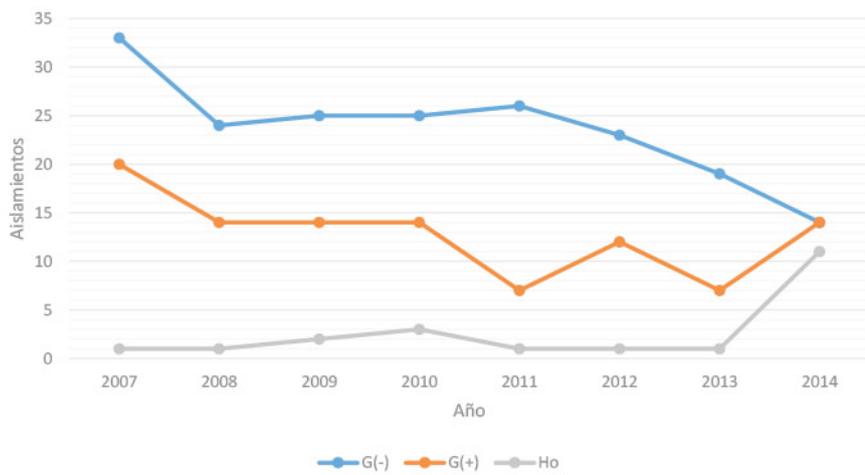
**Tabla 1.** Distribución de aislamientos micológicos

Cándida tropicalis	7
Cándida spp.	5
Cándida famata	4
Cándida albicans	3
Cándida parapsilosis	1
Cryptococcus neoformans	1
TOTAL	21

### Aislamientos microbiológicos por año



### Aislamientos microbiológicos por año



## 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

# Mucormycosis: a report case

**De Oliveira, Carla Sakuma<sup>1</sup>; De Lima, Bernardo<sup>2</sup>; De Carvalho, Marisa Cristina Preifz<sup>3</sup>; Ferreira, Rodrigo<sup>4</sup>; Da Cunha Júnior, Ademar Dantas<sup>5</sup>; Andrade, Reginaldo José<sup>6</sup>; De Moraes, Carlos Floriano<sup>7</sup>**

1 Doctor, Medical Infectious Diseases, UOPECCAN - Cascavel/PR/Brazil

2 Medical Student, State University of West Parana - UNIOESTE - Cascavel/PR/Brazil

3 Nurse, Hospital Infectious Control Service - CCIH - UOPECCAN - Cascavel/PR/Brazil

4 Doctor, Medical Resident - UOPECCAN - Cascavel/PR/Brazil

5,6 Doctor, Hematologist, UOPECCAN - Cascavel/PR/Brazil

7 Doctor, Pathologist, UOPECCAN - Cascavel/PR/Brazil

### **Keywords:**

Acute Myeloid Leukemia, Fungal infection, mucormycosis.

### **Introduction**

Zygomycosis is a rare fungal infection caused by fungi of the Zygomycetes class and Mucorales Entomophthorales order. Mucormycosis is caused by opportunistic pathogens, rarely causing disease in immunocompetent patients, yielding mainly processes that lead to neutropeny or neutrophil dysfunction. After candidiasis and aspergillosis, mucormycosis is the third most common invasive fungal infection, representing from 8,3-13% of all fungal infections found in autopsies of hematologic patients. Developments often withering due to the rapid growth of the fungus and the parallel destruction of tissues, which requires early diagnosis and prompt medical and surgical treatment. Most cases occur in leukemic patients.

### **Report case**

Female, 54y, 3 months ago had skin lesions with histopathological diagnosis of chronic dermatitis. It evolved with cervical and inguinal lymphadenopathy with the performance of a new biopsy resulting in malignant neoplasm, poorly differentiated, infiltrating, little fuzzy in lymph nodes, suggesting non-Hodgkin lymphoma. Physical examination: petechia, erythema and ecchymosis, dissociated from spontaneous bleeding, associated with night sweats. She denied fever and weight loss. Patient underwent chemotherapy treatment regimen, develop severe febrile neutropenia, indicated treatment with cefepime. After 48 hours, maintaining the fever was associated with vancomycin. Patient was also trimethoprim-sulfamethoxazole and acyclovir prophylaxis. Maintenance of fever, has expanded the range of antimicrobials to meropenem, polymyxin B and linezolid and was asked chest computed tomography. Faced with possible associated fungal infection was associated with voriconazole. Presented positive blood culture for *Enterococcus faecalis*, starting ampicillin and vancomycin EV. At admission, evolved into cellulite and left hand arthritis and right upper limb and macula right buttock, which subsequently were biopsied. From these biopsied lesions, evidence of fungal infection Mucorales. After the diagnosis of zygomycosis, antifungal treatment was suitable for amphotericin B.

### **Complementary Tests**

Chest tomography: Frosted Glass signs suggestive of fungal infection

Skin biopsy: Standard acute dermatitis "spongiotic" mild. Fabric containing large quantities of fungal morphology suggestive zygomycosis (mucormycosis) - wide hyphae, non-chambered/bit septate and branched at 90°.

### **Discussion**

The pulmonary mucormycosis is a relatively rare disease, but with the increasing number of immunocompromised patients, this may become more common. The invasion of tissue by hyphae can be seen by microscopy by Grocott method and it is essential to establish the diagnosis. However, for this it is necessary to master the knowledge of tissue presentation of filamentous fungi. The successful management remains early diagnosis, followed by systemic antifungal therapy (amphotericin B iv) and surgical resection associated with the control of the underlying disease.

### **Conclusions**

Skin lesions for minor or insignificant they may seem, should never be neglected especially in immunocompromised patients because these biopsied lesions comes to the definitive diagnosis of an opportunistic infection highly lethal and if diagnosed early and treated properly, may develop with therapeutic success.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

# Criptococosis por *Cryptococcus gattii* en paciente con púrpura trombocitopénica idiopática

**Marucco, A<sup>1</sup>; Marin, E;<sup>2</sup>; Garcia M<sup>3</sup>; Alfonso, C<sup>4</sup>**

1,3,4 Hospital Santojanni

2 Hospital Muñiz

### **Introducción**

Es una micosis de curso subagudo o crónico, causada por levaduras patógenas oportunistas denominadas *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus gattii*; se caracteriza por afectar inicialmente pulmones, y después diseminarse a piel y vísceras, con una clara predilección hacia el sistema nervioso central. En las últimas décadas el complejo *C. neoformans* /*C. gattii* es considerado como un patógeno primario o secundario en huéspedes inmunocompetentes o con distintos tipos de inmunocompromiso, como los infectados por HIV, los trasplantados de órganos sólidos y los onco-hematológicos, los que reciben quimioterapia, tratamientos inmunosupresores o corticosteroides o anticuerpos monoclonales. Se han descrito 4 genotipos asociados a *C. neoformans* VNI y VNII corresponden a la variedad *grubii*, VNII para el híbrido AD y VNIV para la variedad *neofomans*. También se han diferenciado los genotipos VGI a VGIV de *C. gattii*.

### **Resumen clínico**

Paciente de 25 años, masculino, oriundo de Bolivia, con antecedentes de inmunosupresión por altas dosis de corticoides desde 2012. Antecedentes: Diagnóstico en 2012 de Púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), donde sin haber recibido corticoide previamente, comienza con tratamiento de Deltisona B 40 g/día y desde entonces no realiza controles con hematología.

Consulta por guardia en abril 2015 con cefalea de 6 días de evolución. Se realizó una tomografía axial computarizada de encéfalo (sin lesión aparente), Punción lumbar (PL): incolora, límpida, proteínas=0,2g/l, glucosa=49mg/dl, no se observan leucocitos, Tinta China positiva. Inicia tratamiento con Anfotericina B intravenosa en dosis de 0,7 mg/kg diario asociada a Fluconazol 800 mg/día, a los 15 días se rota tratamiento a Anfotericina liposomal por presentar alteración de la función renal (Creatinina= 1,7) Cumple tratamiento y egresa con buena evolución clínica con Fluconazol 800 mg/día.

Las muestras remitidas para cultivo fueron hemocultivos y líquido cefalorraquídeo (LCR). Los hemocultivos fueron negativos. En el cultivo de LCR se observó desarrollo levaduriforme en los medios sin cicloheximida; identificado fenotípicamente como *Cryptococcus gattii* por la capacidad de desarrollo a 37 °C, la producción de ureasa en medio de Christensen, producción de colonias pigmentadas en medio de Staib, desarrollo en los medios de Salkin y GCB

Se identificó como genotipo VGI Mediante PCR, RFLP, con amplificación del gen URA 5

El paciente no regresa a los controles citados por lo que no puede evaluarse su evolución clínica.

### **Discusión**

*Cryptococcus gattii* tiene una distribución geográfica más restringida, que *C. neoformans* usualmente se aísla en regiones de clima tropical o subtropical y en asociación con distintas especies de *Eucalyptus*, con áreas endémicas importantes en África ecuatorial, Australia (en especial VGI) y varias regiones de Sudamérica. En el nordeste Argentino y aún en la ciudad de Buenos Aires fue aislado de distintas especies de coníferas y *eucalyptus*. El genotipo VGI es el aislado más frecuente en los árboles de Buenos Aires.

### **Conclusiones**

En la Argentina la información epidemiológica de criptococosis está basada en comunicaciones aisladas de los distintos centros de salud. Se ha comprobado que *C. gattii* presenta cepas más virulentas que *C. neoformans*, por lo que es importante su identificación a nivel de especie.

**Palabras claves:** *Cryptococcus gattii*, criptococosis

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Coinfección por *Cryptococcus neoformans* y *Nocardia abscessus* en paciente con VIH/sida: relato de un caso.

**Benchetrit A., Messina F., Depardo R., Villafañe F., Santiso G., Arechavala A., Romero M., Marín E.**

Unidad Micología y Unidad 10, Hospital de Infecciosas F. J. Muñiz, CABA, Argentina

### **Introducción**

*Cryptococcus neoformans* (Cn) es uno de los principales agentes de meningitis en pacientes con VIH. Se han descrito pocos casos de infecciones por *Nocardia abscessus*, especie recientemente reconocida a través de métodos de biología molecular. Se presenta el caso de un paciente con infección por VIH/sida con lesiones diseminadas por ambos patógenos simultáneamente.

### **Caso Clínico**

Paciente de 44 años, VIH positivo, con hepatitis C, sin tratamiento ni seguimiento, sin antecedentes de enfermedades marcadoras. Se internó por cefalea y síndrome constitucional. En el examen físico se detectó hepatosplenomegalia y se observó una adenopatía latero-cervical izquierda, con eritema, calor y rubor, fluctuante. Se realizó punción lumbar con presión de apertura de 25 cm de agua. El examen fisicoquímico del líquido cefalorraquídeo (LCR) mostró hipoglucorraquia leve (36 mg/dl). En el examen directo con tinta china se observaron levaduras capsuladas. En los cultivos bacteriológico y micológico del material purulento de la colección ganglionar desarrollaron *N. abscessus* y *C. neoformans*. El paciente inició tratamiento con anfotericina B, fluconazol, imipenem (posteriormente ciprofloxacina) y trimetoprima sulfametoxazol, con buena evolución.

### **Discusión**

La criptococosis es la causa más frecuente de micosis sistémica en pacientes con VIH. A pesar del advenimiento del tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA), continúa siendo una causa frecuente de mortalidad en pacientes con VIH en nuestro país. La criptococosis diseminada puede comprometer ganglios, como en el caso que se presenta.

La especie *N. abscessus* pertenece al complejo *Nocardia asteroides*. Desde su diferenciación son todavía pocos los casos clínicos en los que se la ha identificado, tanto en formas localizadas como diseminadas. Si bien los factores de riesgo para esta especie no han sido claramente definidos, las formas diseminadas suelen presentarse en pacientes inmunocomprometidos. Esta especie suele ser sensible a ampicilina, amoxicilina con ácido clavulánico y cefalosporinas de tercera generación, pero presenta resistencia a imipenem y resistencia variable a fluoroquinolonas y macrólidos.

La coinfección de *C. neoformans* con *Nocardia* spp. es poco frecuente aunque se ha descrito al menos en 5 oportunidades, 4 de los casos eran pacientes con algún tipo de inmunocompromiso. Uno de ellos con VIH/sida había sido diagnosticado en esta misma institución una década atrás.

El manejo de las infecciones diseminadas por *Nocardia* spp. en pacientes con VIH/sida requiere conocer la especie de *Nocardia* y su patrón de sensibilidad para definir el tratamiento médico. Debe recordarse que los enfermos con déficit de la inmunidad pueden presentar infecciones simultáneas por varios patógenos.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Rinosinusitis por *Sarocladium implicatum* en paciente con leucemia mieloide aguda

**Lahitte M<sup>2</sup>, Ponessa A<sup>2</sup>, Flynn L<sup>2</sup>, Nannini E<sup>2</sup>, Biasoli M.<sup>1</sup>, Dalmaso H.<sup>1</sup>, Luque A.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> CEREMIC. Fac.de Cs. Bioq. y Farm. UNR

<sup>2</sup> Sanatorio Británico. Rosario

### **Introducción**

*Acremonium* es un género fúngico saprofito del suelo, plantas, insectos. La taxonomía de *Acremonium* fue revisada basándose en recientes estudios filogenéticos moleculares y algunas especies, importantes patógenos de animales y plantas, se transfirieron al género *Sarocladium*. En seres humanos produce infección típicamente por inoculación directa (queratitis, micetoma, onicomicosis). Factores de inmunodepresión pueden predisponer a infecciones invasivas, siendo las más comunes; sinusitis, osteomielitis, artritis, peritonitis y afección neurológica. El objetivo es presentar un caso de rinosinusitis por *Sarocladium implicatum* en una paciente con neutropenia febril post-quimioterapia por leucemia mieloide aguda.

### **Caso clínico**

Mujer de 29 años con diagnóstico reciente de leucemia mieloide aguda. Comienza profilaxis con levofloxacina, aciclovir y posaconazol (200 mg cada 8 horas); inicia quimioterapia de inducción.

Presenta pancitopenia profunda y prolongada, cuadro de neutropenia febril con foco de sinusitis maxilar derecha. Comienza terapia empírica antimicrobiana con Cefepime con mejoría clínica y apirexia a las 48 hs de iniciado el tratamiento. Al presentar blastos en medula ósea, inicia quimioterapia de re-inducción. Persiste la neutropenia severa y agrega nuevo episodio febril, rinorrea, tos no productiva. Al examen clínico agrega lesión ulcero-necrótica en tabique septal de narina derecha. Se indica meropenem y por sospecha de infección fúngica invasiva inicia tratamiento antifúngico empírico con anfotericina B liposomal 3-5 mg/ kg/día.

Se realiza hisopado y biopsia de la lesión de la narina y punción del seno maxilar.

En el laboratorio microbiológico se realizó microscopía directa, coloraciones y cultivos. En el estudio microscópico del material clínico se observó abundante cantidad de filamentos fúngicos tabicados. En todos los cultivos se obtuvo el desarrollo de un hongo filamentoso que fue identificado en base a su macro y micromorfología en Agar Papa Dextrosa y en Agar Harina de Avena, como *S. implicatum*. In vitro el hongo aislado presentó sensibilidad disminuida a fluconazol, itraconazol, y caspofungina, en tanto que fue moderadamente sensible a anfotericina B y voriconazol.

Realiza 14 días de anfotericina B liposomal con buena respuesta clínica, local e imagenológica.

Luego de la recuperación de citopenias secundaria a la quimioterapia, se decide el alta continuando tratamiento oral con voriconazol dosis de carga y luego 200 mg cada 12 hs.

### **Conclusión**

*S. implicatum*, antes *Acremonium implicatum*, ya había sido reportado como agente causal de infecciones oportunistas, aunque muchas veces ha sido difícil dilucidar el verdadero rol patogénico de este tipo de hongos que son contaminantes ambientales. En el presente caso la observación de los filamentos en el material clínico y el abundante desarrollo obtenido en los cultivos junto con las características clínicas que presentó la paciente permiten corroborar la etiología de la infección.

En pacientes inmunocomprometidos con neutropenia severa y prolongada puede ocurrir infección de brecha por hongos filamentosos, aún recibiendo posaconazol como profilaxis. Remarcamos la importancia de la biopsia con estudios micológicos para orientar tratamiento documentado en esta población.

**Palabras claves:** *Sarocladium implicatum*, rinosinusitis.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## “Histoplasmosis diseminada con orquiepididimitis en paciente con VIH-sida: comunicación de un caso”

**Benchetrit A., Messina F., Depardo R., Sawicki M., Veliz L., Marín E., Santiso G.**

### **INTRODUCCIÓN**

La histoplasmosis, enfermedad producida por el hongo dimorfo *Histoplasma capsulatum* (Hc), es la micosis endémica más frecuente en pacientes con sida. Si bien se ha descrito el compromiso genital en estos pacientes, la orquiepididimitis por Hc es infrecuente.

Presentamos el caso de un paciente con diagnóstico de VIH-sida e histoplasmosis diseminada que desarrolla orquiepididimitis.

### **CASO CLÍNICO**

Paciente de 40 años, masculino, diagnóstico de histoplasmosis diseminada en agosto 2014. Concomitantemente diagnóstico de VIH, CV 25400 copias/ml (log 4.4) y CD4 55 células/mm<sup>3</sup> (10%). Tratado con itraconazol, evoluciona favorablemente.

En noviembre 2014 presenta perforación intestinal, en histopatología de biopsia de intestino: áreas abscedadas en pared, sectores de inflamación crónica y elementos levaduriformes en Grocott. No se realizan cultivos.

En junio 2015 presenta tumor y dolor en testículo derecho. En histopatología de biopsia testicular: estructuras granulomatosas con células epiteloideas y elementos compatibles con Hc en Grocott. Directos y cultivos para bacterias, micobacterias y hongos negativos. El paciente se encontraba en tratamiento antirretroviral y profilaxis con itraconazol, CD4 de 336 (14%).

### **DISCUSIÓN**

En la literatura se describen únicamente 11 casos de compromiso de epidídimo y/o testículo por Hc. Solo dos de ellos corresponden a pacientes con VIH.

La presentación clínica se caracteriza por dolor e inflamación escrotal de semanas de evolución, acompañados de fiebre, pérdida de peso y compromiso de otros órganos. Es necesario realizar diagnóstico diferencial con enfermedades que presenten masas o aumento de tamaño testicular, entre ellas patologías neoplásicas e infecciosas como tuberculosis y brucelosis.

El diagnóstico se realizó por visualización de levaduras en histopatología en todos los casos descriptos. El tratamiento médico resulta suficiente, aunque dos casos evolucionaron favorablemente solo con tratamiento quirúrgico.

El caso presentado fue interpretado como una orquiepididimitis por Hc en contexto de un síndrome de reconstitución inmunológica, siendo el tratamiento quirúrgico suficiente.

### **CONCLUSIONES**

Si bien poco frecuente, el compromiso por Hc en pacientes con orquiepididimitis debe sospecharse siempre que existan antecedentes epidemiológicos compatibles, a fin de instaurar un adecuado tratamiento y evitar cirugías innecesarias.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Coinfección por *Cryptococcus neoformans* y *Nocardia abscessus* en paciente con VIH/sida: relato de un caso.

**Benchetrit A., Messina F., Depardo R., Villafañe F., Santiso G., Arechavala A., Romero M., Marín E.**

Unidad Micología y Unidad 10, Hospital de Infecciosas F. J. Muñiz, CABA, Argentina

### **Introducción**

*Cryptococcus neoformans* (Cn) es uno de los principales agentes de meningitis en pacientes con VIH1. Se han descrito pocos casos de infecciones por *Nocardia abscessus*, especie recientemente reconocida a través de métodos de biología molecular<sup>4</sup>. Se presenta el caso de un paciente con infección por VIH/sida con lesiones diseminadas por ambos patógenos simultáneamente.

### **Caso Clínico**

Paciente de 44 años, VIH+, con hepatitis C, sin tratamiento ni seguimiento ni antecedentes de enfermedades marcadoras. Se internó por cefalea y síndrome constitucional. En el examen físico se detectó hepatosplenomegalia y se observó una adenopatía latero-cervical izquierda, con eritema, calor, rubor, y fluctuante. Se realizó punción lumbar con presión de apertura de 25 cm de agua. El examen fisicoquímico del líquido cefalorraquídeo (LCR) mostró hipoglucorraquia leve (36 mg/dl). En el examen directo con tinta china se observaron levaduras capsuladas. En los cultivos bacteriológico y micológico del material purulento de la colección ganglionar desarrollaron *N. abscessus* y *C. neoformans*. El paciente inició tratamiento con anfotericina B, fluconazol, imipenem (posteriormente ciprofloxacina) y trimetoprima sulfametoxazol, con buena evolución.

### **Discusión**

La criptococosis es la causa más frecuente de micosis sistémica en pacientes con VIH5. A pesar del advenimiento del tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA), continúa siendo una causa frecuente de mortalidad en pacientes con VIH en nuestro país. La criptococosis diseminada puede comprometer ganglios, como en el caso que se presenta.

La especie *N. abscessus* pertenece al complejo *Nocardia asteroides*. Desde su diferenciación son todavía pocos los casos clínicos en los que se la ha identificado, tanto en formas localizadas como diseminadas. Si bien los factores de riesgo para esta especie no han sido claramente definidos, las formas diseminadas suelen presentarse en pacientes inmunocomprometidos. Esta especie suele ser sensible a ampicilina, amoxicilina con ácido clavulánico y cefalosporinas de tercera generación, pero presenta resistencia a imipenem y resistencia variable a fluoroquinolonas y macrólidos.

La coinfección de *C. neoformans* con *Nocardia* spp. es poco frecuente aunque se ha descrito al menos en 5 oportunidades, 4 de los casos eran pacientes con algún tipo de inmunocompromiso. Uno de ellos con VIH/sida había sido diagnosticado en esta misma institución una década atrás.

El manejo de las infecciones diseminadas por *Nocardia* spp. en pacientes con VIH/sida requiere conocer la especie de *Nocardia* y su patrón de sensibilidad para definir el tratamiento médico. Debe recordarse que los enfermos con déficit de la inmunidad pueden presentar infecciones simultáneas por varios patógenos.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Mediastinitis por *Candida parapsilosis* asociada a trasplante cardiaco

**Merkt M<sup>1</sup>, Pennini M<sup>1</sup> Sucari A<sup>1</sup> Carrion S<sup>1</sup>, Piacenza L<sup>1</sup>, Fernandez Oses P<sup>2</sup>, Cordoba S<sup>3</sup>, Nacinovich F<sup>2</sup>,**

1 Stamboulian Laboratorio

2 ICBA,

3 ANLIS "Dr. C. Malbrán", CABA, Argentina

### **Introducción**

Los problemas principales en el paciente sometido a trasplante de órgano sólido (TOS) son el rechazo del órgano y las infecciones. Los nuevos esquemas inmunosupresores han disminuido el riesgo de rechazo, sin embargo, las infecciones siguen siendo importantes en la morbi-mortalidad de los pacientes. La sobrevida del órgano trasplantado es impactada también por los diversos procesos infecciosos que ocurren en el periodo pos trasplante.

### **Resumen clínico**

Presentamos el caso de una paciente femenina de 21 años con antecedentes de miocardiopatía restrictiva, colocación de CDI en 2010, múltiples internaciones por ICC. Al momento de la consulta presenta shock cardiogénico con falla multiorgánica con requerimiento de BIACP y luego ECMO, se realiza trasplante cardiaco ortotópico de emergencia con técnica bicava. Evoluciona con falla primaria del injerto con falla biventricular y requerimiento de ECMO, drogas inotrópicas (levosimendan) y politransfusiones. Posteriormente presenta neumotórax derecho de grado III que requiere tubo de avenamiento pleural, objetivándose líquido pleural con características de empiema. Se sospecha de mediastinitis y se realiza toilette quirúrgica. Presenta IRA con requerimiento de diálisis de urgencia; isquemia arterial aguda de miembro superior izquierdo que requiere prostaglandinas. Realiza tratamiento empírico con meropenem vancomicina y a las 72 h por persistir febril se agrega micafungina. Se aíslan en líquido pleural, mediastino y punción subxifoidea levaduras que fueron identificadas por pruebas bioquímicas y Phoenix (Becton Dickinson®) como Complejo *Candida parapsilosis* (Cp). La sensibilidad fue realizada por difusión: caspofungina sensible; Etest: fluconazol CIM 2 µg/mL. Se envía cepa a Centro Nacional de Referencia para la realización de la sensibilidad por microdilución (µg/mL): anfotericina B 1, fluconazol 1, itraconazol 0,03, voriconazol 0,015, posaconazol 0,3, anidulafungina 1, caspofungina 1. Pese al tratamiento antifúngico persiste febril con inestabilidad hemodinámica y se cambia a anfotericina B liposomal y fluconazol 800 mg/día. Posteriormente presenta hipotensión refractaria, descenso brusco de hematocrito y se realizan politransfusiones. Luego presenta PCR, se realizan maniobras de RCP, se decide exploración quirúrgica, lavado, aspiración de tórax y abdomen sin evidencia de sangrado activo, se continúa con transfusiones, con requerimiento de drogas inotrópicas en dosis máximas sin lograr sostén hemodinámico. Se recupera Cp de los hemocultivos y retrocultivos. Presenta nuevamente PCR se realizan maniobras de reanimación. Óbito.

### **Conclusiones**

Se destaca el antecedente clínico del TOS para sufrir una infección por *Candida*, más aún en paciente con requerimiento de ECMO pre y pos trasplante. El sitio de infección coincide con el órgano trasplantado. Es imprescindible la identificación y sensibilidad de los aislados de manera rápida para redirigir el tratamiento adecuado. Si bien el valor de la CIM por dilución y difusión de la Cp resultó sensible a los antifúngicos usados en el tratamiento, es preciso no perder de vista que la gravedad del estado inmune de estos pacientes y las comorbilidades preexistentes condicionan y suelen ser independientes del correcto y rápido tratamiento.

**Palabra clave:** *Candida*- trasplante.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Fungemia por *Saprochaete clavata* en un paciente con Leucemia Linfoblástica fenotipo B.

**Merkt. M<sup>1</sup> Pennini. M<sup>1</sup> Sucari. A<sup>1</sup> Carrion. S<sup>1</sup>, Taverna. C<sup>2</sup> Bosco Borgeat . M<sup>2</sup> Damiano. C<sup>3</sup> Laborde. A<sup>3</sup>**

1 Stamboulia Laboratorio

2 ANLIS "Dr. C. Malbrán"

3 Fundaleu, CABA, Argentina.

### **Introducción**

Las infecciones fúngicas invasivas han ido en aumento en los últimos años. En pacientes con alteraciones hematológicas graves, en general son producidas principalmente por *Candida* sp (Can) y *Aspergillus* sp. Se observa un incremento de infecciones por hongos oportunistas. *Saprochaete clavata* anteriormente conocido como *Geotrichum clavatum* es una levadura que habita el medio ambiente, suelo y animales y puede encontrarse como microbiota del ser humano. Raramente causa infección, pero suelen ser de curso mortal.

### **Resumen clínico**

Presentamos el caso de un paciente masculino de 61 años, con antecedentes de tabaquismo y hemicolecotomía derecha por pólipo linfomatoso en 2013. Al momento de la consulta ingresa por estudio de bicitopenia asociado a linfocitosis cuyo resultado arroja presencia de blastos linfoides B en rango leucémico, hallazgos compatibles con compromiso por leucemia linfoblástica con fenotipo B precursor que se asocia a traslocación t (9;22)/BCR-ABL. Inicia tratamiento de inducción con el protocolo GATLA de alto riesgo. Recibe como parte del esquema de inducción asparaginasa pegilada. El paciente continua con neutropenia febril y se aíslan en hemocultivo por lisis Bactec Fx (Beckton Dickinson ®) a las 48 hs levaduras. Se observan levaduras blancas de aspecto cremoso con artroconidos, ureasa negativa. Se envía aislamiento a Centro Nacional de referencia y se identifica como *Saprochaete clavata* por secuenciación de ADN ribosomal. Inicia tratamiento empírico con anfotericina liposomal, voriconazol y meropenem. El paciente al día 8 de tratamiento evoluciona a shock de posible etiología hemorrágica, en contexto de dolor abdominal en flanco izquierdo, con caída de diez puntos del hematocrito. Se encuentra bajo soporte vasoactivo con noradrenalina, eupneico, sin oxígeno suplementario. Abdomen distendido, con dolor a la palpación en flanco y fosa ilíaca izquierda, con escasos ruidos hidroaéreos. Afebril. Vigil, con tendencia al sueño, Glasgow 14/15. No pudiendo descartar completamente un componente de shock séptico, se agregó al esquema previo linezolid, debido a aislamientos de *Staphylococcus aureus* en material de cultivo de fauces. Se deriva a cuidados intensivos. Óbito.

### **Conclusiones**

La aparición de patógenos emergentes obliga a los profesionales de la salud a estar actualizados continuamente y a considerar otros diagnósticos posibles. El principal diagnóstico diferencial es con levaduras del genero Can y *Trichosporon* sp, la diferenciación con estos patógenos radica en dirigir el tratamiento adecuado. Sin embargo, la neutropenia severa continúa siendo un importante factor de riesgo para una desfavorable evolución.

**Palabra clave:** Leucemia-fungemia-*Saprochaete clavata*

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

# HISTOPLASMOSIS DISEMINADA CON COMPROMISO ÓSEO EN PACIENTE HIV: primer reporte en Argentina

**Herrera, C<sup>1</sup>; Córdova, E<sup>1</sup>; Morganti, L<sup>1</sup>; Spadaccini, L<sup>1</sup>; Lopez Moral, L<sup>2</sup>; Arcondo, MF<sup>3</sup>; Odzak, A<sup>3</sup>; Zylberman, M<sup>3</sup>; Rodriguez, C<sup>1</sup>.**

Hospital General de agudos Dr. Cosme Argerich. CABA Buenos Aires, Argentina

1 Servicio de Infectología - 2 Laboratorio de Microbiología - 3 Servicio de Clínica médica.

**Palabras claves:** Histoplasmosis, Osteomielitis, HIV.

### Introducción

La histoplasmosis es una micosis endémica de zonas templadas provocada por el hongo dimorfo *Histoplasma capsulatum*. De las variedades que integran la especie, solo *H. capsulatum* var *capsulatum* ha sido encontrado en el continente americano. La mayoría de las infecciones son asintomáticas y las manifestaciones clínicas más frecuentes son la forma pulmonar aguda, la pulmonar crónica y la diseminada progresiva. Esta última afecta principalmente a inmunosuprimidos y compromete la piel y el sistema retículo endotelial; en menor frecuencia puede existir compromiso gastrointestinal y del sistema nervioso central. La afectación ósea, sin embargo, es sumamente infrecuente y existen escasos reportes publicados en la literatura mundial.

### Resumen clínico

Paciente masculino de 29 años peruano, con diagnóstico de HIV 5 años previos a la consulta, en TARV con FTC/TDF-LPV/r con mala adherencia y estatus inmunológico desconocido.

Consulta por astenia, fiebre, tos productiva y cefalea de 10 días de evolución.

Al examen físico se encontraba adelgazado, con mal estado general y múltiples lesiones maculo papulares en extremidades, tronco y rostro.

Se realizó laboratorio que evidenció anemia normocítica normocrómica. Punción lumbar: LCR límpido, incoloro con glucorraquia 52 mg/dl, proteinorraquia: 0.51 g/l y recuento celular de 1cel/mm<sup>3</sup>. La tinta china, el cultivo de LCR y los hemocultivos para gérmenes comunes y micobacterias fueron negativos. En estudios complementarios se evidenciaron lesiones líticas en calota, esternón y vertebras. Se aislaron levaduras intracelulares compatibles con *Histoplasma capsulatum* en biopsia cutánea, ósea y hemocultivos. Realizo 7 días de anfotericina B desoxicolato rotando luego a itraconazol VO con buena respuesta clínica.

### Exámenes complementarios

TAC de encéfalo: sin lesiones ocupantes de espacio, múltiples lesiones líticas a nivel de calota.

TAC tórax: opacidad pseudonodular en el segmento superior de la llingula, nódulos en ambos campos pulmonares y bullas subpleurales apicales derechas. Lesiones líticas en esternón y cuerpos vertebrales cervicales.

CD4 células 19 / L y carga viral de 329.000cp/ml.

LBA: cultivo negativo

Biopsia de lesión cutánea y punción de hueso: cultivo positivo para *Histoplasma capsulatum*.

### DISCUSION

La histoplasmosis diseminada se presenta casi exclusivamente en pacientes con infección por HIV/SIDA. En Argentina la co-infección con HIV es de aproximadamente 5-6% y representa la segunda micosis sistémica más frecuente en estos pacientes a pesar del uso del TARV. No está bien establecida la frecuencia de afectación de estructuras óseas por histoplasmosis ni tampoco existen series de casos que reporten dicho compromiso. No hemos encontrado en la bibliografía descripción de casos de histoplasmosis ósea en pacientes HIV en nuestro país.

### CONCLUSIÓN

La histoplasmosis diseminada es una enfermedad marcadora de SIDA y la enfermedad pulmonar es la afectación más frecuente. Si bien el compromiso óseo por histoplasmosis es infrecuente, debería ser considerado como diagnóstico diferencial de lesiones osteolíticas en pacientes HIV.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Infección fúngica invasiva en pacientes onco-hematológicos en un hospital general

**Pujato, N. Álvarez, S. Bravo, M. Requena, A. Garce, S. Margari, A.**

### **Introducción**

La infección fúngica invasiva (IFI) ha aumentado en los últimos años, dado al incremento de los pacientes sometidos a terapias inmunosupresoras y a la mejoría de los métodos diagnósticos. La elevada morbi mortalidad, a pesar del diagnóstico precoz y la disponibilidad de tratamiento antifúngico, representa una dificultad en la evolución de los pacientes, y un desafío en su manejo.

### **Objetivo**

Describir los episodios de IFI en pacientes adultos onco-hematológicos internados en un hospital general, durante un período de 9 meses.

### **Material y métodos**

Se registraron los casos de pacientes con IFI internados en el hospital, que estuvieron en seguimiento por infectología desde enero a septiembre de 2015. Se clasificaron como IFI posible, probable y probada según los criterios de la EORTC/ NIAID.

### **Resultados**

Durante el periodo estudiado se registraron 12 episodios de IFI en 10 pacientes con enfermedad onco-hematológica en tratamiento quimioterápico.

Seis pacientes tenían diagnóstico de Leucemia Mieloide Aguda (LMA), 3 de Leucemia linfática aguda (LLA) y 1 de Leucemia linfática Crónica (LLC). La edad promedio fue 35 años, la proporción de hombres y mujeres fue similar. Las localizaciones más afectadas fueron la rinosinusal y pulmonar para hongos filamentosos. La clínica fue inespecífica todos los casos, siendo la fiebre persistente, bajo tratamiento antibiótico, la forma más frecuente de presentación. En todos los casos que se sospechó IFI por hongos filamentosos en los que se tomó una conducta invasiva diagnóstica- terapéutica, hubo documentación microbiológica (4/8). En las muestras quirúrgicas se documentó *Aspergillus flavus*, *Rhizopus sp*, *Alternaria spp* y *Fusarium spp* respectivamente. En 2 pacientes P jirovecci en lavado bronquialveolar y, en 2 *Candida albicans* en hemocultivos. Cinco pacientes fallecieron, 4/10 lo hicieron dentro de los 30 días del diagnóstico. Los pacientes que presentaron buena evolución se encuentran en tratamiento oncohematológico.

### **Conclusión**

La IFI es una entidad a tener en cuenta en pacientes onco hematológicos febriles luego de la quimioterapia. Es importante obtener un diagnóstico microbiológico preciso ya que la clínica es específica y la interpretación de la sensibilidad antifúngica no es homogénea para los distintos géneros y especies. Si se adoptan medidas invasivas el rédito diagnóstico es alto. Esta entidad constituye una complicación con elevada mortalidad por lo que el tratamiento adecuado y precoz es prioritario.

**Palabras claves:** infección fúngica invasiva quimioterapia

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Correlación de la susceptibilidad in vitro y virulencia in vivo en *Galleria mellonella* de aislados clínicos de *Candida glabrata*.

**Degeri C.D<sup>1</sup>, Palma C.A<sup>1</sup>, Silva V.I<sup>1</sup>, Silva V.E<sup>1</sup>, Fernández-Silva F.V<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Medicina.

<sup>2</sup> Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias, Universidad Mayor, Santiago, Chile.

**Palabras claves:** *Candida glabrata*, *Galleria mellonella*, virulencia

### Introducción

*Candida glabrata* ha emergido como una de las especies de *Candida* no-*albicans* con un potente rol patógeno oportunista y emergente. Destaca por su complicado tratamiento debido a la resistencia adquirida a los triazoles, como el fluconazol. Actualmente, las equinocandinas son terapia de primera línea para la candidiasis invasiva causada por esta especie. Sin embargo, resistencia a esta droga ha sido reportada, generando escasez de alternativas terapéuticas. Establecer su patrón de sensibilidad acorde con los nuevos puntos de corte, es importante para llegar a determinar un tratamiento dirigido y efectivo que evite la generación de cepas resistentes. Hasta el momento no se ha determinado si los patrones de susceptibilidad están asociados a una mayor virulencia en los aislados provenientes de pacientes con infección invasiva, lo cual podría favorecer el proceso infeccioso disminuyendo la eficacia de la terapia antifúngica

### Objetivo

Determinar la sensibilidad in vitro a diferentes drogas antifúngicas y evaluar la virulencia in vivo de cepas de *Candida glabrata* aisladas de infección invasora en un modelo de *Galleria mellonella*.

**Materiales y métodos:** se estudiaron 24 cepas de *C. glabrata* identificadas mediante métodos fisiológicos y bioquímicos. Se evaluaron 6 fármacos antifúngicos (fluconazol, voriconazol, posaconazol, caspofungina, micafungina y anfotericina B) con el fin de determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de cada uno de ellos contra *C. glabrata* mediante microdilución en caldo (M27-A3) y disco difusión (M44-A2) descritos por el Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) y tabletas ROSCO. La virulencia se evaluó mediante estudios de supervivencia, carga fúngica e histopatología en larvas de *Galleria mellonella* infectadas con cepas de *C. glabrata* con un inóculo de  $5 \times 10^7$  UFC/ml.

### Resultados

Los azoles fluconazol y voriconazol mostraron en general una baja actividad in vitro. Sin embargo, posaconazol fue la droga más efectiva con una CIM promedio de  $1 \mu\text{g/ml}$ . Las equinocandinas mostraron una buena actividad antifúngica siendo la anidulafungina la más efectiva con una CIM de  $0,25 \mu\text{g/ml}$ . Caspofungina presentó una CIM media de  $0,5 \mu\text{g/ml}$ . Con respecto a anfotericina B su actividad antifúngica in vitro fue  $2 \mu\text{g/ml}$ .

En el estudio de supervivencia las cepas de *C. glabrata* estudiadas presentan una baja virulencia en general, causando mortalidades menores al 40% con la excepción de la cepa UM-424, la cual causó un 90% de mortalidad. Además se pudo determinar y evaluar mediante carga fúngica e histopatología que *C. glabrata* es capaz de proliferar en el hemocele de la larva evadiendo el accionar inmunoprotector de los hemocitos.

### Conclusiones

Nuestros resultados indican que a pesar de obtener una reducida susceptibilidad in vitro para los azoles, las cepas de *C. glabrata* estudiadas no son virulentas, por ende no existe una correlación entre la susceptibilidad estudiada in vitro con respecto a la virulencia demostrada in vivo.

### Financiamiento

Proyecto FIDUM 100726, Universidad Mayor, Santiago, Chile

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

# Mucormicosis en un paciente con infección por VIH.

**López T 1., Marks R2.**

1 Departamento de Enfermedades Infecciosas del Adulto. Red Salud UC CHRISTUS. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago-Chile.

2 Unidad de Paciente Crítico. Clínica INDISA. Santiago-Chile.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Candidemia y fusariosis diseminada de brecha en paciente con leucemia mieloide aguda y neutropenia severa.

**MENDEZ, G.A.<sup>1</sup> NIVEYRO, C.<sup>1</sup> BERNARD, H.I.<sup>2</sup> SOSA V.M.E.<sup>3</sup> VILLALBA, C.V.<sup>4</sup>**

Institución: Hospital Escuela de Agudos Dr. Ramón Madariaga (HEARM), Posadas - Misiones, Argentina.

1. Servicio de Infectología.

2. Servicio de Hematología.

3. Laboratorio Central de Misiones (LACMI).

4. Servicio de Bacteriología.

### **Introducción**

Las infecciones fúngicas invasivas (IFI) son producidas en general por *Cándida* y *Aspergillus* sp. Otros hongos están aumentando su frecuencia entre ellos: *Fusarium* sp. hongo filamentoso, hialino, septado que pertenece al grupo de hialohifomicosis. Las infecciones diseminadas se presentan en pacientes oncohematológicos (OH) que reciben quimioterapia (QT) mielosupresora. Reportamos un paciente con leucemia mieloide aguda (LMA) con candidemia y posterior fusariosis diseminada de brecha.

### **Resumen clínico**

Hombre 17 años que ingresó al HEARM con diagnóstico de LMA M2. Por fiebre en contexto de neutropenia funcional, se tomaron hemocultivos x2 frascos (HC) y se realizó TC de tórax que informó consolidación parenquimatosa de lóbulo inferior derecho con broncograma aéreo sin derrame pleural e inició cefepime cubriendo foco pulmonar. Día +6 persistía con registros febriles diarios, se repitieron HC y se progresó esquema empíricamente a imipenem + vancomicina + micafungina. En 2 de 2 frascos de HC desarrolló *Cándida* sp. (no *albicans*, no *krusei*, no *tropicalis*) continuó con micafungina como cobertura antifúngica e imipenem. Se colocó catéter venoso central (CVC) e inició QT con citarabina 200mg/m<sup>2</sup> + mitoxantrona 12mg/m<sup>2</sup>. Biopsia de médula ósea día +14 pos-QT con >50% blastos, diagnóstico LMA refractaria a inducción, inició citarabina + idarrubicina. Día +5 de reinducción fiebre, signos de infección en CVC y lesión equimótica en pierna izquierda secundaria a traumatismo. HCx2 negativos, punta CVC con *Staphylococcus coagulasa* negativo punción de partes blandas negativa. En 24 horas nuevas lesiones en piel en MMS, cara y tronco; dolorosas, con centro necrótico y halo eritematoso. Se tomaron nuevos HCx2 con desarrollo de levaduras y pseudomicelios y biopsia de piel. Una nueva TC de tórax demostró consolidación parenquimatosa en ambos lóbulos inferiores, múltiples nódulos bilaterales, bordes difusos <1cm diámetro. Se rotó esquema antifúngico a anfotericina liposomal 5mg/kg/día asociado a vancomicina y colistina. En el día +4 del nuevo esquema antibiótico y antifúngico el paciente falleció. La biopsia de piel y los HC desarrollaron *Fusarium solani* complex especie complex (realizado en el Instituto Malbrán, Departamento de Micología).

### **Discusión y diagnósticos diferenciales**

*Fusarium* sp. en pacientes (OH) produce cuadros diseminados con mortalidad 70 al 100%. La neutropenia prolongada y severa es el principal factor de riesgo. Lesiones en piel constituyen una de las puertas de entrada. La presencia de lesiones eritematosas máculo-papulares con ulceración central y escara necrótica (como nuestro paciente) es la más común. Se debe hacer diagnóstico diferencial con *Cándida* y *Aspergillus*. El tratamiento de primera línea es: voriconazol, anfotericina B o posaconazol. En pacientes con especies resistentes o que no responden se sugiere la terapia antifúngica combinada.

### **Conclusiones**

*Fusarium* sp. es causa de IFI poco frecuente e importante. Este caso resalta el mal pronóstico a corto plazo de esta infección en pacientes neutropénicos y la necesidad de iniciar terapia antifúngica empírica temprana cuando lesiones en piel sugestivas.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Lesión ocupante de espacio cerebral en paciente con sida

**Messina F., Vázquez E., Santiso G., Arechavala A., Metta H., Negroni R., Benchetrit A. Romero M., Corti M.**

Hospital de Enfermedades Infecciosas F J Muñoz, C.A.B.A. Argentina.

### **Introducción**

Entre las principales causas de masa cerebral en enfermos con sida se encuentran las lesiones producidas por toxoplasmosis, linfomas, tuberculosis y enfermedad de Chagas. Es una práctica habitual iniciar tratamiento empírico para *Toxoplasma gondii* en enfermos con antecedentes de deterioro de la inmunidad celular acompañado por síntomas y signos de masa ocupante cerebral. Esto expresa una manifiesta dificultad para llegar al diagnóstico de certeza en la mayoría de los casos.

### **Objetivo**

Dar a conocer un caso de masa ocupante cerebral por un agente etiológico poco frecuente.

### **Resumen clínico**

Paciente de 42 años de edad, de sexo masculino, nació y vivía en Don Torcuato provincia de Buenos Aires. Estaba infectado con HIV desde hacía 6 años y en el momento de la consulta no recibía tratamiento específico. Consultó por fiebre, pérdida de peso, tos seca y disnea CF I/II. Evolucionó 48 h posteriores a la consulta con cefalea frontal y vómitos. Continuó lúcido, sin foco motor ni meníngeo. Cuatro días más tarde presentó una convulsión tónico-clónica.

### **Exámenes complementarios**

Hto. 33%, leucocitos: 6700/ $\mu$ l, GOT 116 U/l, GPT 150 U/l glucemia 224 mg/dl, LDH: 759 U/l, linfocitos T CD4+ 8/ $\mu$ l (1%). Radiografía de tórax normal. Tomografía de cerebro sin hallazgos patológicos. Fondo de ojo normal. Punción lumbar: presión de apertura 16 cm de H<sub>2</sub>O, células 6/ $\mu$ l, glucosa 207 mg/dl, proteínas 0.35 mg/dl, tinta china negativa. Antigenorraquia para *Cryptococcus* negativa, cultivo micológico negativo. Cultivo bacteriológico de LCR negativo; baciloscopia negativa. PCR en LCR para E.Barr, CMV, Herpes simplex I y II, HHV-6 y JC negativos.

Se realizó resonancia magnética de cerebro y macizo facial en las cuales se visualizó una imagen nodular frontal con realce en anillo y compromiso de celdillas etmoidales y seno esfenoidal. Seno maxilar izquierdo ocupado.

Se tomó biopsia del seno maxilar y etmoidal y en el examen en fresco se observaron hifas hialinas tabicadas y en el cultivo desarrolló *Aspergillus flavus*. Se indicó voriconazol y anfotericina B, más resolución quirúrgica. En el examen con calcoflúor del material quirúrgico se observaron hifas tabicadas. Dos días después el paciente falleció.

### **Discusión y diagnósticos diferenciales**

Las lesiones ocupantes de espacio a nivel cerebral en pacientes con inmunodeficiencia asociada al sida, suelen vincularse a toxoplasmosis, tuberculosis, Chagas o nocardiosis. Cuando se presentan por invasión por contigüidad desde los senos maxilares, etmoidales o esfenoidal deben considerarse como etiologías posibles a la mucormicosis y a la aspergilosis.

### **Conclusiones**

Las micosis invasoras por hongos filamentosos suelen ser más frecuentes en pacientes neutropénicos y trasplantados pero deben tenerse en cuenta en enfermos con sida, principalmente si se presentan con hiperglucemias. En enfermos con estas características, con tomografía de cerebro y líquido cefalorraquídeo normal, deben ser evaluados los senos paranasales.

**Palabra clave:** lesión cerebral, Aspergilosis.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Eumicetoma por madurella grisea en un paciente trasplantado renal

**S. Lezcano<sup>1</sup>, M. Bangher<sup>1</sup>, L. Soler Puy<sup>1</sup>, S. Maurich<sup>1</sup>, A. Aguerre<sup>1</sup>, M. Sosa<sup>2</sup>**

1. Instituto Cardiología Corrientes

2. Laboratorio Central Corrientes

### **INTRODUCCION**

Los micetomas son infecciones granulomatosas crónicas, producidas por hongos (eumicetoma) o bacterias (actinomicetoma). Ocurren principalmente en regiones tropicales y subtropicales. La vía de penetración es traumática (mediante espinas, astillas, ramas, etc). Se describe el caso de un eumicetoma doble, en pierna y mano derecha por *Madurella grisea* en un paciente trasplantado renal.

### **RESUMEN CLINICO**

Paciente agricultor, trasplantado renal en 2011, medicado con mofetilmicofenolato 720 mg, tacrolimus 2mg, y prednisona 8 mg. En abril consulta por lesión nodular de 2 cm en tercio distal de pierna derecha, con secreción caseosa, no dolorosa de 1 mes de evolución, medicado con levofloxacina durante 7 días sin mejoría. Ecográficamente lesión nodular solida, 2x1x1,5 cm en tejido celular subcutáneo (TCS), se realiza excéresis total en junio con informe anatomopatológico: PAS reconoce hifas micóticas con tabiques engrosados y esporas. Formación granulomatosa micótica. No se envía muestra a cultivo. A fines de junio presenta nueva lesión de 3x2 cm en dorso de mano derecha, no dolorosa. RNM: formación ovoidea multiseptada en TCS entre la base del III y IV dedo de 2,5 x 3 cm, sin infiltración de músculos extensores. Estructuras óseas conservadas. PAAF de mano derecha: elementos micóticos compatible con *Madurella grisea*. Se inicia tratamiento con itraconazol 400 mg/ día.

### **DISCUSION**

Los micetomas son procesos inflamatorios crónicos, granulomatosos y supurativos que producen nódulos, abscesos, zonas de fibrosis y trayectos fistulosos que drenan secreción purulenta con granos de colores y dimensiones variables (micro-colonias del agente causal). Su agente etiológico son los hongos dermatiaceos distribuidos en la naturaleza y bacterias filamentosas aerobias.

Los micetomas micóticos o pie de madura presentan mayor prevalencia entre los 30° de latitud norte y los 15° de latitud sur, pese a que la Argentina no está comprendida dentro de esta región se han reportado casos en pacientes inmunocompetentes. Los principales causantes son: *Madurella mycetomatis*, *Madurella grisea*, *Exophiala jeanselmei*, *Scedosporium apiospermum*, entre otros. La vía de penetración muchas veces pasa inadvertido. Comprometen piel, tejidos blandos, huesos y articulaciones, siendo las áreas más afectadas las extremidades. Según la bibliografía, el compromiso óseo se da en el 60-70% de los casos produciendo zonas de osteolisis, de bordes nítidos y en ocasiones solo detectados por RNM o TAC de alta resolución, hecho importante porque influye en la duración del tratamiento.

El tratamiento suele ser combinado: procedimiento quirúrgico conservador y compuestos azólicos: de elección Itraconazol 400 mg/día por 7 a 18 meses. La cirugía conservadora es indicada en micetomas sin lesiones óseas o confinadas a un solo hueso. En general, las infecciones por *M. grisea* responden mejor al tratamiento antifúngico que los ocasionados por los restantes agentes.

### **CONCLUSIONES**

En pacientes inmunosuprimidos como los pacientes trasplantados, toda lesión debe ser procesada para cultivo y anatomía patológica ya que las posibles etiologías son múltiples. El interrogatorio epidemiológico es clave para orientar el diagnóstico. En pacientes con ocupaciones de riesgo, es fundamental la educación pre y post trasplante

**PALABRAS CLAVES:** Micetoma, *Madurella grisea*, Inmunosupresión, Trasplante.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Histoplasmosis cutánea en pacientes pediátricos

**Ensinck G. Romagnoli A. Maccario M. Zimmermann M. Galicchio M. Lopez Papucci S. Celina Sinkevich**

### **Introducción**

La histoplasmosis es una afección endémica de muchos países de América, África, India y Lejano Oriente. El *H. Capsulatum* es un saprofito ambiental que puede aislarse del suelo, especialmente contaminado con excremento de aves y murciélagos. La enfermedad se adquiere por inhalación de esporas. Aunque cualquier persona la puede adquirir se produce una infección diseminada distintiva en pacientes con enfermedades que afectan la capacidad inmunitaria celular, como inmunodeficiencias congénitas o adquiridas. Las lesiones de la piel pueden ser resultado de la formación de inmunocomplejos en la infección primaria (eritema multiforme) o de la diseminación desde los pulmones, rara vez pueden desarrollarse por inoculación en la piel.

### **Objetivos**

Describir 3 casos clínicos de histoplasmosis en pacientes pediátricos con inmunodeficiencias congénitas y adquiridas.

**Caso clínico 1-** Paciente de 11 años de edad de sexo femenino con antecedentes maternos de histoplasmosis y candidiasis bucal y vaginal recurrente e hipotiroidismo de difícil control. Antecedentes personales de candidiasis desde el nacimiento, histoplasmosis pulmonar a los 5 años de edad e hipotiroidismo. Consulta por un cuadro de 4 meses de evolución de lesiones micropapulares foliculíticas a nivel facial. Biopsia cutánea: anatomía patológica compatible con elementos micóticos vinculables a *H. capsulatum*. Estudio inmunológico mutación STAT 1.

**Caso Clínico 2-** paciente de 10 años de edad, sexo masculino, SIDA C3 (transmisión vertical) con mala adherencia al tratamiento antirretroviral y escasos controles en los últimos años. Consulta por un cuadro de decaimiento, fiebre, tos e hiporexia y lesiones papulares pruriginosas diseminadas a predominio de cara y otras vasculíticas en miembros superiores e inferiores. Biopsia cutánea: anatomía patológica y cultivos compatibles con *H. Captulatum*. Estudio inmunológico CD4 123 (14%).

**Caso Clínico 3-** paciente de 15 años de edad, sexo femenino, SIDA C3 (transmisión vertical), con escasos controles y mala adherencia al tratamiento antirretroviral. Consulta por un cuadro de fiebre, decaimiento, hiporexia, dificultad respiratoria moderada. Lesiones cutáneas de tipo vasculíticas con centro necrótica a predominio de cara. Biopsia de lesión cutánea: extensa necrosis dérmica e hipodérmica con elementos compatibles con *H. capsulatum*. CD4 30 (1,5%).

### **Conclusión**

La histoplasmosis cutánea puede manifestarse con diferentes presentaciones clínicas en pacientes inmunodeficientes y debe ser pensada cuando los mismos son provenientes de zonas endémicas. La histoplasmosis cutánea suele ser una manifestación de la histoplasmosis diseminada, ya que las formas puramente cutáneas son excepcionales. La importancia de un diagnóstico precoz es fundamental y por ello en caso de existir afectación cutánea la realización de un estudio citológico o histopatológico permite orientar el diagnóstico e iniciar precozmente el tratamiento adecuado.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Infecciones Fúngicas Invasivas (IFI) en pacientes con trasplante hepático: experiencia de 5 años en un centro de Argentina

**MV Pinoni<sup>1</sup>, S Villamandos<sup>1</sup>, PL Giorgio<sup>1</sup>; JV Martinez<sup>1</sup>; S Verbanaz<sup>1</sup>; R Jordán<sup>1</sup>; M Gazari<sup>2</sup>; ED Efrón<sup>1</sup>.**

1 Servicio de Infectología.

2 Servicio de Trasplante Hepático .Hospital Británico. CABA. Argentina.

**Introducción:** Las infecciones fúngicas invasivas (IFI) luego del trasplante hepático son frecuentes, y se asocian con elevada morbimortalidad. La incidencia de IFI varía del 7 al 42% con una mortalidad asociada del 30 al 90% dependiendo del agente etiológico. La candidiasis invasora es la IFI más frecuente con una incidencia del 2 al 8% seguida por la aspergilosis. En relación a los tiempos de aparición de las IFI la candidiasis y la aspergilosis suelen presentarse en forma precoz en el primer trimestre post trasplante, aunque se han descrito aspergilosis de aparición tardía más allá del año. La criptococosis suele manifestarse luego del año postrasplante de órganos sólidos, aunque suele ocurrir antes del año en trasplantes de hígado y pulmón. Las histoplasmosis en estos huéspedes son comparativamente más raras y se presentan habitualmente en los primeros 2 años postrasplante (entre algunos meses y varios años).

**Objetivo:** Evaluar la incidencia de IFI post trasplante hepático, y el tiempo transcurrido antes del diagnóstico microbiológico, en un hospital de Buenos Aires, Argentina.

**Material y método:** Se revisaron en forma retrospectiva todos los trasplantados hepáticos desde agosto 2010 hasta marzo 2015. De 134 trasplantes hepáticos en 130 pacientes, se detectaron 9 episodios de IFI en 8 pacientes. Se evaluaron variables demográficas, algunas variables relacionadas al trasplante, las relacionadas a la IFI (etiología, días transcurridos antes del diagnóstico microbiológico, características clínicas, mortalidad atribuible), y la mortalidad global de la muestra.

**Resultados:** Se estudiaron 9 episodios de IFI en 8 pacientes. Todos los donantes fueron cadavéricos. Ninguna infección fue transmitida por el donante. La Mediana de MELD 23 (12-37). Motivo de trasplante en todos los casos fue cirrosis (4 por HCV, 2 criptogénicas, 1 por CBP, 1 alcohólica). La edad promedio fue 63 años. 5 fueron hombres y 3 mujeres. Las tres candidiasis y 2 de 3 aspergilosis se presentaron en el primer trimestre post trasplante, las criptococosis entre el 5 y 6 mes, y la histoplasmosis casi tres años post trasplante. La mortalidad global fue del 37%, en ningún caso atribuible a la IFI.

Nº Episodio	Edad	sexo	Etiología	Días posTx	Compromiso clínico
1	61	m	C. albicans	82	Candidemia
2	69	f	C. albicans	15	Candidemia
3	64	f	C. krusei	15	IAC
4	63	m	Histoplasma capsulatum	972	Diseminada
5	62	m	Aspergillus spp	316	Pulmonar
6	60	f	Aspergillus spp	45	Pulmonar
7	69	m	Aspergillus spp	67	SNC
8	37	m	C. neoformans	183	Diseminada
9	69	f	C. neoformans	154	Meningitis

**Conclusiones:** En nuestra serie el 6.7% de los trasplantes hepáticos presentaron una IFI. Candida spp y el Aspergillus spp fueron los dos agentes más frecuentemente documentados, aunque no hemos notado la predominancia de Candida spp descrita en otras series probablemente por las políticas de profilaxis implementadas. En cuanto al tiempo transcurrido desde el trasplante hasta el diagnóstico de la IFI, los tiempos observados en nuestra serie son similares a los datos previamente reportados en la bibliografía consultada.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Variedades predominantes de *Cryptococcus neoformans* y formación de biopelículas en pacientes con trasplante de órgano sólido

**Fernandez A<sup>1,2</sup>, Ariza Y<sup>1</sup>, Jewtuchowicz VM<sup>1</sup>.**

1 Centro de Micología. IMPaM, UBA-CONICET. Dpto. Microbiología, Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina, UBA

2 laboratorio bacteriología, Fundación Favaloro. Bs As. Argentina.

La criptococosis es una enfermedad fúngica oportunista causada por levaduras capsuladas del género *Cryptococcus*. El gen CAP59 está implicado en la síntesis de la cápsula y es de utilidad en la identificación molecular de sus serotipos. En nuestro medio, poco se conoce acerca de los serotipos circulantes en relación a infecciones post trasplante de órganos. Como otras levaduras formadoras de biopelículas sobre dispositivos médicos protésicos, *Cryptococcus* las biopelículas desarrolladas son resistentes a antifúngicos y a los mecanismos de defensa del hospedero causando significativa mortalidad. El incremento en el uso de técnicas de derivación ventrículo-peritoneal (shunts), para el tratamiento de la hipertensión intracraneal asociada a la meningoencefalitis por *Cryptococcus*, justifica la importancia de investigar la formación de biopelículas en estos microorganismos.

**Objetivo:** estudiar las variedades de *Cryptococcus* predominante en pacientes con criptococosis post trasplante de órgano sólido y optimizar la producción de biopelículas in vitro de los aislamientos.

**Materiales y métodos:** en este estudio preliminar se analizaron 21 aislamientos de *C. neoformans* recuperados de pacientes con criptococosis en paciente post trasplante de órgano. Las levaduras se identificaron con métodos fenotípicos y moleculares. Para la identificación de las variedades *neoformans* y *grubii*, se utilizó la amplificación de la región conservada del gen de la cápsula CAP59 seguido de digestión enzimática (Siachoque 2010). Las biopelículas se estudiaron en microplacas con caldo YPD (extracto de levadura, peptona y glucosa) y se tiñó con cristal violeta al 1% (Danese et al. 1990). Las absorbancias (Abs), se obtuvieron por lectura espectrofotométrica a 595. Se calculó el índice FEB (Niu y Gilbert 2004), como clasificación semicuantitativa de la capacidad de formación de biopelículas. Se revisaron las historias clínicas de los pacientes.

**Resultados:** *C. neoformans* var. *Grubii* fue predominante. El procedimiento optimizado para estudiar biopelículas en estas levaduras, permitió hallar que los aislamientos de *Cryptococcus neoformans* estudiados fueron alto formadores de biopelículas in vitro.

**Conclusiones:** la RFLP permitió identificar las variedades de *Cryptococcus neoformans* hallados en pacientes post trasplantes. La biopelícula cumple un papel importante en la patogenia fúngica, nuestro estudio preliminar contribuye al conocimiento de la epidemiología y la patogenia de las levaduras de *C. neoformans* en pacientes con trasplante de órgano sólido en nuestro medio.

Este trabajo fue financiado por el Subsidio UBACyT 20020120200119.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Candidiasis diseminada crónica en pacientes pediátricos con Leucemia

**Martiren S., Gomez S., Pérez MG., Inda L., Taicz M1; Pabon N; Felice M; Santos P., Bologna R.**  
Hospital de pediatría J P Garrahan

**Introducción:** La candidiasis diseminada crónica (CDC) es una causa de síndrome febril en pacientes con neutropenia prolongada.

### **Objetivos**

Describir las características epidemiológicas de pacientes con CDC y leucemia en nuestro medio y compararlos con pacientes con leucemia sin CDC. Analizar factores de riesgo para CDC. Determinar la evolución de la incidencia de CDC en los últimos 9 años.

### **Material y Métodos**

Estudio de cohortes retrospectivo. Se incluyeron pacientes con leucemia y neutropenia febril, y se evaluó la incidencia y factores de riesgo para desarrollar CDC. Se comparó la incidencia de CDC en los nuevos diagnósticos de leucemia de los últimos 9 años en tres períodos: 1) 2007-2009, 2) 2010-2012 y 3) 2013-2015. Los datos fueron analizados utilizando STATA 8.0. Las variables continuas se expresan como mediana y rango intercuartil (RIC) y los datos de frecuencia se describen como porcentajes.

### **Resultados**

Se enrolaron 367 pacientes, de los cuales 26 presentaron diagnóstico de CDC durante el seguimiento. Los niños con CDC tuvieron una mediana de edad de 64 meses (RIC 31-83). El 58% (n=15) fueron varones. La leucemia linfoblástica aguda fue el diagnóstico más frecuente (n=16, 61,5%). Todos habían recibido quimioterapia y antibiótico-terapia previamente y el 77% (n= 20) corticoides. El 77% (n= 20) portaba catéter de larga permanencia. La mediana de duración de la neutropenia fue de 12,5 días (RIC 9-22). Un 80% (n=21) presentó foco inicial, siendo la infección asociada a catéter y la embolia séptica en piel los más frecuentes. Se obtuvo aislamiento microbiológico en el 54% de los casos (n=14), siendo *Cándida tropicalis* (n=7) la más frecuente. Sólo un paciente se encontraba neutropénico al momento del diagnóstico por imágenes. El 73% (n=19) tuvo compromiso hepático y 73% (n=19) esplénico. La afectación renal, pulmonar y ocular fue menos frecuente. Los antifúngicos más utilizados fueron Anfotericina B complejo lipídico y deoxicolato (n=16) y Fluconazol (n=20). La mediana de duración de tratamiento endovenoso fue de 24 días (RIC 14-42). Todos recibieron tratamiento vía oral mientras duró el tratamiento quimioterápico. Tres pacientes requirieron resolución quirúrgica (esplenectomía, vitrectomía)

Al comparar pacientes con y sin CDC, no se observó diferencia significativa en edad y sexo. Los pacientes con CDC presentaban menos frecuentemente foco de infección inicial (OR 0,3 IC 0,1-0,8 p=0,01), y más frecuentemente fiebre >5 días (OR 3,8 IC 1,7-8,7 p=0,01) y duración de la neutropenia >7 días (OR 3,5 IC 1,5-8,3 p 0,001).

La incidencia de CDC cada 1000 nuevos diagnósticos de leucemia fue 14,6 en el periodo A, 18.4 en el B y 59.8 en el C (p=0,003 para toda la comparación).

### **Conclusiones**

La CDC es una entidad poco frecuente, sin embargo su incidencia se encuentra en aumento. Se debe sospechar en pacientes con neutropenia y síndrome febril prolongado.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Infección de sistema nervioso central por *Cryptococcus gattii* en paciente inmunocompetente: desafíos diagnósticos y terapéuticos en un Centro Terciario de Referencia de Paciente Internacional en Santiago de Chile.

**Solar S , Diaz V, Rosas R, Valenzuela S, Pires Y, Diaz M.C, Noriega L.M, Porte L, Weitzel T, Thompson L.**

Facultad de Medicina Clínica Alemana - Universidad del Desarrollo , Clínica Alemana de Santiago.

*Cryptococcus* es una levadura encapsulada, ubicua, se transmite por vía inhalatoria , causante de infección en pacientes inmunosuprimidos. Existen reportes de infección de sistema nervioso central en pacientes inmunocompetentes por *Cryptococcus* spp, en especial *C. gattii* circunscrito a áreas geográficas determinadas.

**Objetivo:** Presentar primer caso alóctono de infección del sistema nervioso central por *Cryptococcus gattii* en Chile.

**Caso clínico.** Paciente masculino , 48 años, natural y procedente de Bolivia, con 1 año de trastornos del habla intermitente, alucinaciones simples, parálisis facial, trastorno de marcha, temblor grueso generalizado y pérdida progresiva de funcionalidad hasta postración, baja de peso de 10 kilos en 5 meses. Inicia estudio por neurología ante demencias subaguda. Al examen físico destaca pensamiento desorganizado, trastornos severos de memoria, praxis e ideación, temblor difuso intenso y reflejo plantar indiferente a derecha. Fondo de ojo normal. Estudio de laboratorio general dentro de límites normales. Niveles de vitamina B12 normal. ELISA VIH y VDRL negativo. EEG normal. RMN de cerebro con atrofia cerebral, infiltración leptomenígea supra e infratentorial inflamatoria, quistes periventriculares e infarto lacunar antiguo en brazo posterior de cápsula interna izquierda. Punción Lumbar(PL) : LCR claro, glicemia 5mg/dl, ph: 8 y proteínas 788, células 35 por mm<sup>3</sup>, 97% mononucleares, con estudio negativo para micobacterias y Tinta China. En segunda PL : Antígeno para *Cryptococcus* positivo 1/64 y cultivo LCR positivo para *Cryptococcus* sp. Con diagnóstico de meningitis crónica por *Cryptococcus* sp y criptococoma en paciente inmunocompetente, inicia Amfotericina B liposomal, y posteriormente fluconazol 800 mg/día vo; con Cultivos de LCR negativos, retorna a su país. Al mes 4 de tratamiento reconsulta por cefalea, trastorno de marcha y empeoramiento de estado mental. En LCR persiste hipogluorraquia severa, antígeno de *Cryptococcus* 1/1024 y RMN cerebro evidencia mayor hidrocefalia y crecimiento de lesiones químicas. Tras 13 días de amfotericina B liposomal ev, se cambia a fluconazol ev por nefrotoxicidad. Se realiza Tercer ventrículo cisternostomía endoscópica guiada por Neuronave, resolviendo hidrocefalia y se obtienen biopsias de epéndima de aspecto granulomatoso difuso, con confirmación histológica de infiltración por *Cryptococcus*. El aislamiento de *C. gattii* se confirma en agar canavanina-glicina-azul de bromotimol y secuenciación en laboratorio de referencia.

**Conclusiones:** La infección de SNC por *Cryptococcus* afecta esporádicamente a inmunocompetentes. Por su curso de evolución subaguda y bajo índice de sospecha, el diagnóstico puede tardar meses en confirmarse y tener un mal pronóstico, con secuelas funcionales severas y alta mortalidad. La hidrocefalia es una de las complicaciones y ante persistencia de infección, las válvulas derivativas suelen obstruirse. Intervenciones mínimamente invasivas pueden constituir alternativas terapéuticas en este escenario. Brotes en Norteamérica y Oceanía por *C. gattii* en pacientes inmunocompetentes han llevado a un conocimiento más profundo de la infección en hospederos sin factores de riesgo predisponentes. Sudamérica no está exenta de la aparición de casos y debe tenerse en cuenta en el diagnóstico diferencial, constituyendo un desafío contar con métodos de confirmación y registros epidemiológicos adecuados en áreas de recursos limitados.

#### 4. Infecciones en huéspedes inmunocomprometidos

## Virulencia de hongos levaduriformes recuperados de mucosa oral en pacientes oncológicos con candidiasis. Comparación con otras poblaciones.

**Bulacio, L.<sup>1,2,3</sup>; Sortino M.<sup>1</sup>; Puigdomenech G.<sup>3</sup>; Dalmaso H.<sup>1</sup>; Escovich L.<sup>5</sup>; Racca L.<sup>4</sup>; López C.<sup>1</sup>; Ramón S.<sup>1</sup>**

1 Centro de Referencia de Micología - Facultad de Ciencias Bioquímicas, Universidad Nacional de Rosario.

2 Universidad Católica Argentina. 3ISPI 9009 - Rosario.

4 Area Estadística - Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas-UNR.

5 Cátedra de Estomatología. Facultad de Odontología. UNR. lcbulacio@hotmail.com

La colonización y las infecciones con levaduras del género *Candida* son muy comunes en pacientes con radioterapia por cáncer de cabeza y cuello, y pueden evolucionar a formas graves, dependiendo de factores propios del hospedero y de características de los hongos. Por ello es fundamental el conocimiento de los factores de virulencia de las levaduras integrantes de la microbiota, para predecir y prevenir su comportamiento.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la diferencia en la expresión de ciertos factores de virulencia en hongos levaduriformes recuperados de pacientes oncológicos en tratamiento con terapia radiante, en comparación con levaduras provenientes de pacientes no oncológicos con candidiasis, y levaduras de microbiota habitual de boca. Se evaluó la capacidad de producción de biopelícula y la presencia de actividad de enzimas (fosfolipasas, proteinasas, hemolisinas, y una batería de enzimas semicuantificables con el equipo API ZYM -biomerieux®) como factores de virulencia en aislamientos de levaduras recuperadas de tres grupos de estudio: pacientes con cáncer de cabeza y cuello en tratamiento con radioterapia con signos de candidiasis oral (RT) (N= 76), pacientes no oncológicos lesiones compatibles con candidiasis oral (CO) (N=150), e individuos voluntarios sanos (VS) (N=140). En cuanto a factores asociados a virulencia de los aislamientos, la proporción de cepas con alta actividad fosfolipasa fue significativamente mayor en los grupos RT y CO, que en VS ( $p < 0,01$ , test  $\chi^2$ ). Si bien proporción de pacientes con actividad proteinasa fue mayor en pacientes CO, la diferencia de los valores de la mediana del índice de dicha actividad no fue estadísticamente significativa ( $p > 0,50$ -Test de Kruskal-Wallis). La actividad hemolítica fuerte fue significativamente más frecuente en cepas de pacientes RT y CO, que en las de VS ( $p < 0,005$ - Test  $\chi^2$ ). Con respecto a otras enzimas, no hubo una única tendencia. Se presentó asociación significativa ( $p < 0,01$  Test  $\chi^2$ ) entre actividad lipasa C14 y estado de salud, siendo más frecuentemente detectada en cepas del grupo RT. La fosfatasa alcalina presentó mayor actividad en pacientes con RT y CO, que en VS. La esterasa lipasa C8, fue más frecuente en levaduras de VS y RT, que en pacientes CO. La única enzima detectada con mayor actividad en aislamientos de VS que de pacientes fue la N-acetil  $\beta$ -glucosaminidasa. Se observó asociación marginalmente significativa ( $p < 0,10$  - test de Fisher) entre intensidad de la biopelícula formada por las cepas productoras, y el origen de las mismas, mostrando biopelícula más débil las cepas de levaduras recuperadas del grupo RT.

De nuestro estudio puede concluirse que no se puede asociar un único perfil de expresión de factores de virulencia de los aislamientos, al estado de salud del hospedero en estudio. Numerosos factores involucrados en la relación hospedero - parásito, interactuarán continuamente, ocasionando que los microorganismos oportunistas permanezcan como microbiota comensal, o desarrollen astenomicosis.

# **5. Infecciones intrahospitalarias producidas por hongos**

## 5. Infecciones intrahospitalarias producidas por hongos

# Epidemiología de la candidemia en Colombia: Resultados de la Red Latinoamericana de Micosis Invasivas

**Cortés JA, Ariza B, Reyes P, Gómez CH, Rosso F, Montañez AM, Nucci M, Queiroz- Telles F, Alvarado Matute T, Tiraboschi IN, Zurita J, Guzman Blanco M, Santolaya ME, Thompson L, Sifuentes- Osorno J, Echevarria J, Colombo AL.**

### **Introducción**

La candidemia es la micosis invasiva más frecuente en los hospitales en América Latina. Se dispone de información limitada de la epidemiología de la candidemia en los países latinoamericanos.

### **Objetivos**

Describir la epidemiología de la candidemia en hospitales participantes en el estudio de vigilancia latinoamericano en Colombia.

### **Materiales y métodos**

Entre noviembre de 2008 y octubre de 2010 se siguieron los episodios de candidemia identificados en 4 hospitales en Colombia. Los aislamientos fueron evaluados de forma centralizada en la Universidad de San Pablo en Brasil. Se utilizó la metodología CLSI con puntos de corte de 2012 para evaluar la susceptibilidad a fluconazol, voriconazol y anidulafungina. Los pacientes fueron seguidos por 30 días después del aislamiento inicial en sangre.

### **Resultados**

Se identificaron 109 episodios de candidemia en el período de estudio, con edad media de 36 años (rango 0 a 88 años), 32% de sexo femenino, 53% de ellos en cuidado intensivo. Los neonatos fueron 12.8%, los niños 28.4% y los mayores de 60 años el 23.8%. Las comorbilidades más frecuentes fueron cirugía abdominal previa (42%), patología pulmonar (16.5%), cáncer (16.5%), cardiopatía crónica (12%) y diabetes (12%). Las especies de *Candida* identificadas fue *C. parapsilopsis* (38.5%), *C. albicans* (37%), *C. tropicalis* (17.4%), *C. glabrata* (4.5%), y otras (2.7%). Para los aislamientos diferentes a *C. glabrata*, la susceptibilidad a fluconazol y voriconazol fue 99% y un solo aislamiento de *C. parapsilopsis* dosis dependiente. Se identificó no susceptibilidad a anidulafungina en 5.5% de los aislamientos. La mortalidad temprana (10 días) fue del 25%, siendo la mayor observada en el grupo de 1 a 18 años en pacientes con cáncer.

### **Conclusiones**

Se ha observado en Colombia un cambio en la frecuencia de especies de *Candida* diferentes a *C. albicans*, con una susceptibilidad frente a fluconazol, voriconazol y anidulafungina muy alta.

## 5. Infecciones intrahospitalarias producidas por hongos

# Factors associated with the development of candidemia: Bloodstream infection caused by *Candida* spp. versus other agents in Hospital Universitário do Oeste do Paraná

**Natália Nicola Thomé, Elaine Luzia dos Santos, Lazaro Junior Silva Teixeira, Carla Sakuma de Oliveira, Juliana Gerhardt**

### **Introduction**

The bloodstream infection by *Candida* spp. is becoming increasingly frequent<sup>1</sup>. Several variables are described as risk factors for this infection, among them the use of central venous catheter (CVC), parenteral nutrition (PN), diabetes mellitus (DM), immunosuppression, surgery of the digestive tract and passage through intensive care units<sup>2,3,4</sup>.

### **Goals**

To evaluate cases candidemia versus other etiologies of bloodstream infection and try to determine factors that may be associated with the development of the fungal infection, in order to quickly identify risk, with research and treatment also early.

### **Methods**

Retrospective, descriptive and observational study of patients with bloodstream infection by *Candida* spp. versus other etiologies through the analysis of medical records in the period from november 2013 to march 2014, at the West of Paraná University Hospital, that offers tertiary care.

Results: The final selection resulted in 22 patients with bloodstream infection by *Candida* spp. (CAND group) and 124 patients by bacteria (BAC group). It were analyzed likely risk factors for candidemia and was performed a comparison these variables between BAC and CAND groups. The factors that were statistically significant in the univariate analysis were cause of surgical hospitalization ( $p = 0.0134$ ), passage by intensive care units ( $p < 0.0001$ ), use of PN ( $p = 0.0002$ ), patients with some kind of immunosuppression ( $p = 0.0003$ ), previous nosocomial pneumonia ( $p = 0.0086$ ) and the use of some antibiotics such as: Linezolid ( $p = 0.0405$ ), Teicoplanin ( $p = 0.0085$ ) and metronidazole ( $p < 0, 0001$ ). The strain of *Candida* mainly found was *C. albicans* (50%), in relation to sensitivity to fluconazole the most agents found were sensitive to fluconazole 69.6%.

### **Conclusion**

The profile of the patients with candidemia in West of Paraná University Hospital, is similar to that described in most of the research literature<sup>1-5</sup>, with a predominance of *C. albicans* and most strains sensitive to fluconazole<sup>5</sup>. The variables that can possibly be attributed as candidemia risk factors allowed to draw a profile of patients in which antifungal therapy should be considered. Data as DM, use of CTC and abdominal surgery were not statistically significant, perhaps due to the small sample number, becoming it necessary to further studies with a larger sample of patients in our service.

## 5. Infecciones intrahospitalarias producidas por hongos

# Epidemiología de la candidiasis invasora en un centro de de alta complejidad

**Landaburu M Fernanda, Mujica M Teresa, Lopez Daneri Gabriela, Vinante Alejandra, Torres Cecilia, Lopez Furst M José, Zarlenga Leandro, Puentes Teresita, Fernández Gustavo.**

Sanatorio "Dr Julio Mendez" Unidad de infectología

Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM, UBA-CONICET), Facultad de Medicina, UBA, Argentina.

### **Introducción**

La candidiasis invasora (CI) es la infección fúngica intrahospitalaria más frecuente y se asocia a una alta morbimortalidad. En las últimas décadas, se observa un aumento de su incidencia a nivel mundial.

### **Materiales y métodos**

Se realizó un análisis retrospectivo, descriptivo de pacientes con diagnóstico de CI desde enero 2013 a agosto de 2015 en un centro de alta complejidad. Datos analizados: edad, sexo, comorbilidades, uso de dispositivos, internación unidad de cuidados intensivos (UCI), antibióticos, tratamiento antifúngico y mortalidad. Los hemocultivos fueron procesados por métodos automatizados Bact/ALERT 3D®, la identificación se realizó por métodos morfológicos, siembra en agar cromogénico (CHROMAgar Candida®), y utilización de tarjetas Vitek 2 compact® (bioMérieux, Francia). Se incluyeron a las especies de Candida aisladas de hemocultivos y otros sitios estériles y se excluyeron a las de urocultivo. Análisis estadístico SPSS 15.0.

### **Resultados**

La incidencia de la CI fue de 1,59 en 2013, 2,66 en 2014 y 2,83 en 2015. Se estudiaron 37 pacientes, edad media 64,3 (34-90) y 54,1% de sexo femenino. El 83,8% recibió tratamiento antibiótico con un promedio de 13,7 días previos al diagnóstico de la CI. En el 78,4% de los casos se utilizó catéter venoso central y sólo en 5,4% nutrición parenteral. El 73% de los pacientes presentaron enfermedades predisponentes: 25,9% cirugía abdominal, 18,5% diabetes y 48,1% inmunosupresión, (46,2% fueron tumores sólidos, 38,5% pacientes oncohematológicos, 7,7 % VIH/SIDA y 7,7% tratamiento corticoideo). El 59,5 % de los pacientes se encontraban internados en UCI y el 40,5% presentaron inestabilidad hemodinámica al momento del diagnóstico. El 91,9% de los casos fueron intrahospitalarios. La candidemia fue la presentación clínica más frecuente. La especie prevalente fue *C. albicans* (32,4%), seguida por *C. parapsilosis* (29,7%), *C. tropicalis* (21,6%), *C. glabrata* (13,5%) y *C. utilis* (2,7%). Sólo el 18,9% de los pacientes recibieron antifúngico empírico, y 5 pacientes (13,5%) fallecieron antes de recibir tratamiento antifúngico. Se observó una diferencia estadísticamente significativa entre el uso de catéter venoso central y la infección por *Candida* no *albicans* 75,9% vs. 24,1% *C. albicans* ( $p=0,04$ ). Los antifúngicos utilizados al inicio del tratamiento fueron las equinocandinas (43,2%), fluconazol (24,3%) y anfotericina B liposomal (18,9%). La mortalidad fue del 51,4%. Los pacientes que presentaron inestabilidad hemodinámica tuvieron una mortalidad global de 93,3% vs. 22,7% ( $p < 0,001$ ).

### **Conclusión**

Se observó un aumento de la incidencia de la CI en el período estudiado. Hubo predominio del sexo femenino. La especie prevalente fue *C. albicans* en coincidencia con otros trabajos de nuestro país y de Latinoamérica, *C. parapsilosis* ocupó el segundo lugar. El tratamiento antibiótico previo es un factor de riesgo para el desarrollo de la CI. La presencia de catéter venoso central constituye un factor predisponente por especies de *Candida* no *albicans* y en especial *C. parapsilosis*. Destacamos la baja sospecha clínica de infección fúngica ya que sólo el 19% de los pacientes recibió tratamiento empírico. La mortalidad se eleva en forma importante en los pacientes con inestabilidad hemodinámica.

## 5. Infecciones intrahospitalarias producidas por hongos

# Analysis of cases of candidemia in a cancer hospital in the West of Paraná State/Brazil between January 2014 and September 2015

**De Oliveira, Carla Sakuma<sup>1</sup>, De Lima, Bernardo<sup>2</sup>, De Carvalho, Marisa Cristina Preifz<sup>3</sup>, Lang, Letícia Kersting<sup>4</sup>**

1 Doctor, Medical Infectious Diseases, UOPECCAN - Cascavel/PR/ Brazil

2 Medical Student, State University of West Parana - UNIOESTE - Cascavel/PR/Brazil

3 Nurse, Hospital Infection Control Service - CCIH - UOPECCAN - Cascavel/PR/Brazil

4 Pharmacist, Hospital Infection Control Service - CCIH - UOPECCAN - Cascavel/PR/Brazil

### **Keywords**

Candidemia; Cancer Hospital; Blood culture

### **Introduction**

In tertiary hospitals, *Candida* spp infections accounts for about 80% of documented fungal infections, representing a major challenge to clinicians from different specialties because of the diagnostic and therapeutic difficulties of infectious caused by fungi, especially of the genus *Candida*. Candidacies are infectious bloodstream that can be related to the hospital and the community.

### **Objectives**

Present clinical and epidemiological assessment of *Candida* isolates in blood cultures.

### **Materials and methods**

Data collection follows a quantitative and analytical and was held in a cancer hospital in the western region of the state of Parana, Brazil. The institution has one hundred beds, in which ten are in intensive care unit (ICU). The data collected for this study are those of hospital infectious blood cultures from January 2014 to September 2015, in patients admitted during this period in all hospital wards. The samples were processed with semi-automated method Bactec, giving thus higher reliability of results collected and presented.

### **Results**

In this study, we analyzed exclusively hospital isolated. 2545 blood cultures in a universe made between January and December 2014 and 1977 until September 2015, 37 were positive (0,81%). In a more dense concerning, *albicans* species and 50% were non-*albicans* (28% *tropicalis*; 12,5% *parapsilosis*; 6,25% *glabrata*; 3,125% *utilis*). The high frequency of non-*albicans* species than *albicans* was predictable, given that the population covered by the study was of cancer patients.

### **Conclusions**

The collected data are important regarding the treatment offered to hospital patients. The importance of the identification of the species often is the virulence and the need of appropriate therapy. Currently, proper treatment from the fungus recognition significantly modifies the lethality of the bloodstream infection caused by *Candida*.

## 5. Infecciones intrahospitalarias producidas por hongos

# Candidiasis invasora en niños hospitalizados en el Hospital Roberto del Río

**Acuña M.<sup>1</sup>, Benadof D.<sup>2</sup>, Guerra M.<sup>3</sup>**

1 Infectóloga Hospital Roberto Del Río. Universidad de Chile, Santiago, Chile

2 Microbióloga Hospital Roberto Del Río, Santiago, Chile

3 Becado de Pediatría. Universidad de Chile, Hospital Roberto del Río, Santiago, Chile

**Palabras clave:** candidemia, candidiasis invasora, antifúngicos, niños.

### Introducción

Las infecciones invasoras por *Candida* spp, representan una patología relevante en pacientes críticos e inmunodeprimidos. Existiendo información limitada a nivel local sobre la epidemiología de las candidiasis invasoras en pediatría. Nuestro objetivo es describir la epidemiología y las características clínicas de las candidiasis invasoras en pacientes del Hospital Roberto del Río.

### Material y Método

Estudio prospectivo observacional realizado en el Hospital de Niños Roberto del Río entre Enero 2012 y Julio 2015 donde se incluyeron todos los pacientes hospitalizados (menores de 18 años) que presentaron aislamiento de *Candida* spp en sangre, tejido o líquido estéril. Los datos microbiológicos se obtuvieron del laboratorio y los clínicos de la ficha médica del paciente. Las variables fueron demográficas, microbiológicas y clínicas. Para el cálculo de incidencia se utilizaron los datos poblacionales del DEIS. Para el análisis estadístico se utilizaron estadísticas descriptivas: tasas y frecuencias.

### Resultados

Se registraron 26 episodios de candidiasis invasora con un promedio de edad al momento del aislamiento de 63 meses, 58% en hombres. La incidencia fue de 0,67 por 1000 egresos. Las principales especies aisladas fueron *C. albicans* (46%), *C. parapsilosis* (27%), *C. guilliermondi* (7,7%) y *C. lusitanae* (7,7%). Los sitios de aislamiento primario fueron sangre periférica (42%), sangre por catéter venoso central (31%) y esófago (7%), principalmente. Hubo 6 pacientes en quienes primariamente se aisló *Candida* sp de otros sitios distintos a sangre y nunca presentaron hemocultivos positivos: 4 de tejido, 1 de líquido peritoneal y 1 de líquido mediastínico. La mediana de hospitalización fue de 60,5 días, siendo un 84,5% de estos pacientes oncológicos, 15,4% cardiológicos, 7,7% respiratorios, 3,8% quemados, 3,8% neurológico y 15,4% otros. De estos pacientes el 84,6% utilizó catéter venoso central, mientras que el 38,5% requirió de alimentación parenteral y el 30,8% fue sometido a cirugía. Todos los pacientes del estudio recibieron tratamiento antifúngico. El manejo antifúngico de inicio incluyó principalmente anfotericina (61,5%), caspofungina (26,9%) y fluconazol (11,5%). La sobrevida de los pacientes a 30 días fue de un 81%. Fallecieron 5 pacientes: 3 cardiopatas, 1 con patología oncológica y 1 con atresia de vías biliares.

### Conclusiones

La candidiasis invasora sigue siendo una importante causa de morbi-mortalidad en el entorno hospitalario, principalmente en pacientes oncológicos y de cuidados intensivos, siendo *C. albicans* la especie mayormente aislada, principalmente en sangre periférica. Un alto índice de sospecha y su búsqueda en tejidos y líquidos estériles puede significar una mayor tasa de aislamientos y mayor éxito terapéutico. El uso de catéter venoso central, alimentación parenteral siguen siendo factores de riesgo importantes para el desarrollo de candidiasis invasora. Todos los pacientes del estudio recibieron tratamiento antifúngico, siendo el más elegido para tratamiento inicial la anfotericina. La sobrevida a 30 días es similar a lo descrito en la literatura. La mortalidad se concentró en pacientes cardioquirúrgicos.

## 5. Infecciones intrahospitalarias producidas por hongos

# Factores de riesgo predictivos de candidemia en una población de adultos mayores.

**UAP. Dr. César Milstein: L.V. Mattiello, N. Oliver, S. Arriola, J.M. Rébora, L. Cusmano, A. Viteri, A. Terusi, J. Herrera, M.C. Ezcurra.**

**Introducción:** La candidemia es una infección grave de difícil diagnóstico, presentación clínica variable y elevada morbimortalidad. Se requiere un alto nivel de sospecha considerando los factores de riesgo y el estado inmunológico del paciente.

**Objetivo:** Valorar el factor de riesgo “cirugía previa” establecido por el cándida score y describir las características epidemiológicas y microbiológicas.

**Material y métodos.** Estudio descriptivo, retrospectivo y observacional.

Se analizaron las historias clínicas (HC) desde enero del 2011 a junio del 2015 con hemocultivo y/o punta de catéter con presencia de cándida en el medio de cultivo.

Se incluyeron pacientes internados en sala general y en UCI médico-quirúrgica en un centro de referencia en la atención del adulto mayor.

Se tabularon variables epidemiológicas: edad, sexo, días de estadía y comorbilidades.

Los factores de riesgo evaluados: uso de antibioticoterapia, catéter central, cirugía previa, corticoterapia, NPT, diálisis.

El factor de riesgo “cirugía previa” se clasificó: cirugía abdominal (grupo A), cirugía traumatológica que incluyó cadera, rodilla y columna con colocación de implante (grupo B) y otras cirugías no abdominal ni traumatológica del grupo B (grupo C).

Se estableció el riesgo de candidemia de cada grupo con respecto a pacientes admitidos por patología clínica (grupo D).

Los datos estadísticos fueron analizados con el programa SPSS Statistics 17.0. Las variables continuas se expresaron como media, mediana, desviación estándar (DE). Se calculó chi-cuadrado y se consideró diferencia significativa “p” <0.05. Se calcularon riesgos (Odd Ratio) con sus intervalos de confianza IC al 95%.

Se identificó el género *Cándida*, especie y patrón de resistencia.

Se estableció la mortalidad global.

**Resultados:** Se obtuvieron datos de 44672 HC de las cuales correspondieron al grupo A 2428, grupo B 2616, grupo C 5078 y grupo D 29472 pacientes.

Se documentaron 38 episodios de candidemia en 36 pacientes de los cuales 19 fueron mujeres. La media de edad 76.7 años.

La mediana de estancia hospitalaria fue de 39 días (3-182). La mitad de los pacientes al momento del evento se encontraba en UCI.

Las comorbilidades más frecuentes: enfermedad cardiovascular 35.5%, EPOC 29%, DBT 9.6%, IRC 9,6 %.

En todos se identificó al menos un factor de riesgo (FR). Frecuencia de FR: antibioticoterapia previa 100%, acceso venoso central 25/36 (69.4%), cirugía previa 17/36 (47.2%) de los cuales cirugías abdominales 8, cirugías traumatológicas 8.

Presentaron mayor riesgo de candidemia los pacientes intervenidos quirúrgicamente respecto a los admitidos por patología clínica (“p” <0.0223). El grupo A respecto del grupo D presentó mayor riesgo de candidemia (“p” < 0.0003). El grupo B también presentó mayor riesgo en comparación con el grupo D (“p” < 0.0007). El grupo C versus grupo D no presentó mayor riesgo (“p” >0.192).

De los 38 aislamientos microbiológicos el 42.1% fue *C. albicans*, el 23.68% *C. tropicalis*, 13.15% *C. parapsilosis*. Todos resultaron sensibles a azoles.

Mortalidad global: 65,7% (25/38).

**Conclusiones:** Es conocido el riesgo de candidemia asociado a las cirugías abdominales. En esta cohorte se evidenció el riesgo incrementado de candidemia en pacientes sometidos a cirugía traumatológica. Es fundamental que cada institución profile el patrón de especie y sensibilidad para un adecuado tratamiento antifúngico.

## 5. Infecciones intrahospitalarias producidas por hongos

# Brote de *Candida metapsilosis* en un hospital pediátrico.

**Montanaro P.<sup>(1)</sup>; Olmos E.<sup>(1)</sup>; Garnero A.<sup>(1)</sup>; Piedra D.<sup>(1)</sup>; Glanstein E.<sup>(1)</sup>; Mazza M.<sup>(2)</sup>; Taverna C.<sup>(2)</sup>; Bosco Borgeat M.E.<sup>(2)</sup>**

(1) Hospital de Niños de la Santísima Trinidad. Córdoba. Argentina.

(2) Departamento Micología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas “Dr. C. G. Malbrán”

En el periodo comprendido entre julio - agosto del 2015, se registraron 7 episodios de fungemia causadas por levaduras, en un hospital pediátrico con nivel de complejidad III. El número de casos diagnosticados fue significativo en relación al período de tiempo y a los datos históricos de la Institución. Entre los antecedentes de los pacientes se registraron procedimientos quirúrgicos y presencia de catéteres.

El aumento en la recuperación de levaduras a partir de muestras de sangre, fue motivo de estudio más exhaustivo de estos aislamientos, a fin de determinar las especies implicadas y detectar la presencia de un posible brote intrahospitalario.

Los 7 aislamientos recuperados fueron identificados utilizando CHROMagar *Candida*, extracto de malta, urea, API *Candida* (bioMérieux) y Vitek II (bioMérieux).

El sistema Api *Candida* identificó todos los aislamientos como *Candida parapsilosis*; pero la observación micromorfológica de los aislamientos, no eran característicos de esta especie en extracto de malta, mostrando un escaso pseudomicelio.

Con el objetivo de realizar una caracterización de los aislamientos y poder establecer la existencia de un brote se analizó el perfil proteico de los aislamientos mediante la técnica de MALDI-TOF (Bruker Daltonics). Por esta metodología 6/7 aislamientos fueron identificados como *Candida metapsilosis*. Estos resultados fueron confirmados mediante secuenciación de las regiones ITS y D1/D2 del 26S del ADN ribosomal.

Las infecciones oportunistas causadas por *C. parapsilosis* son un problema frecuente en los hospitales, en especial en unidades de cuidados intensivos neonatales y pediátricos. Estas levaduras tienen la capacidad de crecer en fluidos de nutrición parenteral, formar biofilms en catéteres y de permanecer en el ambiente hospitalario. Se han descrito numerosos brotes intrahospitalarios causados por *C. parapsilosis* en los que las manos del personal de salud y el medio ambiente han sido identificados como fuente de infección.

Recientemente *C. parapsilosis* ha sido dividida en tres especies: *Candida parapsilosis sensu stricto* (responsable del 90% de las infecciones), *Candida metapsilosis* y *Candida orthopsilosis*. Estas especies, estrechamente relacionadas, no pueden ser diferenciadas entre sí mediante métodos bioquímicos convencionales y solo pueden identificarse mediante metodologías moleculares.

En los últimos años la tipificación molecular de aislamientos ha contribuido al entendimiento de la epidemiología de las infecciones y de la transmisión cruzada de microorganismos patógenos. La rápida identificación de las cepas implicadas en la infección tiene una alta relevancia médica ya que permite el desarrollo de nuevas estrategias para la prevención y tratamiento de las mismas.

En el presente caso la técnica de MALDI-TOF nos permitió identificar correctamente los 6 aislamientos de *Candida metapsilosis*. La presencia de esta especie poco frecuente, en muestras provenientes de distintos pacientes, nos permite confirmar la presencia de un brote. Este es el primer brote intrahospitalario producido por *Candida metapsilosis* reportado a nivel mundial.

## 5. Infecciones intrahospitalarias producidas por hongos

# Estudio de Candidemia en Córdoba Argentina

**Medeot M.<sup>(1,2)</sup>; Sartori L.<sup>(1,2)</sup>; Abiega C.<sup>(1,2)</sup>; Sanchez P<sup>(1,2)</sup>; Caeiro JP<sup>(1,2)</sup>.**

1 Hospital Privado.

2 Hospital Ferreyra

### **Introducción**

La candidemia es una causa importante de morbimortalidad hospitalaria, está asociada a pacientes oncológicos, con posoperatorio complicado, en unidades críticas, quemados, trasplantados, y bajo peso al nacer.

### **Objetivos**

Determinar frecuencia de especies de Cándidas en sangre y mortalidad ante tratamiento antifúngico.

### **Métodos**

Se realizó un estudio, retrospectivo en dos Hospitales de nivel terciario de la Ciudad de Córdoba, Argentina para determinar las especies de cándidas presentes en nuestro medio, respuesta a antifúngicos y determinando la mortalidad relacionada a candidemia desde agosto 2012 a septiembre 2015.

### **Resultados**

Se incluyeron 39 pacientes de 2 meses a 88 años de edad (promedio 48,1 años) con desarrollos positivos de cándidas en sangre. El 26% de los pacientes presentaba colonización por candida en el momento del aislamiento de candidemia. El 64% (25) de las candidemias fueron de tipo no albicans, de las cuales las más frecuentes correspondían a las especies parapsilosis (48% n=12). El 28% (11) de las candidemias fueron asociadas a catéter. El 51% (n20) se encontraban con catéter venoso central y nutrición parenteral. El 10% (4) de los pacientes se inició tratamiento antifúngico después de 5 días del aislamiento micótico, de los cuales 1 paciente falleció relacionado a la candidemia.

### **Conclusión**

En nuestro medio, las especies no albicans continúan siendo la causa más frecuente de candidemias siendo la especie parapsilosis la de mayor frecuencia. Evaluando la mortalidad relacionada a candidemia según el retraso del inicio del antifúngico se presentó en el 25% de los pacientes que iniciaron tardíamente el tratamiento adecuado.

## 5. Infecciones intrahospitalarias producidas por hongos

# Risk factors for persistent candidemia

**Breda, G.; Tuon, F.F.; Queiroz-Telles, F.**

### **Introduction**

Persistent candidemia is defined as the isolation of the same *Candida* species in the blood of a candidemic patient. Its incidence and clinical significance still are controversial in the literature.

### **Objective**

Determine the epidemiology and risk factors for persistent candidemia in patients admitted to a tertiary university hospital.

### **Métodos**

Case:control retrospective study involving patients with positive blood culture for *Candida* spp. (controls) between January/2011 and May/2015; those with positive blood culture with the same *Candida* species after 5 days receiving systemic antifungals were considered as persistent cases. Clinical data regarding age, gender, basic disease and unity of admission (ward vs. Intensive Care Unit) and 30-day and in hospital mortality were analysed. Microbiological data regarding *Candida* species isolated and persistence of risk factors for candidemia (neutropenia, mucositis, central venous catheter, wide spectrum antibiotics, corticosteroids, total parenteral nutrition, dialysis, pancreatitis and abdominal surgery) after 5 days of starting antifungal therapy were evaluated with univariate analysis; data regarding the antifungal used and time (in hours) to start medication also were compared between the groups. Patients that did not receive treatment, or died before completing 5 days of antifungal treatment were excluded of the risk factors and antifungal treatment analysis. Categorical variables were analysed with chi-square test, and continuous variables with t student test; it was also calculated the Odds Ratio for each risk factor individually.

### **Results**

One hundred and fifty one candidemia cases were evaluated, in 138 patients; 6 were excluded because of unavailable data. One hundred and forty six candidemia cases remained, with 21(14%) persistent cases. There was not statistically significant difference on the *Candida* species isolated between the groups. Ninety nine patients were included on the risk factors analysis. Maintenance of total parenteral nutrition (TPN) was associated with higher risk of persistent candidemia ( $p=0,02$ , OR = 2,74 [1,01-7,41]); there was trend to persistence in those patients that did not have the central venous catheter removed (CVC) in the first 5 days of treatment ( $p=0,05$ ); analysis of the subgroup of patients with positive catheter tip with the same *Candida* species isolated on blood culture was also associated with higher risk of persistence ( $p=0,03$ ). Antifungal choice (azole vs. echinocandin), as time to start treatment were not associated with persistence or not of candidemia. Thirty day mortality was significantly lower in the persistent cases (44% vs. 29%,  $p<0,001$ ), but in hospital mortality was similar between the groups (50% vs. 48%).

### **Conclusion**

Persistent candidemia incidence was 14%, and TPN maintenance and not removing CVC in the first 5 days of treatment in patients that had CVC tip colonized by *Candida* sp. were associated with persistent infection. Antifungal choice and time to start treatment were not related to persistence in the present study. Besides 30-day mortality was inferior in the persistent group, in hospital mortality was similar between the groups.

## 5. Infecciones intrahospitalarias producidas por hongos

# Non-albicans Candida is a risk factor for breakthrough candidemia

**Breda, G.; Tuon, F.F.; Queiroz-Telles, F.**

### **Introduction**

Breakthrough candidemia in patients under systemic antifungals therapy has been described, but few studies are available, in general with small sample of cases and diverging results.

### **Objective**

Determine the epidemiology, risk factors and outcome of breakthrough candidemia in patients admitted to a tertiary university hospital.

### **Methods**

Retrospective case-control study, involving patients with positive blood culture yielding *Candida* spp. (controls) between January/2011 and May/2015. Breakthrough candidemia was defined as a positive blood culture for *Candida* spp. in a patient receiving systemic antifungal therapy for 3 days (cases). Clinical findings as gender, age, basic disease and 30 day and in hospital mortality were evaluated, as well as microbiological data regarding *Candida* species. Candidemia risk factors (neutropenia, mucositis, central venous catheter, wide spectrum antibiotics, corticosteroids, total parenteral nutrition, dialysis, pancreatitis and abdominal surgery) were evaluated and compared between the groups. Epidemiological data were described, and microbiological data and possible risk factors for breakthrough infection were evaluated with uni and multivariate analysis.

### **Results**

One hundred and fifty one candidemia cases, in 138 patients were analyzed; 6 patients were excluded due to unavailable data. Twenty four (16%) breakthrough infections were found between the remainder 146 candidemia cases, involving mainly hematologic malignancies patients, after hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). Breakthrough cases were more frequent associated with non albicans *Candida* species ( $p=0,047$ , OR 2,59 [1,01-6,69]), with *Candida parapsilosis* being the most frequent isolated species (29%). The number of risk factors was higher for cases than for controls (3,7 vs. 2,7,  $p=0,001$ ). In the univariate analysis, neutropenia, corticosteroids, mucositis and positive catheter tip culture for the same *Candida* species isolated in blood culture were statistically significant. After multivariate analysis, only neutropenia ( $p=0,017$ ) and mucositis ( $p<0,001$ ) remained as statistically significant risk factors. Thirty day and in hospital mortality were similar between the groups ( $p=0,497$  and  $p=1$  respectively).

### **Conclusion**

Breakthrough candidemia was more frequent in patients submitted to HSCT, with multiple risk factors, mainly neutropenia and mucositis. Non albicans species were more frequently isolated, with *Candida parapsilosis* being the most frequent. There was no difference in 30-day and in hospital mortality between the groups.

## 5. Infecciones intrahospitalarias producidas por hongos

# Experiencia en candiduria en pacientes de un Hospital General

**Godoy, A<sup>2</sup>; Gonzalez, J<sup>2</sup>; Mulqui, V<sup>2</sup>; Caeiro, J P<sup>1</sup>, Claudio Abiega<sup>1</sup>**

1 Servicio Enfermedades Infecciosas Hospital Privado Universitario de Córdoba

2 Servicio Medicina Interna Hospital Privado Universitario de Córdoba

**Introducción:** La candiduria se ha asociado al uso de antibióticos de amplio espectro, dispositivos en la vía urinaria, edad avanzada y diabetes. La mayoría de pacientes con dicha condición, no presentan síntomas. Tanto su pesquisa como indicaciones de tratamiento continúan siendo poco claras.

### Objetivos

Determinar las características de los pacientes con aislamiento de *Candida* en urocultivo, en el Hospital Privado Universitario Centro Médico de Córdoba.

### Materiales y Métodos

Se realizó un estudio retrospectivo descriptivo observacional, recopilando los urocultivos con aislamiento de *Candida* realizados en el Hospital Privado Universitario Centro Médico de Córdoba, desde el año 2012 al 2015. Se analizó la distribución en sexo, edad, comorbilidades, uso previo de antibióticos, tratamiento y conducta tomada por el personal de salud.

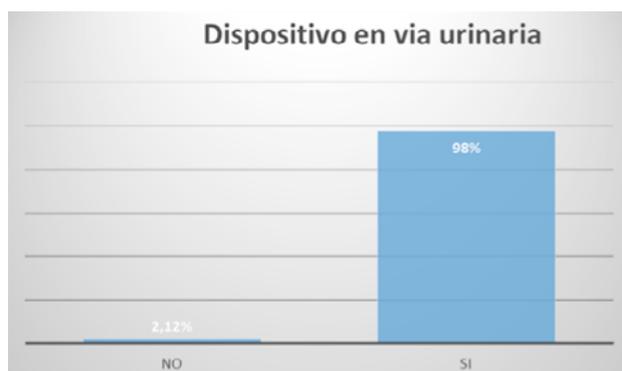
### Resultados

Se analizaron urocultivos desde enero 2012 a enero 2015, encontrándose 45 aislamientos de *Candida*. La mediana de edad de los pacientes con dicho aislamiento fue de 66 años. Un 72% de los aislamientos fueron realizados en mujeres y la mayor comorbilidad presente fue diabetes en un 38% de los casos. En el 96% se habían utilizado antibióticos de amplio espectro previamente. La mayoría de los pacientes (98%) tenían o habían tenido un dispositivo en la vía urinaria. Sólo se realizó tratamiento en el 55% de los afectados donde se eligió en el 98% de los casos fluconazol y el 2% anidulafungina, sin registrarse complicaciones en el grupo de los no tratados. *Candida albicans* fue el microorganismo más aislado en el 46%, *Candida tropicalis* fue aislada en el 32% de los casos, *Candida parapsilosis* 28%, *Candida glabrata* 24%. Un solo paciente presentó candidemia asociada.

### Conclusiones

La gran mayoría de los aislamientos de *Candida* en orina se efectúan en pacientes en estado crítico, sin síntomas asociados, donde la decisión de realizar tratamiento continua siendo objeto de debate debido a la permanente dificultad en diferenciar contaminación, colonización e infección. Esto parece evidenciarse en la falta de complicaciones en los pacientes no tratados. Los factores de riesgo para candiduria hallados en nuestro trabajo se corresponden con los descriptos en la bibliografía. Evitar aquellos prevenibles resultaría en la disminución de las infecciones por *Candida* en orina.

**Palabras clave:** Candiduria intrahospitalaria, factores de riesgo de funguria y conducta médica.



## 5. Infecciones intrahospitalarias producidas por hongos

# Candidemia por *C. parapsilosis* un Problema Endémico en la Seguridad Social

**Villalobos-Vindas J.M.<sup>1</sup>, Avilés-Montoya A.<sup>2</sup>, Ramírez-Valverde C.<sup>3</sup>, Peláez-Gil M.C.<sup>4</sup>, Castro-Cordero J.A.<sup>5</sup>, Mora-Brenes N.<sup>6</sup>, Sandoval-Carpio L.<sup>7</sup>**

1,2,3,4 Servicio de Infectología, CCSS, San José, Costa Rica.

5 Dirección Farmacoepidemiología, CCSS, San José, Costa Rica.

6 División de Micología, Laboratorio Clínico, CCSS, San José, Costa Rica.

7 División de Bacteriología, Laboratorio Clínico, CCSS, San José, Costa Rica.

### **Introducción**

Las infecciones invasivas por *Candida* siguen siendo un problema frecuente y grave en la práctica clínica. Muy poco se ha publicado de la experiencia en los países centroamericanos sobre candidemia.

### **Objetivo**

Caracterizar la epidemiología de la candidemia del 2007 a 2014 en dos hospitales nacionales para adultos de la seguridad social. Métodos: estudio retrospectivo, descriptivo y observacional. Se buscaron todos los episodios de candidemia durante este periodo y se calculó su incidencia por cada 1000 egresos. Además, se analizaron las siguientes variables microbiológicas y clínicas: especie de *Candida*, edad, sexo y mortalidad por todas las causas a los 30 días.

### **Resultados**

Se analizaron 941 episodios de candidemia, para una incidencia acumulada de 1,86 casos/egresos. Las especies de *Candida* no albicans constituyeron el 66% de las levaduras aisladas en los episodios de candidemia. *C. parapsilosis* (44%) fue la especie predominante en 7 de los 8 años estudiados, seguida por *C. albicans* (31%). La edad promedio fue 54,7 ( $\pm 19,4$ ), la mediana de 57,9 años, la distribución por sexo fue equitativa. La mortalidad por todas las causas al día 30 fue del 45% con una tendencia a la reducción progresiva a partir del año 2009. *C. albicans* presentó la mayor mortalidad a 30 días (56%) y *C. parapsilosis* la más baja (39%).

### **Conclusiones**

Este estudio demostró que la incidencia de candidemia y su mortalidad por todas las causas a 30 días es muy similar a lo reportado en el resto de Latinoamérica, sin embargo puso en evidencia la predominancia de *C. parapsilosis* sobre las demás especies durante el periodo estudiado, situación que la ubica como un problema endémico en estos dos hospitales. Conocer mejor la dinámica de la candidemia en estos centros e identificar los factores relacionados será indispensable para emprender acciones futuras y modificar la epidemiología esta patología en los dos hospitales estudiados.

## 5. Infecciones intrahospitalarias producidas por hongos

# Distribución, sensibilidad a antifúngicos y biopelículas del complejo parapsilosis en candidemia hospitalaria.

**Rodriguez L<sup>1</sup>, Mayo S<sup>3</sup>, Sellart G<sup>3</sup>, Facente A<sup>2</sup>, Magariños F<sup>2</sup>, Jewtuchowicz V<sup>1,2</sup>**

1 Centro de Micología. IMPaM, UBA-CONICET.

2 Dpto. Microbiología, Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina, UBA.

3 Hospital HIGA Gandulfo-Servicio laboratorio

### **Introducción**

Las levaduras del genero *Candida* constituyen los patógenos fúngicos predominantes de las infecciones hospitalarias. La formación de biopelícula es uno de los principales factores de virulencia de estas levaduras. Los objetivos del presente trabajo fueron registrar la distribución de especies de levaduras en general y del complejo parapsilosis de candidemias en el Hospital HIGA Gandulfo y su capacidad de formar biopelícula in vitro. Materiales y

### **Métodos**

Se recuperaron 76 levaduras correspondientes a 37 episodios de candidemias de mayo 2012 a agosto 2015. Los aislamientos se obtuvieron mediante el crecimiento en agar Cromogénico diferencial a partir de frascos de hemocultivos del sistema automatizado BACTAlert. Las levaduras se identificaron con métodos fenotípicos y moleculares. La sensibilidad antifungica con método automatizado vitek2. La gentotipificación de *Candida* parapsilosis se confirmó mediante PCR específica (cebadores CPAR/F, CPOR/F y CPMR/F). La biopelícula se estudió en microplacas con caldo YPD (extracto de levadura, peptona y glucosa) y se tiñó con cristal violeta al 1% (Danese et al. 1990). Las absorbancias (Abs), se obtuvieron por lectura espectrofotométrica a 595. Se calculó el índice FEB (Niu y Gilbert 2004), como clasificación semicuantitativa de la capacidad de formación de biopelículas. Se revisaron las historias clínicas de los pacientes. Resultados: *C. albicans* fue la especie más frecuente 28.5%, hallamos un 71.4% (n=50), de especies no *albicans*, distribuidas según la frecuencia en complejo *C. parapsilosis* (n=17), *C. dubliniensis* (n=12), *C. famata* (n=9) y menos prevalentes *C. guilliermondii*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*. También se aislaron 4 *C. laurentis*. Dentro del complejo, *C. parapsilosis* senso estricto fue predominante y presentó cepas con baja sensibilidad a caspofungina. Todas las especies estudiadas fueron altas productoras de biopelícula in vitro.

### **Conclusiones**

La mayoría de las candidemias fueron por especies no *albicans* y *C. parapsilosis* senso estricto fue la predominante. Se asoció a infección relacionada a catéter y el uso de solución parenteral.

Este trabajo fue financiado por el Subsidio UBACyT 20020120200119.

**Palabras clave:** *C. parapsilosis*, biopelículas, caspofungina

## 5. Infecciones intrahospitalarias producidas por hongos

# C. parapsilosis con lento crecimiento: ¿nueva variante de la especie?

**Villalobos-Vindas J.M.<sup>1</sup>, Avilés-Montoya A.<sup>2</sup>, Ramírez-Valverde C.<sup>3</sup>, Peláez-Gil M.C.<sup>4</sup>, Castro-Cordero J.A.<sup>5</sup>, Mora-Brenes N.<sup>6</sup>, Sandoval-Carpio L.<sup>7</sup>**

1,2,3,4 Servicio de Infectología, Caja Costarricense del Seguro Social, San José, Costa Rica.

5 Dirección Farmacoepidemiología, Caja Costarricense del Seguro Social, San José, Costa Rica.

6 División de Micología, Caja Costarricense del Seguro Social, San José, Costa Rica.

7 División de Micología, Caja Costarricense del Seguro Social, San José, Costa Rica.

### **Introducción**

Candida es uno de los agentes más frecuentemente aislados en sangre, su incidencia en Latinoamérica es elevada, siendo *C. parapsilosis* la segunda especie más común. El hemocultivo es el estándar para el diagnóstico. BacT/ALERT es uno de los sistemas preferidos y se requieren de 1 a 3 días de incubación para detectarla.

### **Objetivo**

Determinar los tiempos de crecimiento de las 4 especies de *Candida* más frecuentes en hemocultivos, con énfasis en *C. parapsilosis*, en el hospital A y compararlos con lo observado en otro hospital local y lo reportado en la literatura.

### **Métodos**

Estudio retrospectivo y observacional, con horizonte temporal de 8 años (1° de enero del 2007 al 31 de diciembre del 2014). El estudio se realizó en el hospital A y su comparador local, ambos hospitales nacionales de características similares. En ambos el hemocultivo usado fue el BacT/ALERT® FA y se procesó en el sistema BacT/ALERT 3D®. Se incluyó el primer aislamiento y que además contara el dato de crecimiento en horas. Los comparadores internacionales utilizaron la misma metodología descrita y se incluyeron tanto estudios experimentales, como los realizados en pacientes con candidemia. El análisis utilizó estadística descriptiva y para la comparación de los tiempos de crecimiento se aplicó el t-Student no pareado o el Wilcoxon Rank sum (Mann Whitney U), de acuerdo con la distribución de los datos; se estableció un nivel de significancia de 0,05. Resultados: se incluyeron 638 aislamientos (411 del hospital A y 227 del hospital B). Las especies más frecuentemente aislada fueron *C. parapsilosis* (49,5%), seguida por *C. albicans* (32,5%), *C. glabrata* (9,5%) y *C. tropicalis* (8,5%). El tiempo de crecimiento de *C. parapsilosis* fue más prolongado en el hospital A (58,6 h) que en sus comparadores: el hospital B (40,8 h) y los estudios externos y dichas diferencias resultaron estadísticamente significativas ( $p < 0.0001$ ).

### **Conclusiones**

Este estudio demuestra las *C. parapsilosis* del hospital A tienen un crecimiento inusualmente prolongado, dicho hallazgo amerita investigaciones clínicas, fenotípicas y genotípicas adicionales.

## 5. Infecciones intrahospitalarias producidas por hongos

# Sensibilidad a los Antifúngicos de las Especies Candida Aisladas en Hemocultivo

**Villalobos-Vindas J.M.<sup>1</sup>, Avilés-Montoya A.<sup>2</sup>, Ramírez-Valverde C.<sup>3</sup>, Peláez-Gil M.C.<sup>4</sup>, Castro-Cordero J.A.<sup>5</sup>, Mora-Brenes N.<sup>6</sup>, Sandoval-Carpio L.<sup>7</sup>**

1,2,3,4 Servicio de Infectología, Caja Costarricense del Seguro Social, San José, Costa Rica.

5 Dirección Farmacoepidemiología, Caja Costarricense del Seguro Social, San José, Costa Rica.

6 División de Micología, Caja Costarricense del Seguro Social, San José, Costa Rica.

7 División de Micología, Caja Costarricense del Seguro Social, San José, Costa Rica.

### Introducción

Las especies de Candida representan el 80% de todas las infecciones fúngicas nosocomiales, con la candidemia es la enfermedad invasiva más frecuente. En la última década su resistencia a los antifúngicos ha aumentado progresivamente. En Latinoamérica la resistencia de Candida es baja pero no existe información al respecto en Centroamérica.

### Objetivo

Describir la sensibilidad de las especies de Candida aisladas en sangre al fluconazol, voriconazol y anfotericina b en dos hospitales nacionales para adultos de la Seguridad Social.

### Métodos

Estudio retrospectivo y descriptivo que se realizó, entre el 2011 y el 2014. El universo estudiado incluyó el primer aislamiento de un episodio de candidemia por *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* que contara con el reporte de la sensibilidad antifúngica. La sensibilidad se determinó utilizando la tarjeta AST-YSO1 y el sistema Vitek 2. La interpretación se hizo siguiendo las guías establecidas para *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) del 2012. El punto de corte para la anfotericina B en estas especies fue, sensible,  $\leq 1\mu\text{g/ml}$  y resistente  $>1\mu\text{g/ml}$ . La comparación de los niveles de sensibilidad entre especies se hizo con el test exacto de Fisher y la comparación en el tiempo con un Chi cuadrado de tendencia, el nivel de significancia de 0,05.

### Resultados

Se analizaron 354 aislamientos. La distribución por especie fue: 199 (56%) de *C. parapsilosis*, 124 (35%) de *C. albicans* y 31 (9%) de *C. tropicalis*. El 92% de los aislamientos de *C. albicans* y 90% de *C. tropicalis* resultaron sensibles al fluconazol, sin embargo solo el 49% de los aislamientos de *C. parapsilosis* lo fueron. La diferencia de sensibilidad al fluconazol de *C. parapsilosis* con respecto a *C. albicans* y *C. tropicalis* fue estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ). La sensibilidad al fluconazol en *C. parapsilosis* se redujo de un 71% en el 2011 a un 31% en el 2014 y el cambio en la tendencia fue estadísticamente significativo ( $p < 0,0001$ ). Adicionalmente, *C. parapsilosis* mostró el nivel más bajo de sensibilidad al voriconazol con un 88%, mientras que susceptibilidad dosis dependiente fue del 27%. *C. albicans* y *C. tropicalis* se mostraron uniformemente sensibles al voriconazol. Todas las especies mostraron ser altamente sensibles a la anfotericina b (97-100%).

### Conclusiones

Los resultados obtenidos demostraron un importante nivel de resistencia a los azoles en *C. parapsilosis*, principalmente al fluconazol. El proceso de resistencia en esta especie aumentó rápida y significativamente en el periodo estudiado.

**Tabla 1.** Sensibilidad al fluconazol, voriconazol y anfotericina B según especie.

Antifúngico	<i>C. albicans</i> (n=124)	<i>C. parapsilosis</i> (n=199)	<i>C. tropicalis</i> (n=31)	General (n=354)
Fluconazol				
Sensible ( $\leq 2\mu\text{g/ml}$ )	92%	49%	90%	68%
SSD (4 $\mu\text{g/mL}$ )	6%	6%	0%	5%
Resistente ( $\geq 8\mu\text{g/ml}$ )	2%	46%	10%	27%

# 6. Micología general

## 6. Micología general

# “Infección Necrotizante de partes blandas por *Aureobasidium pullulans*, en paciente Inmunocompetente”.

**Carballo S., Mano A., Rodríguez B., Alonso C., Cutó F., Calcagno G.**

**INTRODUCCIÓN:** El *Aureobasidium pullulans*, es un hongo dematiáceo, ubicuo, saprófito y cosmopolita. Patógeno oportunista que produce infección micótica en seres humanos y animales inferiores, donde la morfología de los tejidos del organismo causante es micelial y se engloban en la denominación de Feohifomicosis. Puede producir infecciones locales superficiales o profundas, reacciones alérgicas, forma diseminada, pulmonar o cerebral.

**CASO CLINICO:** Paciente de sexo masculino, de 52 años de edad, con antecedentes patológicos de trastornos varicosos bilaterales y safenectomía bilateral. Que consulta por presentar dolor, aumento del diámetro de miembro inferior derecho asociado a lesiones cutáneas y fiebre de 12 días de evolución. Paciente permanece internado en otro centro de salud donde recibe múltiples esquemas antibióticos sin mejoría clínica. Ex. Físico: CSV: T: 37,8°, TA: 110/70, FC: 75ppm. Piel y mucosas: turgor y elasticidad disminuidos. Rush micropapular eritematoso en tronco que desaparecía con la vitropresión. En miembro inferior derecho se observan eritema, edema, flictenas y pústulas hasta rodillas, con drenaje espontáneo desde varias bocas de secreción purulenta-hemática. Esfacelo de la piel. Onicomycosis y micosis interdigital en ambos miembros inferiores. Laboratorio: GB: 9.480 (N:72,4 % L:16% Eo:1,5%) GR:3.370.00 Hb:11,4, Hto:33,3, Plaquetas: 744.000, VSG:87, PCR:7,94, Urea: 13, Creat: 0,52, GOT:42, GPT:49, FAL:132, GGT:153, LDH:322, pH: 7,40, Bica: 28,7, pCO<sub>2</sub>: 47, pO<sub>2</sub>: 31, Na: 140; K: 3,1, Cl:100, Ác. Láctico: 1,7. Prot totales: 6,2, Alb: 2,6. Rx de tx: cardiomegalia grado 2, aumento de trama paracardiaca derecha. Hemocultivos por 2 negativos. Muestras de lesiones de piel 4 muestras: M1: 25 PMN/C no gérmenes. M2: 15 PMN/C no gérmenes. M3:10 PMN/C Se observan levaduras. M4: 6PMN/C Se observan levaduras. Cultivo: negativo. Anatomía patológica: cortes histológicos muestran piel con focos de necrosis colicuvativa que compromete hasta hipodermis, representado por intenso infiltrado inflamatorio de PMN y detritos celulares. Coloración de PAS y ZN: negativas. Serología viral Hep B, Hep C y HIV negativas. Serología autoinmune negativa. RMN con Gadolinio: Marcado engrosamiento de todo el tejido celular subcutáneo que involucra toda la pierna derecha hasta tobillo y pie; con ulceraciones de la piel, la mayor de 35mm aproximadamente. No se objetiva compromiso de fascias musculares y estructuras óseas. Dx: Infección de partes Blandas: Celulitis Necrotizante. Terapéutica: Servicio de Cirugía Vascular decide realizar toilette de la lesión. Cumple tto con ceftriaxona+clindamicina por 6 días por buena evolución clínica y analítica se indica Amoxicilina+ Ac Clavulánico por 10 días, fluconazol 100mg/día, difenhidramina 1 amp cada 12 hs, gastroprotección, heparinoprofilaxis y curas planas diarias. Evolución: paciente evoluciona afebril, pero comienzan a manifestar lesiones negruzcas que comienzan en aumento y se desprenden con la cura plana. Se interconsulta con dermatología e Infectología que deciden nueva toma de muestras de lesiones de piel e indican itraconazol 400mg/día. Se recibe informe definitivo de bacteriología: se observan hifas de hongos filamentosos. Se obtuvo desarrollo de *Aureobasidium pullulans*.

**DISCUSIÓN:** La importancia del caso clínico, es que el paciente presenta una infección oportunista de un hongo levaduriformes, siendo el huésped inmunocompetente. Se genera discusión la evolución clínica, que luego de realizar la toilette quirúrgica o iniciar tratamiento antibiótico o antimicótico comienza con mejoría de su síndrome febril y a descender parámetros analíticos como glóbulos blancos y reactantes de fase aguda. Pese a la mejoría analítica y clínica se comenzaron a observar en las curas diarias lesiones negruzcas, friables, no pruginosas, que llamaron la atención del equipo de medicina interna. En un primer momento las levaduras observadas en examen directo y luego desestimadas por el cultivo negativo, orientaban a naturaleza bacteriana, sinérgica y se llegó a descartar pioderma gangrenoso, así como inmunocompromiso. Este caso plantea diagnósticos diferenciales no esperables en paciente inmunocompetente.

**CONCLUSIÓN:** Queremos destacar la importancia de sospechar patógenos infrecuentes en infecciones de partes blandas, que no evolucionan según lo esperado, con el tratamiento empírico indicado. Además se destaca, el desarrollo de un patógeno saprófito en un paciente en el que se descarta inmunocompromiso.

**PALABRAS CLAVES:** *Aureobasidium pullulans*. Inmunocompetente. Feohifomicosis.

## 6. Micología general

# A Multi-centric Study of Candida Bloodstream Infection in Lima, Peru, Describing its Species Distribution, Antifungal Resistance and Clinical Outcomes

**Lourdes Rodriguez, MD<sup>1</sup>, Beatriz Bustamante, MD<sup>2</sup>, Luz Huaroto, MD<sup>3</sup>, Cecilia Agurto, MD<sup>4</sup>, Luis R Illescas, MD<sup>1</sup>, Rafael Ramirez, MD<sup>1</sup>, Alberto Diaz, Med Tech<sup>1</sup> and Jose Hidalgo, MD<sup>1</sup>.**

(1) Guillermo Almenara Hospital, Lima, Peru

(2) Cayetano Heredia University, Lima, Peru

(3) Pathology, Dos de Mayo Hospital, Lima, Peru

(4) Infectious Diseases, Alberto Sabogal Hospital, Callao, Peru

### **Background**

The number of candidemia cases is increasing in developing countries. Scarce studies on candidemia in Peru are available. The aim of this study is to describe the epidemiology of Candida bloodstream infections in Peruvian hospitals, including clinical presentation, outcomes, species distribution and in vitro susceptibility patterns.

### **Methods**

Prospective study at 3 tertiary care hospitals in Lima, Peru. Candida spp. isolates identified by participant hospitals between November 2013 and January 2015 were included. Confirmation of species identification was performed at a Mycology reference laboratory. Susceptibility testing for amphotericin B, fluconazole, posaconazole, voriconazole and anidulafungin was performed using broth microdilution method (CLSI, M27-A3 and M27-S4 approved breakpoints). For posaconazole, epidemiological cutoff values were used to identify reduced susceptibility. Clinical information was collected from medical records, with presentation and outcomes data evaluated statistically when appropriate.

### **Results**

We collected information on 158 isolates. Median age of patients was 50.0 yrs (0-99), and 100 (64.1%) were males. Thirty-eight (24.2%) episodes of candidemia occurred in those < 18 yrs. The most frequently associated conditions were mechanical ventilation (59, 37.6%) and total parenteral nutrition (57, 36.3%). The incidence in each centre ranged between 1.36 and 4.5 cases per 1,000 admissions. Overall 30-day survival was 57.9% (treated subjects, 63.5%; not-treated patients, 50.0%,  $p=0.1032$ ). Only 28.6% of cases received treatment within 72 hrs of diagnosis of candidemia. Frequency of non-albicans Candida was 72.2%. Most frequently isolated species were: *C. albicans* (44, 27.8%), *C. parapsilosis* (40, 25.3%), *C. tropicalis* (39, 24.7%) and *C. glabrata* (14, 8.8%). The fluconazole susceptibility rate was 86.7% (137/158) : 5 isolates were resistant and 16 had dose-dependent susceptibility. Decreased susceptibility to Posaconazole was observed in 2 isolates, and 1 to voriconazole. All isolates were susceptible to anidulafungin and amphotericin B.

### **Conclusion**

We found a high proportion of non-albicans species, with *C. parapsilosis* and *C. tropicalis*, being almost as frequent as *C. albicans*. Decreased susceptibility to fluconazole reached 13.3%. Delay in treatment initiation probably contributed to the elevated mortality rate, in spite of low antifungal resistance rates.

## 6. Micología general

# Estudio de la epidemiología molecular de levaduras del complejo *Candida parapsilosis* en Argentina mediante la caracterización genómica y proteómica de aislamientos clínicos circulantes en el país.

**Rodriguez Del Valle N<sup>1</sup>, Sordelli A<sup>1</sup>, Paula de Benedetti<sup>2</sup>, Cuestas ML<sup>1</sup>, Guelfand L<sup>2</sup>, Carnovale S<sup>1</sup>**

1 Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM, UBA-CONICET), Facultad de Medicina, UBA, Argentina.

2 Hospital General de Agudos “Juan A Fernandez”

En los últimos años se ha descrito a nivel mundial un incremento en la incidencia de candidiasis invasiva, la cual presenta una elevada tasa de mortalidad. En la actualidad, una gran proporción de las infecciones sistémicas son debidas a *Candida* spp. no *C. albicans*, siendo *C. parapsilosis* la segunda especie de *Candida* spp. más frecuentemente aislada de hemocultivos en Asia, América Latina y algunos países europeos.

Debido a la gran heterogeneidad entre los distintos aislamientos de *C. parapsilosis*, la misma ha sido reemplazada por 3 especies cercanamente relacionadas, denominadas *C. parapsilosis* sensu stricto, *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis*. Estas especies presentan diferencias en cuanto a la susceptibilidad a las drogas antifúngicas y a su patogenicidad. De ahí, el interés de estudiar la epidemiología molecular de las mismas. Cabe destacar, que la incidencia de las infecciones con *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis* se ha incrementado significativamente desde el año 2004 hasta la actualidad a nivel mundial. El objetivo del presente trabajo es contribuir al conocimiento de la epidemiología molecular de las levaduras *C. parapsilosis* sensu stricto, *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis* en Argentina mediante la caracterización genómica y proteómica de distintos aislamientos clínicos circulantes en nuestro país. Para ello, se estudiaron y caracterizaron 100 aislamientos de levaduras del complejo *C. parapsilosis* provenientes de distintos tipos de muestras clínicas (orina, piel, biopsias, hemocultivos, etc.) recolectadas durante el periodo 2011-2014 en el Hospital Fernández.

Todas las especies de levaduras aisladas fueron identificadas mediante los métodos de rutina convencionales: API 20C AUX, ID32C. La identificación proteómica se realizó mediante espectrometría de masas MALDI-TOF. La identificación molecular de las distintas criptoformas de *C. parapsilosis* se hizo por PCR del gen *SADH* con primers específicos y posterior RFLP con la enzima de restricción *BanI*.

La identidad de todas estas criptoformas de *C. parapsilosis* se confirmó mediante secuenciación nucleotídica y análisis filogenético de las regiones ITS1 e ITS4 del gen 28S del rRNA.

Mediante el presente estudio, se demuestra la circulación en nuestro país de las 3 criptoformas de *C. parapsilosis*, con una mayor prevalencia de *C. parapsilosis* sensu stricto.

## 6. Micología general

# Cobertura diagnóstica de micosis superficiales en los laboratorios públicos de una provincia

**Alvarez C<sup>1</sup>; Noblega LM<sup>1</sup>; Colombres MS<sup>1</sup>; Atjian MC<sup>1</sup>; Márquez NE<sup>1</sup>; Orellana NR<sup>1</sup>.**

1-Laboratorio de Salud Pública de Tucumán- Servicio de Micología- Mendoza 128- S.M. de Tucumán, Argentina.

### **Introducción**

Actualmente, según los reportes de la literatura mundial, existe un incremento exponencial en la incidencia de las micosis superficiales. Sin embargo, en determinados territorios existe un sub-diagnóstico de estas patologías. Esta situación podría atribuirse a la falta de personal capaz de sospechar de una micosis, escasa cobertura diagnóstica por falta de profesionales entrenados para diagnosticar las micosis microbiológicamente o falta de equipamiento adecuado. El objetivo de dicho trabajo es determinar qué laboratorios del sector público de una provincia cumplen con los requisitos necesarios para implementar el diagnóstico de las micosis superficiales y gestionar los recursos para concretar dicho objetivo.

### **Materiales y métodos**

Para la realización de este trabajo se recabó información aportada por la Dirección de Estadísticas, el Ministerio de Salud y el Departamento Bioquímico de la provincia entre Febrero a Mayo de 2015. El relevamiento consistió en determinar en cual/es Servicios de Salud cumplen con estas tres condiciones: (1) existe una demanda de estudios micológicos por parte del cuerpo médico y la población; (2) había profesionales dispuestos a formarse en toma y procesamiento de muestras de micosis superficiales; (3) tenían las condiciones edilicias y el equipamiento adecuado.

### **Resultados**

El sector público de la provincia, actualmente, está compuesto aproximadamente por 60 laboratorios de diferentes grados de complejidad. El 10% (n=6) realizan toma de muestra y cultivos para micosis superficiales, de estos, el 100% forman parte del Servicio de Microbiología de Hospitales y se encuentran ubicados en la zona céntrica y solo 1 en el Área Este. Del 90% (n=54) de los restantes laboratorios, el 7,4% (n=4) cumple con las tres condiciones para implementar el diagnóstico de las micosis superficiales. Por lo que, se inició la capacitación práctica para la toma de muestra de micosis superficiales, durante Junio, de una bioquímica perteneciente a una Policlínica, cuya área de responsabilidad e influencia son de 13.200 y 65.000 habitantes respectivamente. Lo que corresponde a un 0,9% y el 4,5% de la población total de la provincia y se coordinó la derivación de muestras al Servicio de Micología del Laboratorio de Salud Pública. Posteriormente, se continuará con la capacitación y coordinación de los otros 3 servicios.

### **Conclusiones**

En esta primera etapa, la gestión realizada permitirá mejorar la accesibilidad al diagnóstico micológico de un mayor número de individuos, optimizará los recursos humanos y físicos del estado, descomprimirá la demanda en los hospitales y fortalecerá la vigilancia epidemiológica de las micosis. Por último, en base a los resultados obtenidos, se recomienda continuar fortaleciendo a los laboratorios públicos del nivel I y II a fin de mejorar la cobertura del diagnóstico en micosis superficiales.

**Palabras claves:** cobertura diagnóstica, micosis superficiales

## 6. Micología general

# Immunological and histopathological characterisation of cutaneous candidiasis

**Campos, TG<sup>1</sup>, Pupim, ACE<sup>1</sup>, Zucoloto, AZ<sup>1</sup>, Araújo, EJA<sup>1</sup>, Svidizinsk, TIE<sup>2</sup>, Almeida, RS<sup>1</sup>, Quirino, GFS<sup>1</sup>, Harano, RM,<sup>1</sup> Conchon-Costa, I<sup>1</sup>, Felipe, I<sup>1</sup>.**

1-Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil

2- Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

Chronic mucocutaneous candidiasis constitutes a heterogeneous group of syndromes characterized by noninvasive infection in the skin, nails and mucosal membranes; in all situation there is a reduction of protective cytokines that favors the development of disease. The role of cytokines at skin lesions has been less studied. This study aimed to investigate the disease progression, understand specific cellular and molecular components involved in immunity to *Candida albicans* and to determine the balance between pro- and anti-inflammatory cytokines over the course of cutaneous infection in immunocompetent mice. Balb/c mice (five per group) were inoculated with 5X10<sup>6</sup> *C. albicans* pseudohyphae in the deep dermis of the paw for 1-21 days and as control the contralateral paw were used. Hematoxylin-Eosin staining of mice skin during *C. albicans* infection was performed to analyze structural modifications in the epidermis such as hyperplasia, infiltration of neutrophils and fibroblast in the dermis. The cytokines were determined by capture ELISA using popliteal lymph node tissue. Pro-inflammatory cytokines (IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-12, and IFN- $\gamma$ , IL-17) were detected at significant levels during the initial phase of cutaneous infection and correlated with the rapid elimination of *C. albicans*. The anti-inflammatory cytokines (IL-13, IL-4, IL-10, TGF- $\beta$ ), which were detected on day four postinfection, prevented exacerbated inflammation and participated in lesions healing. Thus, a balance between pro- and anti-inflammatory cytokines was fundamental for resolution of disease. Importantly, this knowledge might be useful in the understanding of the immune mechanisms involved in chronic cutaneous candidiasis.

**Keywords:** cutaneous candidiasis, pro-and anti-inflammatory cytokines, histopathological analysis

Supported by Fundação Araucaria, CAPES, CNPq and PROPPG/UE, Brazil.

## 6. Micología general

# Vigilancia activa de candidemia en la edad pediátrica en 9 hospitales de un país latinoamericano

**Rabello M, Izquierdo G, Payá E, Villena R, Zubieta M, Acuña M, Cofré F, Vizcaya C, Ducasse K, Álvarez AM, Labraña Y, Sandoval C, Avilés CL y Santolaya ME.**

En representación de la Red nacional de Candidemia.

### **Introducción**

La apropiada vigilancia de candidemia es un elemento necesario para implementar estrategias para un óptimo manejo y pronóstico de esta enfermedad. Objetivo: Describir los aspectos epidemiológicos, clínicos y microbiológicos de candidemia en la edad pediátrica en 9 Hospitales de Chile.

### **Materiales y métodos**

Estudio prospectivo, multicéntrico, de vigilancia activa de candidemia en recién nacidos (RN) (0-28 días) y niños (29 días-18 años), realizado en 9 hospitales, entre junio del 2013 y junio del 2015.

### **Resultados**

Se reportaron 64 casos de candidemia en el período descrito, con una incidencia promedio de 0,61/1.000 egresos hospitalarios. Dieciséis de 64 (25%) fueron RN y 48/64 (75%) fueron niños. La mediana de edad de presentación fue 13 días en los RN (p25-75 7-18 días) y de 30 meses en los niños (p 25-75 8-80 m). Las principales especies identificadas en RN fueron *Candida albicans* (76%) y *Candida parapsilosis* (18%) y en niños *C. albicans* (24%), *Candida tropicalis* (22%) y *C. parapsilosis* (16%). La sobrevivida a los 30 días fue de 56% en RN (11/16) y de 79% en niños (38/48). Sesenta y dos/64 pacientes recibieron terapia antifúngica (AF) y 2 RN (12,5%; 2/16) que no recibieron AF fallecieron. El AF más usado en RN fue la anfotericina (deoxicolato y lipídicas), 11/16, (69%) y en niños fueron las equinocandinas 53% (17/ 32).

### **Conclusiones**

Nuestro estudio muestra una predominancia de *Candida albicans* en RN, a diferencia de los niños, donde solo 24% de los aislados correspondieron a esta especie. La sobrevivida en el período de RN fue menor a la reportada en la literatura. Anfotericina fue el AF más usado en neonatos y las equinocandinas en pacientes pediátricos, concordante con las recomendaciones de la literatura actual. Nuestros datos entregan una posibilidad de mejorar en aspectos relacionados con prevención, diagnóstico y tratamiento de los pacientes pediátricos con candidemia en nuestro país.

## 6. Micología general

# Distribución de especies y perfil de sensibilidad de *Candida* spp en un centro de alta complejidad.

**Merkt. M<sup>1</sup> Pennini. M<sup>1</sup> Sucari. A<sup>1</sup> Carrion. S<sup>1</sup> Mujica. L<sup>1</sup> Fernandez Oses. P<sup>2</sup> Nacinovich.F<sup>2</sup>**

1 Stamboulia Laboratorio, CABA, Argentina

2 ICBA, CABA, Argentina.

### Introducción

En las últimas décadas la frecuencia de infecciones fúngicas ha aumentado significativamente. Es importante conocer la epidemiología de cada institución para poder ofrecer estrategias de prevención y tratamiento de las infecciones ocasionadas por hongos. Objetivo: Evaluar los aislamientos de *Candida* spp de muestras consideradas significativas en un centro monovalente de alta complejidad.

### Materiales y métodos

Análisis retrospectivo descriptivo de los aislamientos de levaduras (lev) del género *Candida* (Can) en un centro de internación; se excluyeron los aislamientos de muestras de urocultivo y de todas aquellas que no se consideraron clínicamente significativas. La identificación de lev se realizó utilizando medios cromogénicos (CHROM agar), agar harina de maíz, API ID 32 C (Biomerieux) y RY ID (Siemens). Para las pruebas de sensibilidad se utilizaron pastillas Rosco (Mediatec) e E-test (Biomerieux) utilizando los puntos de cortes del CLSI.

### Resultados

Entre 11/2008 y 12/2014 se aislaron 182 *Candida* spp; se analizaron los datos de 45 muestras (24,7%) por considerarse clínicamente significativas. Estas muestras corresponden a 36 pacientes con la siguiente distribución: *Candida albicans* (Ca) 14 (37%); *Candida tropicalis* (Ct) 6 (16,2%), complejo *Candida parapsilosis* (Cp) 4 (10,8%); *Candida glabrata* (Cg) 3 (8,1%); *Candida guilliermondii* (Cgui) 2 (5,4%); *Candida* sp (Csp) 8 (21,6%). En un paciente se aislaron 2 especies diferentes Ca y Cg. El tipo de muestras analizadas fue: a) muestras obtenidas de torrente vascular: 32 (71,1%); hemocultivos (HC) 17 (37,8%), retrocultivos (Retro) 4 (8,9%), cateteres vasculares (CV) 5 (11,1%), válvula cardíaca (VC) 2 (4,4%); cables de marcapasos 2 (4,4%), prótesis vascular (1) 2,2%, vegetación (1); b) otras: líquido pericárdico 1, herida 1, fibrosis 1, alambre 1, tejido 1, herida de muñón 1, escara 1, hueso 1, líquido abdominal 5. La asociación de muestras más frecuente fue HC+Retro (11,1%) y HC+CV (5,5%). El tiempo de positivización de los HC fue menor a 48 hs (BACTEC FX). La distribución de especies en muestras del sistema cardiovascular fue la siguiente: Ca: 7 HC, 2 CV, 2 Retro; Cp: 4 HC, 1 CV; Ct: 3 HC, 1 CV; Cg: 1 HC, 1 Retro; Csp: 2 HC, 1 CV, 1 Retro. En dos pacientes se aisló Cgui en VC que no fue recuperado de HC. De 24 VC recibidas en el periodo 2 fueron positivas a Can (8,3%). Del total de aislamientos identificados a nivel de especie, a 27 se les realizó pruebas de sensibilidad, siendo todas las cepas de Ca sensibles (S) a Fluconazol (Flu) con CIM menor o igual a 2 ug/ml y todas las Ct S a Flu con CIM menor o igual a 1 ug/ml. De las 4 Cp estudiadas, 3 fueron S a Flu y una que inicialmente era S tuvo cambio de interpretación a resistente según punto de corte CLSI actual (CIM de 3 ug/ml). Cgui: 1 cepa CIM de 8 ug/ml y otra CIM >256 ug/ml, ambas S a Caspofungina.

### Conclusiones

*C. albicans* es la especie más frecuente, seguida de *C. tropicalis* y el complejo *C. parapsilosis*. Destacamos la importancia de la identificación a nivel de especie debido a que la mayoría de las cepas no Cg/Cgui son S a Flu. Consideramos importante en estos tipos de aislamientos, el empleo de la CIM como herramienta para optimizar el abordaje terapéutico.

**Palabra clave:** *Candida*

## 6. Micología general

# Pacientes con Candida en el cultivo de la punta del cateter y hemocultivos negativos

**Tiraboschi I, Pozzi N, Farias L, García S, Fernández N.**

División Infectología y Sección Bacteriología del Hospital de Clínicas José de San Martín, Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires .Argentina

### **INTRODUCCION**

La recuperación de Candida en la punta del catéter venoso central (CVC) es frecuente, pero el significado en cuanto a la indicación de tratamiento es controvertido y existen pocos datos sobre la evolución de estos pacientes.

### **OBJETIVOS**

Conocer la frecuencia de CVC con Candida, la indicación de tratamiento y la evolución de los pacientes.

### **METODOLOGIA**

Se investigó retrospectivamente las historias clínicas de todos los pacientes con Candida en el cultivo de la punta del CVC. Se recopilaron los datos demográficos, la sala de internación, las especies involucradas, la indicación de tratamiento y la evolución de los pacientes.

### **RESULTADOS**

Desde 1998 a 2013 hubo 155 puntas de catéter de CVC en 151 pacientes con desarrollo de Candida que no se acompañaron de hemocultivos positivos. El 50% de los pacientes fueron hombres y el rango de edad fue de 0 a 95 años. La incidencia de CVC positivo con hemocultivo negativo fue de 0,92/1000 egresos (de 0,38 a 1,60) pasó de 0,65 en el período 1998- 2005 a 1,21 en el período 2006-2013 ( $p=0,0002$ , OR 1,86, IC 95%:1,34-2,58). El 48,4% de los pacientes se encontraban internados en terapia intensiva, el 27,1% en salas clínicas y el 16 % en unidades quirúrgicas.

Las especies recuperadas fueron 78 (53,3%) *C.albicans*, 35 (22,6%) *C.parapsilosis*, 25 (16,1%) *C.tropicalis*, 5 (3,2%) *C.glabrata*, 2 (1,3%) *C.lusitaneae* y 10 (6,5%) *Candida spp.*

Hubo 3 pacientes que tuvieron más de una punta de CVC positivo: un paciente desarrollo *C.parapsilosis* en una punta de CVC y otra punta de CVC también con *C.parapsilosis* con diferencia de 8 días entre ambas. Otro paciente tuvo *Candida sp* (no estudiada) y a los 8 días una *C.albicans* en el nuevo CVC. Un tercer paciente tuvo *C.tropicalis* en 3 CVC separados cada uno por un intervalo de 7 días.

Se pudo confirmar la evolución de 103 pacientes, y de ellos 48 (46%) fallecieron. El tiempo promedio entre el retiro del CVC y el fallecimiento fue de 15 días (de 0 a 44).

A 38/66 pacientes (57,6%) se les indicó tratamiento, en 36 fue con fluconazol con un promedio de 12,49 días. Falleció 54,3% de los pacientes que recibieron tratamiento, pero representó el 73,3% de los que recibieron menos de 14 días y el 40% para los que habían recibido 14 o más días de tratamiento ( $p=0,052$ ). La mortalidad de los pacientes internados en UTI fue del 59,3% el 35,7% en cirugía y el 32,1% en clínica. La mortalidad no estuvo estadísticamente relacionada con la especie ni con el haber recibido tratamiento.

### **CONCLUSIÓN**

La recuperación de Candida en la punta del CVC se ha incrementado en los últimos años, es más frecuente en los pacientes internados en terapia intensiva y se acompaña de alta mortalidad, aunque el tratamiento antifúngico no sería un factor determinante en la evolución.

**Palabras claves:** Candida, catéter venoso central, evolución

## 6. Micología general

# Infección Protésica de Cadera producida por *Candida albicans* productora de biofilm.

**Riera F<sup>2</sup>, Rodríguez E<sup>1</sup>, Govedic F<sup>2</sup>, Paiva C<sup>2</sup>, Abiega C<sup>3</sup>, Miró MS<sup>1</sup>, Vigezzi C<sup>1</sup>, Caeiro JP<sup>3</sup>, Icely PA<sup>1</sup> y Sotomayor CE<sup>1</sup>**

1 Inmunología, Dpto. Bioquímica Clínica, CIBICI-CONICET, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba

2 Sanatorio Allende

3 Hospital Privado. Córdoba, Argentina.

La producción de biofilm es un factor de virulencia importante reportado en bacterias que producen infecciones de biomateriales. Esta capacidad también se ha reportado en hongos especialmente en *Candida* spp.

Nuestro objetivo es reportar un caso de infección protésica en la que se pudo evidenciar la producción de biofilm en la especie de *Candida* aislada.

Paciente masculino de 61 años de edad con reemplazo de cadera bilateral, sin comorbilidades asociadas. Del lado derecho presentó infección protésica tardía que se manifestó con dolor articular progresivo que dificultaba la marcha, supuración a través de fistula y signos radiológicos de aflojamiento. El laboratorio evidenció niveles séricos incrementados de proteína C reactiva (PCR) (9,1 mg%). Se decide retirar la prótesis y colocar clavo cementado con antibióticos (gentamicina).

En los cultivos obtenidos durante la cirugía, hubo desarrollo de *Candida albicans* (tipificada por Maldi-Tof). A la cepa aislada se le evaluó la sensibilidad antifúngica por Vitek2 compact (bioMérieux) y la capacidad de producción de biofilm se determinó por el método colorimétrico de XTT [2,3-bis (2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide, clasificando como Pobres (PFB), Buena (BFB) o Alta (AFB).

Este microorganismo no evidenció resistencia ante los antifúngicos evaluados (Fluconazol, Floucitoscina, Vori-conazol, Anfotericina B, Caspofungina y Micafungina). La cepa aislada presentó una elevada capacidad formadora de biofilm en comparación con la producción de *Candidas* provenientes de aislados clínicos de sangre ( $p < 0,05$ ).

El paciente fue tratado con Fluconazol, inicialmente por vía endovenosa y luego durante 6 meses por vía oral. Se observó buena respuesta clínica con desaparición del dolor y de la fistula.

La determinación de factores de virulencia asociados a la patogenicidad del agente causal, tal como la capacidad formadora de biofilm, constituye un factor predictor de riesgo a ser considerado en pacientes con prótesis articulares.

**Palabras claves:** prótesis de cadera, infección, *C. albicans*

## 6. Micología general

# Estudio epidemiológico de las fungemias en hospitales del nodo Rosario

**Amigot, S.<sup>1,2,4</sup>; Podestá, M.V.<sup>1,4</sup>; Dalmaso, H.<sup>1,4</sup>; Tosello, M.E.<sup>1,4</sup>; Romero, M.<sup>2,4</sup>; Dalman, M.<sup>3,4</sup>, Colombo, L.<sup>3,4</sup>; Anchart, E.<sup>4</sup>; Biasoli, M. S.<sup>1,4</sup>.**

1 CEREMIC. Fac. de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas. Univ. Nac. de Rosario. Rosario.

2 CEMAR. Dir. Bioquímica, Sec. Salud Pública Municipalidad de Rosario

3 Microbiología Hospital Escuela Eva Perón. Gro Baigorria.

4 Redes Bioquímicas Provincia Santa Fe. Argentina

La enfermedad fúngica diseminada es una causa frecuente de morbimortalidad en pacientes inmunocomprometidos, en recién nacidos pre término y en enfermos post quirúrgicos o con neoplasias. Las fungemias son causadas principalmente por levaduras del género *Candida*, *Cryptococcus neoformans*, hongos filamentosos y hongos dimórficos como *Histoplasma capsulatum*. Estas infecciones son más frecuentes en los últimos años debido al aumento del número de pacientes con SIDA, al tratamiento con citotóxicos e inmunosupresores y a la utilización de dispositivos intravasculares.

### OBJETIVO

Realizar un relevamiento de las especies fúngicas aisladas de hemocultivos, entre los años 2012 y 2014 en hospitales del nodo de Rosario.

### MATERIALES Y METODOS

Se analizaron todas las muestras de hemocultivos (Hc) de entre los años 2012 y 2014 que correspondían a 2407 pacientes. Estos fueron procesados por la técnica de cultivo en caldo (método manual o en hemocultivador). Las muestras del método manual y las que detonaron como positivas en el hemocultivador fueron subcultivadas a las 24 y 48 hs e incubadas durante 30 días. Las levaduras se identificaron utilizando CHROMagar *Candida*, Agar Harina de Maíz e ID-32C y Vitek 2. Los hongos filamentosos fueron identificados por sus características macro y micromorfológicas.

### RESULTADOS

Del total de 2407 pacientes estudiados, 115 (4,8%) presentaron aislamientos positivos para hongos, 46 (40%) en el año 2012, 37 (32%) en el año 2013 y 32 (28%) en el año 2014.

En 71 pacientes (61,8%) se obtuvieron cultivos positivos para levaduras del género *Candida*, mientras que, 25 (21,7%) correspondieron a *C. neoformans*, 18 (15,6%) a *H. capsulatum* y solo 1 caso (0,9%) de infección fúngica por levaduras del género *Rhodotorula*.

Dentro de las levaduras del género *Candida*, la mayor proporción de los aislamientos se debieron a *C. albicans* (26 casos, 37%), seguida por una igual proporción de aislamientos de *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* (13 casos cada uno, 18%). En menor número se obtuvieron levaduras de *C. famata* (7, 9,8%) y de *C. glabrata* (4; 5,6%). Solo se presentaron dos casos de fungemia por *C. pelliculosa* (2,8%) y 1 caso (1,6%) de aislamiento de *C. dubliniensis* y *C. guilliermondii*. En 4 oportunidades (5,6%) no se logró identificar la especie de *Candida* causante de la infección por lo que se la informó como *Candida* sp.

### CONCLUSIÓN

El aislamiento de levaduras del género *Candida* desde hemocultivos fue más frecuente que *H. capsulatum* y *C. neoformans*. A diferencia de lo reportado por la bibliografía reciente de Argentina y otros países de América Latina, donde aproximadamente el 50% de las candidemias corresponden a *C. albicans*, en nuestra zona se observó un marcado predominio de levaduras no *C. albicans* (63%), particularmente *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*. Si bien el hemocultivo no es el material de elección para el diagnóstico de histoplasmosis y criptococcosis, éstos agentes fueron recuperados en un alto porcentaje principalmente asociado a pacientes HIV(+).

**Palabras claves:** fungemia, hemocultivo

## 6. Micología general

# Factores de patogenicidad de diferentes especies de *Candida*

**Tosello M.E.<sup>1</sup>; Amigot S.<sup>1</sup>; Luque A.<sup>1</sup>; Podestá, M. V.<sup>1</sup>; Racca L.<sup>2</sup>; Magaró, H.<sup>1</sup>. Biasoli M.<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup> CEREMIC.

<sup>2</sup> Area Estadística. Fac. Cs. Bioq. y Farm. UNR. Rosario. Santa Fe. Argentina

### Introducción

Las levaduras del género *Candida* ejercen su virulencia por adherencia celular y producción de proteinasas y fosfolipasas. La actividad de las enzimas extracelulares ha sido asociada con la adherencia, ocasionando daño tisular e invasión del tejido del hospedador. Objetivo: estudiar y comparar la capacidad de adherencia, y la producción de proteinasas y de fosfolipasas de distintas especies del género *Candida* aisladas de muestras clínicas. Las proteinasas y las fosfolipasas tienen la capacidad de hidrolizar proteínas y fosfolípidos de la membrana celular, ocasionando una ruptura de la barrera cutáneo mucosa.

### Materiales y métodos

Se utilizaron 99 cepas de levaduras: 18 de *C. famata*, 17 de *C. albicans*, 17 de *C. parapsilosis*, 17 de *C. dubliniensis*, 15 de *C. tropicalis* y 15 de *C. glabrata* aisladas de diferentes materiales clínicos: hemocultivos, LCR, materia fecal, orinas, mucosa oral, biopsias, etc; que fueron identificadas por métodos fenotípicos y moleculares. Se utilizaron 4 cepas de referencia de: *C. famata*, *C. albicans*, *C. parapsilosis* y *C. dubliniensis*. Se empleó una técnica de adherencia, in vitro, a células epiteliales bucales. Se utilizaron técnicas cualitativas para determinar las actividades fosfolipasa y proteinasa.

Para medir la adherencia se contó el número de levaduras adheridas a 100 células epiteliales bucales. Para la producción de fosfolipasas, se consideró un resultado positivo cuando se observó un precipitado blanco debajo y alrededor de la colonia, que se forma por la degradación de los lípidos. Para la producción de proteinasas se consideró positivo cuando se observó un halo claro alrededor de la colonia, por la degradación de la albúmina.

### Resultados

Los resultados figuran en la tabla a continuación:

Especie	Total cepas por especie	Adherencia mediana±DS	Cepas que expresan proteinasas (%)	Cepas que expresan fosfolipasas (%)
<i>C. famata</i>	19	66±53	2 (11%)	7 (37%)
<i>C. albicans</i>	18	327±81	18 (100%)	18 (100%)
<i>C. parapsilosis</i>	18	418±208	18 (100%)	8 (48%)
<i>C. dubliniensis</i>	18	241±99	10 (58%)	3 (16%)
<i>C. tropicalis</i>	15	230±56	15 (100%)	14 (93%)
<i>C. glabrata</i>	15	22±23	3 (20%)	-

La capacidad de adherencia de las cepas de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. dubliniensis* es significativamente mayor que para las cepas de *C. famata* y de *C. glabrata* ( $p < 0,0001$ ).

*C. tropicalis* se comporta de manera similar que *C. albicans* con respecto a la capacidad de expresar fosfolipasas in vitro; esta expresión es menor para *C. parapsilosis*, *C. famata*, y *C. dubliniensis* y es nula para *C. glabrata*. Con respecto a la capacidad de expresar proteinasas in vitro, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* se comportan igual que *C. albicans*, esta expresión es del 58% para *C. dubliniensis*, y es mínima para *C. glabrata* y *C. famata*. Los porcentajes de expresión de proteinasa y fosfolipasa dependen de la especie de *Candida* ( $p < 0,0001$ ).

Al analizar los tres factores de patogenicidad simultáneamente se puede concluir que la capacidad de adherencia de las levaduras, es significativamente mayor cuando las mismas expresan proteinasas ( $p < 0,0001$ ) y/o fosfolipasas ( $p < 0,005$ ) que para las cepas que no expresan estas enzimas.

La mayor capacidad de virulencia demostrada in vitro por *C. albicans*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*, se correlaciona con la mayor frecuencia de aparición de estas especies en diferentes muestras clínicas.

## 6. Micología general

# Gestión de calidad en Red de Micología.

**Cataldi, S; Fernández, N; Marucco, A; Schijman, M; López Moral L.; Guelfand, L; Arechavala, A; e integrantes de la Red de Micología de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA).**

Red de Micología

Hospital de Infecciosas “F. Muñiz”, Uspallata 2272, CABA, Argentina, C1282AEN

### **INTRODUCCIÓN**

La Red de Micología (RM) comenzó su actividad en abril de 2001 con sólo 6 integrantes. Actualmente nuclea a 26 instituciones (20 públicas y 6 universitarias); está organizada de manera horizontal, con equivalencia entre sus miembros y enmarcada en principios de mejora continua. OBJETIVOS: Describir la metodología de funcionamiento de la RM empleada para optimizar la calidad de las prestaciones en Micología Clínica. MATERIALES Y

### **MÉTODOS**

Se redactaron manuales y procedimientos operativos estándar (POEs); se organizaron actividades de capacitación; se ingresó al Programa Nacional de Control de Calidad en Micología (PNCCM) ; se implementó un Control de Calidad Interno (CCI) ; se registró el tipo de estudios realizados, se midió la producción (determinaciones anuales) entre 2005-2006; 2012-2013 y 2013-2014; se evaluaron nuevos métodos diagnósticos y la epidemiología de fungemia y funguria; se categorizaron los laboratorios según su grado de complejidad técnica en 2001, 2008, 2012 y 2015; se realizaron encuestas anuales de satisfacción interna y se gestionó una página Web. RESULTADOS: Se implementaron 16 POEs y 4 manuales. En las reuniones mensuales se realizaron diversos seminarios, talleres y 4 cursos semipresenciales. Los resultados globales del PNCCM mostraron 97% de cumplimiento y 88% de respuestas correctas. El CCI tuvo un 80% de respuestas correctas. Se presentaron 25 trabajos científicos sobre evaluación de metodologías de laboratorio y de datos epidemiológicos de fungemias y fungurias. Se registraron 26495 determinaciones durante 2005; 281010 determinaciones en 2013, y 279342 en 2014. Se observó un incremento en la producción del 17,7 % entre 2005 y 2006, del 33,6 % entre 2012 y 2013 y se mantuvo constante entre 2013 y 2014. Hubo ascenso en las recategorizaciones de los laboratorios, con un registro en los 2 niveles de mayor complejidad, de 5 centros en 2001; 9 en 2008; 13 en 2012 y 21 en 2015. El nivel de satisfacción entre los integrantes de la red desde 2006 a 2014 fue siempre superior al 80%. Se dispone actualmente del sitio web.

### **CONCLUSIONES**

La capacitación continua, el seguimiento de los controles de calidad, la estandarización de los procedimientos diagnósticos, la comunicación e interacción entre los miembros, se reflejaron en el aumento cuali y cuantitativo de la producción, así como en el alto nivel de motivación y compromiso por parte de los integrantes de la RM.

**Palabras clave:** red, calidad, mejora continua.

## 6. Micología general

# Estudio de la virulencia de mutantes de *Candida glabrata* defectivos en genes FKS utilizando el invertebrado *Galleria mellonella* como modelo de infección.

**Dudiuk C<sup>1,3</sup>, Mellado E<sup>2</sup>, Leonardelli F<sup>1,3</sup>, Macedo D<sup>1</sup>, Cabeza M<sup>1</sup>, Gamarra S<sup>1</sup>, Garcia-Effron G<sup>1,3</sup>.**

1 Laboratorio de Micología y Diagnóstico Molecular - Cátedra de Parasitología y Micología - Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe (Santa Fe) Argentina.

2 Instituto de Salud Carlos III. Centro Nacional de Microbiología,- Servicio de Micología. Majadahonda (Madrid) España.

3 CONICET.

### Introducción

*Candida glabrata* es el segundo agente causal de candidemias a nivel mundial, siendo solo superada por *C. albicans*. En Argentina, ocupa el tercer lugar. El tratamiento de las infecciones por *C. glabrata* es difícil ya que presenta sensibilidad reducida a Anfotericina B y tiene la capacidad de adquirir resistencias secundarias a los triazoles con gran facilidad. Por este motivo, las equinocandinas son consideradas como la primera opción para el tratamiento de candidiasis invasoras. Estas drogas actúan inhibiendo las subunidades Fksp (codificadas por los genes FKS1, FKS2 y FKS3) del complejo enzimático 1,3-β-D Glucan sintasa responsable de la síntesis del componente principal de la pared celular fúngica, los 1,3-β-D glucanos. La resistencia clínica de *C. glabrata* a las equinocandinas ha sido relacionada con mutaciones en FKS1 y FKS2, pero la participación individual de cada uno de los genes FKS en la virulencia de esta levadura aún no ha sido estudiada. Recientemente, se han desarrollado modelos alternativos de infección fúngica utilizando invertebrados, como *Galleria mellonella*, que presentan resultados comparables a los modelos mamíferos (por ej. ratones). Estos modelos facilitan el estudio de factores de virulencia fúngicos evitando las consideraciones éticas asociadas a los modelos experimentales en mamíferos.

Objetivo: Evaluar la virulencia de mutantes de *C. glabrata* defectivos en los genes FKS utilizando el invertebrado *G. mellonella* como modelo de infección.

### Materiales y Métodos

Se generaron los vectores de disrupción de los genes FKS1, FKS2 y FKS3, utilizando el gen URA3 como casete de selección y utilizando tres técnicas distintas: PRODIGE, PCR de fusión y con enzimas de restricción, respectivamente. La transformación de las levaduras se realizó por la técnica de Acetato de Litio utilizando como cepa parental *C. glabrata* LMDM331 (ATCC 90030 ΔURA3). La virulencia de *C. glabrata* se estandarizó en lotes de *G. mellonella* utilizando diferentes dosis de inóculo. Una vez elegido el inóculo adecuado, (5X10<sup>6</sup> UFC/larva) se evaluó la virulencia de 5 cepas de *C. glabrata*, (salvajes y mutantes): ATCC90030, LMDM331, LMDM331ΔFKS1, LMDM331ΔFKS2 y LMDM331ΔFKS3. Los resultados fueron analizados con el método de Kaplan-Meier (curva de muerte) utilizando el software Graph Prism 5.0.

### Resultado

Se obtuvieron *C. glabrata* defectivas en los genes FKS1, FKS2 y FKS3. Todas las cepas (menos la cepa parental 331), fueron capaces de matar las larvas en un período menor a 5 días. No se observó diferencia significativa (p>0.05) entre los mutantes defectivos en los genes FKS y la cepa salvaje (ATCC90030).

### Conclusión

La deficiencia individual de cada uno de los genes FKS no afectan la capacidad de *C. glabrata* para infectar a *G. mellonella*. Sin embargo, el método utilizado no permite establecer diferencias de virulencia sutiles. Se deberán realizar estudios de competitividad (fitness cost) con los mutantes y la cepa salvaje en este mismo modelo.

**Palabras clave:** *Candida glabrata*, glucanos, modelo infección.

## 6. Micología general

# Candidemia, estudio multicéntrico a lo largo de 10 años en la Ciudad de Buenos Aires

**Fernández N., López Moral L., Schijman M., López M., Cataldi S., Arechavala A., Guelfand L., e integrantes de la Red de Micología de la Ciudad de Buenos Aires.**

Red de Micología de la Ciudad de Buenos Aires, CABA, Argentina.

### **INTRODUCCION**

La candidemia es la micosis oportunista más frecuente en todo el mundo, sin embargo tanto la incidencia como la distribución de las especies varía en cada región. El conocimiento de la epidemiología local, es relevante para la elección de terapias empíricas y profilaxis.

### **OBJETIVOS**

Registrar la incidencia de candidemia en centros hospitalarios de la Ciudad de Buenos Aires. Correlacionar los datos demográficos con la distribución de las distintas especies y conocer el tiempo de desarrollo fúngico en los hemocultivos.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se realizó un estudio multicéntrico, retrospectivo y observacional de episodios de candidemias en 18 hospitales de la Ciudad de Buenos Aires, basado en datos de laboratorio entre 01 de enero de 2005 y 31 de diciembre de 2014. Se registraron datos de sexo, edad, sala de internación, especie aislada y tiempo de positivización del hemocultivo. El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa SPSS versión 20.0.

### **RESULTADOS**

Se analizaron 488.086 series de hemocultivos automatizados y 18.595 por lisis-centrifugación. Se registraron 1819 episodios de candidemia con una incidencia de 1,16/1000 ingresos. Las tasas variaron entre 1,06 y 1,27, sin diferencias significativas entre los años estudiados. El 56,6% de los pacientes correspondieron al sexo masculino. La mediana de la edad fue de 49 años (RIC 15-57 años). El 33,9% de los pacientes se encontraban internados en salas de clínica médica; 31,4% en terapia intensiva; 10,6% en unidades quirúrgicas; 5,9% en oncohematología 1,1% en pediatría y 9,5% en neonatología. La frecuencia de especies recuperadas fueron *C. albicans* 38,7%, *C. parapsilosis* 26,9%, *C. tropicalis* 17,4% *C. glabrata* 8,5%, *C. guilliermondii* 1,6% y 1,2 % de cultivos con al menos 2 especies. En el período comprendido entre 2010 y 2014 se registró una disminución de la frecuencia de *C. albicans* 35,3 % ( $p=0,001$ ; OR 0,71; IC95% 0,59-0,86); y un aumento de la frecuencia de *C. parapsilosis* 29,9 % ( $p=0,01$ , OR 1,32; IC95% 1,06-1,6) y *C. glabrata* 9,8 % ( $p=0,02$ ; OR 1,5; IC95% 1,05-2,1) frente a las otras especies; respecto al período 2005-2009. El tiempo de positivización de los frascos tuvo una mediana de 28 h (RIC 21-48 h). Según la sala de internación la distribución entre las especies estuvo asociada en *C. albicans* en neonatología (54,8 %,  $p<0,001$ , OR 2 ; IC 95% 1,5-2,8 ), *C. parapsilosis* en pediatría (55 %;  $p<0,01$ , OR 3,4 ; IC95% 1,4-8,2) y *C. glabrata* en terapia intensiva (10,4 %;  $p=0,005$ , OR 1,42; IC95% 1,005-2). En relación a la edad, los pacientes mayores de 65 años tuvieron mayor aislamiento de *C. glabrata* 13 % ( $p<0,001$ , OR 2,3; IC95% 1,6-3,3) respecto a las demás especies.

### **CONCLUSIONES**

No hubo variación en las tasas de incidencia de las candidemias en los años analizados. *C. albicans* se recuperó en menos de la mitad de los episodios seguida por *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*. El 75% de todas las candidemias se detectaron dentro de las primeras 48 horas de incubación. El hallazgo de *C. glabrata* estuvo asociado a la internación en UTI y al grupo de mayores de 65 años.

**Palabras claves:** candidemia, incidencia, especies

## 6. Micología general

# Experiencia en Fungemia por *Cándida* en un hospital polivalente

**LANDA, M. SEBASTIAN, MJ. BÁRTOLI, C. NAHUELAN, A. ROSSANIGO, C. PIZARRO, S. SPITALE, N. PINCHEIRA, C. CORREA, S. MINGUEZ, A.**

SERVICIO DE INFECTOLOGÍA, HOSPITAL MISERICORDIA NUEVO SIGLO, CÓRDOBA, ARGENTINA.

### INTRODUCCIÓN

La incidencia de candidemias ha aumentado en los últimos años, con valores cercanos al 4-7%. En nuestro país poco se conoce acerca de su incidencia real; los patógenos micóticos son el cuarto microorganismo aislado en Hemocultivos y la quinta causa de infecciones intrahospitalarias, siendo *Cándida* responsable del 80% de éstas últimas. En los últimos años se ha detectado un aumento notable de especies no *albicans*.

### OBJETIVOS

- Caracterizar las fungemias por *Cándida* en pacientes adultos hospitalizados en un hospital polivalente.
- Caracterizar clínico-epidemiológicamente a la población en estudio.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio observacional, descriptivo, retrospectivo mediante revisión de historias clínicas de pacientes adultos hospitalizados con hemocultivos positivos para *Cándida* en un Hospital General Polivalente entre enero 2006 y agosto 2015.

Las variables microbiológicas de aislamiento e identificación de especie fueron obtenidas por el Servicio de Bacteriología mediante el procesamiento de muestras a través del sistema Bact-alert.

Entre las variables analizadas para la descripción clínica-epidemiológica de los pacientes con candidemia, se incluyeron edad, sexo, sitio de internación, comorbilidades, score pronóstico APACHE II y factores de riesgo hospitalarios.

### RESULTADOS

Se identificaron 63 candidemias. Distribución según especie: *albicans* 37%(23/63), *glabrata* 24%(15/63), *tropicalis* 17%(11/63), *parapsilosis* 10%(6/63), otras especies 13%(8/63): *guilliermondii*, *famata*, *dublinensis*. Distribución según sexo: hombres 58% (37/63) y mujeres 41% (26/63), edad promedio 57 años. Lugar de internación: UTI (unidad de terapia intensiva) 76%, sala común 24%. Tiempo de hospitalización promedio previo a hemocultivos positivos 18 días, siendo el tiempo mínimo de internación 1 día y el máximo 60. Se calcularon en 44/63 pacientes: promedio de score APACHE II al ingreso 17. Uso de antibióticos previo muestra positiva: 78% (49/63). El 35% (22/63) de los pacientes presentó una o más comorbilidades, de las cuales se destaca: enfermedad neoplásica en un 45% (10/22), Diabetes 41% (9/22), HIV 14% (3/22) y enfermedad autoinmune en 9% (2/22) de los pacientes. Los factores de riesgo hospitalarios detectados con mayor frecuencia fueron: catéter venoso central en 75% (47/63), sonda vesical 68% (43/63), alimentación parenteral 38% (24/63) y cirugía previa al desarrollo de la infección en 27% (17/63) de los pacientes, practicándose en un 94% (16/17) un procedimiento quirúrgico abdominal. De las historias clínicas evaluadas sólo 1 paciente presentó como complicación, endocarditis fúngica de válvula mitral.

Año	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Aislamientos	5	6	6	6	5	12	10	6	4	4

### CONCLUSIÓN

En nuestro hospital la candidemia se observó en adultos mayores, de sexo masculino, internados en UTI, poli-invalidos. Un tercio presentó comorbilidades, enfermedad neoplásica en primer lugar. Coincidimos con la bibliografía acerca de la distribución de especies, *cándida albicans* en primer lugar, con una prevalencia de *cándida* no *albicans* alta. Destacamos el aumento de la identificación de candidemias durante el 2011, posiblemente relacionado al nuevo perfil de pacientes y mayor complejidad del Hospital a partir de dicho año.

**Palabras clave:** Candidemia, caracterización, hospital polivalente

## 6. Micología general

# Infección rinosinusal por *Scedosporium apiospermum* en una paciente inmunocompetente.

**Autores: Marano, R.; Schijman M.; Ricciardi, O.; Cofre, A.; Terzano M.; Gasparin A.; Guzman G.; Chuluyan J. C.**

Hosp. Gral .de Agudos T. Alvarez.

### INTRODUCCIÓN

La incidencia y prevalencia de rinosinusitis fúngica se ha incrementado en los últimos años, así como también la diversidad de los patógenos involucrados. *Scedosporium apiospermum* es un reconocido patógeno oportunista, fundamentalmente en huéspedes inmunocomprometidos; su aislamiento en fosa nasal y cavidades paranasales en pacientes inmunocompetentes, es inusual.

### RESUMEN DE HISTORIA CLINICA

Se presenta un caso clínico de una paciente de 31 años de edad, de nacionalidad paraguaya que realiza actividades domésticas. Comenzó 2 meses previos a la consulta con rinitis secretora y sensación de cuerpo extraño en fosa nasal izquierda, sin otra manifestación clínica. Consultó al Servicio de Otorrinolaringología del Htal. Alvarez. Se realizó rinoscopia de fosa nasal izquierda, donde se constató imagen compatible con cuerpo extraño tipo rinolito (color marfil) con consistencia dura calcárea observándose detrás de la misma formación gelatinosa que se envió para estudio microbiológico. Se intentó extraer rinolito extrayéndose parcialmente el mismo. Del material obtenido, se observaron en el exámen microscópico directo: filamentos hialinos ramificados y tabicados junto a trofozoitos flagelados compatibles con *Trichomonas tenax*. En los cultivos se obtuvo desarrollo de *S. apiospermum*, forma anamorfa o asexuada de *Pseudallescheria boydii*. Los estudios de laboratorio no arrojaron datos significativos y la serología para VIH fue No reactiva. Se efectuó Tomografía Axial Computada de Macizo Craneofacial que reveló imagen de densidad calcárea en sector de cornete inferior y sinusitis maxilar izquierda por bloqueo del complejo osteomeatal con leve sinusitis etmoidal anterior. Se inició tratamiento con Itraconazol 200 mg/d, cumpliendo 3 meses de tratamiento. Se solicitaron nuevas imágenes control para completar exéresis de rinolito y apertura de complejo osteomeatal izquierdo.

### DISCUSIÓN

*Scedosporium* spp presenta cuadros clínicos variados que van desde:

- \* Colonización del tracto respiratorio
- \* Reacciones alérgicas
- \* Formas clínicas diseminadas en el huésped inmunodeprimido
- \* Formas clínicas localizadas: sinusitis, infección de piel y partes blandas (micetoma) con extensión a tendones, hueso y articulaciones (Osteomielitis, artritis sépticas), queratitis ocular. Otras: otomicosis, onicomycosis, prostatitis crónica, peritonitis, esofagitis, infección renal, abscesos hepatoesplénicos, cerebral y tiroideo.

En nuestra paciente el mal drenaje de los senos paranasales, pudo haber favorecido la colonización persistente por *Scedosporium* spp originando la masa fúngica y la sinusitis aguda o subaguda.

Nuestra paciente recibió tratamiento con Itraconazol con buena respuesta clínica. Interpretándose como una infección localizada en un huésped inmunocompetente.

Los antifúngicos recomendados en el tratamiento de pacientes inmunocomprometidos o con formas diseminadas y la duración del mismo son controvertidos.

En pacientes inmunocompetentes, está indicada la resolución quirúrgica, que en nuestra paciente fue parcial por dificultades técnicas.

### CONCLUSION

Se destaca que la infección por *S. apiospermum* debe incluirse en el rango creciente de patógenos oportunistas que afectan cavidades paranasales.

**Palabras claves:** *Scedosporium apiospermum*, rinosinusitis fúngica, inmunocompetente

## 6. Micología general

# Reidentificación de aislamientos de *Debaryomyces hansenii* mediante secuenciación, MALDI-TOF y análisis de la sensibilidad a los antifúngicos

**Taverna C.G.<sup>1</sup>, Mazza M.<sup>1</sup>, Isla G.<sup>1</sup>, Cordoba S.<sup>1</sup>, Straminsky F.<sup>2</sup>, Guelfand L.<sup>2</sup>, Murisengo O.<sup>1</sup>, Vivot M.<sup>1</sup>, Vivot W.<sup>1</sup>, Szusz W.<sup>1</sup>, Bosco Borgeat M.E.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Departamento Micología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas “Dr. C.G.Malbrán”, CABA, Argentina.

<sup>2</sup> Laboratorio de Microbiología, Hospital “J.A. Fernandez”, CABA, Argentina.

*Debaryomyces hansenii*; anamorfo: *Candida famata*, forma parte del creciente listado de levaduras patógenas oportunistas causantes de infección en pacientes inmunocomprometidos.

La taxonomía de *Debaryomyces hansenii* y especies relacionadas ha cambiado frecuentemente durante las décadas pasadas. Se han propuesto 3 diferentes especies dentro del llamado grupo *D. hansenii*: *D. hansenii*, *D. fabryi* y *D. subglobosus*.

El objetivo del presente trabajo fue reidentificar aislamientos clínicos de *D. hansenii* mediante de secuenciación del ADN ribosomal y del gen actina-1 (ACT1). Evaluar la utilidad de la técnica de MALDI-TOF para la identificación y determinar la sensibilidad a los antifúngicos.

Se analizaron 15 aislamientos clínicos previamente identificados como *D. hansenii* mediante métodos fenotípicos. Para la reidentificación se utilizó la secuenciación de la región ITS del ADN ribosomal y la del gen ACT1, las secuencias obtenidas se compararon con las bases de datos públicas. Se realizó la identificación y análisis de perfiles proteicos mediante MALDI-TOF. La CIM se determinó según el método de referencia EDef 7.2 (EUCAST). Se evaluaron las siguientes concentraciones de antifúngicos: 0,03-16 mg/L para la anfotericina B, el itraconazol (IZ), el voriconazol (VZ), el posaconazol (PZ), la anidulafungina y la caspofungina, y 0,25-128 mg/L para el fluconazol (FZ). Se calculó la CIM<sub>50</sub>, CIM<sub>90</sub>, media geométrica y moda. No hay puntos de corte para categorizar a *Debaryomyces* spp. como sensibles o resistentes.

Todas las secuencias de la región ITS obtenidas presentaron un alto nivel de similaridad (100%-98%) con las secuencias de las especies del grupo *D. hansenii* y otras especies de *Debaryomyces*. De acuerdo con las secuencias de ACT1, 8 aislamientos fueron identificados como *D. hansenii*, 1 aislamiento como *D. fabryi* y 6 aislamientos como *D. nepalensis*.

Con la metodología de MALDI-TOF los 8 aislamientos de *D. hansenii* fueron correctamente identificados y los 7 restantes no pudieron ser identificados.

EL análisis de todos los perfiles proteicos permitió separar los grupos de especies en concordancia con los resultados de secuenciación.

En general, para *D. hansenii* y *D.fabryi* todos los antifúngicos fueron activos in vitro, mientras que para *D. nepalensis* el FZ, el IZ, y el PZ fueron menos eficaces, CIM  $\geq 4$ , 1 y 0,5 mg/L respectivamente.

En concordancia con lo descrito en la bibliografía, la región ITS no permitió la identificación de este grupo de especies. Con la secuenciación de ACT1 pudimos identificar *D. hansenii* y *D. fabryi* como especies circulares en nuestro país y otra especie cercanamente relacionada *D. nepalensis*. Utilizando la técnica de MALDI-TOF los aislamientos de *D. nepalensis* y *D. fabryi* no fueron identificados debido a que la base de datos no cuenta con perfiles de estas especies. Sin embargo, mediante el análisis de los espectros pudimos discriminar entre las 3 especies encontradas. La correcta identificación de estas especies cercanas es importante dado que se observó una sensibilidad diferencial entre ellas.

**Palabras clave:** *D. hansenii*, secuenciación, MALDI-TOF, antifúngicos.

## 6. Micología general

# Importancia de la oportunidad diagnóstica en micología, por equipo multidisciplinario en un Hospital General

**Rodríguez A.\*; Mousqués N.<sup>a</sup>; Alvez M.\*; Fornelli R.\*; González H.\***

\*Especialista en Enfermedades Infecciosas, <sup>a</sup> Parasitólogo

Todos los autores pertenecen al Hospital Central de las Fuerzas Armadas, Montevideo, Montevideo, Uruguay

### Introducción

Las micosis constituyen un grupo de enfermedades en mantenido crecimiento, no solo en incidencia sino además en importancia, debido entre muchas razones al avance en la medicina intervencionista, trasplantes, inmunocompromiso de diferente etiología, las migraciones, las catástrofes naturales, la expansión de las zonas urbanizadas, guerras. Estos hechos modifican no solo los comportamientos humanos sino la ecología, la biosfera etc., permitiendo a un ritmo estrepitosamente acelerado, entre otras cosas que las técnicas diagnósticas y terapéuticas vayan corriendo de atrás a los desafíos presentes. Al contrario que en otras micosis más frecuentes, en relación a micosis sistémicas por hongos filamentosos ubicuos y oportunistas de curso agresivo rápido y con alta tasa de mortalidad, el no disponer de pruebas diagnósticas simples impiden al clínico el diagnóstico y la terapéutica precoz.

Por lo anterior mencionado queremos resaltar la importancia de la sospecha y sagacidad clínica así como la correcta toma de muestra y un análisis inmediato en fresco que permitirían incidir en la evolución del paciente grave.

Debemos tener presente ciertos factores de riesgo para plantear este tipo de agentes etiológicos como por ejemplo: fiebre persistente, neutropenia, inmunodeficiencias, lesiones en piel, vísceras o mucosa, refractariedad a tratamiento antibiótico de amplio espectro. Sumado al hecho de que, en general, estos hongos presentan mayor resistencia a los antifúngicos disponibles condiciona que se haya suscitado un especial interés en los llamados hongos filamentosos emergentes. Presentamos dos casos clínicos que marcan la importancia de esta evidencia en la evolución y tratamiento de Hialohifomicosis y Cromoblastomicosis.

### Resumen clínico

**Caso 1.** Paciente de sexo femenino 42 años cursando recaída de Leucemia aguda linfoblástica ingresa para realizar tratamiento con Poli quimioterapia evolucionando neutropénica llegando a valores de 0 neutrófilos al día 3 post poli quimioterapia. Se instala profilaxis con ciprofloxacina más fluconazol más aciclovir. Febril al día 9 post QMT con peoría del estado general agrega lesiones cutáneas de miembros inferiores redondeadas, de 2 a 4 cm de diámetro, induradas de color violáceo y con centro necrótico con bordes netos y eritematosos, sin supuración con posterior progresión a tronco y miembros superiores. Concomitantemente nódulos subcutáneos sin cambios a nivel de la piel que los recubre. Se rota plan antimicrobiano a Meropenem más vancomicina más Fluconazol más Aciclovir. Hemocultivos sin desarrollo. Se realiza aspirado de nódulos subcutáneos y se envía muestra para estudio micológico donde se observan filamentos de moho en el examen directo sin desarrollo en el cultivo. Examen bacteriológico sin desarrollo. Se inicia tratamiento con Voriconazol dosis carga de 400 mg cada 12 horas intravenoso luego 200 mg cada 12 horas más terbinafina 250 mg día. A los 10 días de iniciado el tratamiento franca mejoría de las lesiones de cutáneas y del estado general sin fiebre y con resolución de la neutropenia se pasa a voriconazol vía oral.

**CASO 2.** Paciente de sexo masculino de 67 años de edad Diabético en tratamiento con hipoglucemiantes orales. Consulta por lesión única en cara anterior de antebrazo derecho de semanas de evolución redondeada sobreelevada de color grisáceo de aproximadamente 7 por 7 cm de diámetro, de límites netos y sin supuración de aspecto verrucoso. Presenta al momento de la consulta resultados de hemograma, funcional y enzimograma hepático y función renal normales. Se solicita estudio micológico de la lesión donde el resultado del directo informa que se trata de una cromoblastomicosis. Se inicia tratamiento con itraconazol a una dosis de 200 mg por día logrando disminución progresiva hasta la desaparición de la lesión luego de 12 semanas de tratamiento con dicho fármaco.

### Conclusiones

Queremos destacar la importancia de la sospecha clínica para micosis profundas en pacientes con factores de riesgo y la solicitud precoz de estudios micológicos, destacando la relevancia del estudio directo

Por lo tanto es imprescindible el trabajo en equipo y tener un contacto estrecho con los profesionales del laboratorio aportando datos clínicos para obtener resultados en forma precoz.

**Palabras clave:** Hialohifomicosis, Cromoblastomicosis

## 6. Micología general

# Estudio local de distribución de especies, capacidad formadora de biofilm y resistencia molecular a equinocandinas en pacientes con candidemias

**Icely P.A.<sup>1,2</sup>, Dudiuk C.<sup>3,4</sup>, Rodríguez E.<sup>1,2</sup>, Gamarra S.<sup>3</sup>, Paiva C.<sup>5</sup>, Decca L.<sup>6</sup>, Miró M.S.<sup>1,2</sup>, Vigezzi C.<sup>1,2</sup>, Caeiro J.P.<sup>2</sup>, Riera F.<sup>2,5,6</sup>, Garcia-Effron G.<sup>3,4</sup>, Sotomayor C.E.<sup>1,2</sup>**

1 CIBICI-CONICET- Fac. de Ciencias Químicas, Univ. Nac. de Córdoba.

2 Grupo de Investigación en Inmunología y Micología.

3 Lab. de Micología y Diagnóstico Molecular, Cátedra de Parasitología y Micología.

4 CONICET, Univ. Nac. del Litoral, Santa Fe, Argentina.

5 Sanatorio Allende.

6 Clínica regional del Sur, Río Cuarto, Córdoba.

Las infecciones diseminadas causadas por *Candida* spp. son frecuentes y presentan un elevado índice de morbilidad y mortalidad. La formación de biofilm es un importante factor de virulencia que le permite a *Candida* la adherencia a superficies vivas e inertes y le confiere resistencia a los agentes antifúngicos y al sistema inmune del huésped. La detección de resistencia a drogas como las equinocandinas es relevante al momento de elección del tratamiento; el estudio de mutaciones por técnicas moleculares es hoy el método más rápido y preciso para su evaluación. Evaluar en un grupo de pacientes con candidemia la distribución local de especies, capacidad formadora de biofilm (CFB), sensibilidad antifúngica y presencia de mutaciones en gen FKS1 relacionadas a la resistencia clínica a las equinocandinas. Se estudió 19 pacientes con candidemia de 2 hospitales locales. Las levaduras se aislaron de hemocultivo y se las identificó molecularmente (secuencias del operon ribosomal). Para la resistencia antifúngica se usó Vitek2 y para la sensibilidad a caspofungina los protocolos M27A3 y M27S4 (CLSI). Las mutaciones en el gen FKS1 de *C. albicans* se detectaron por métodos moleculares. La CFB se evaluó por la técnica colorimétrica de XTT y de acuerdo al desarrollo las cepas se clasificaron como: Pobres (PFB), Buenas (BFB) y Altas (AFB). La inmunosupresión y la utilización de nutrición parenteral fueron los factores de riesgo destacables. Las cepas se identificaron como *C. albicans* (n=11; 57,9%), *C. parapsilosis sensu stricto* (n=4; 21,1%), *C. krusei* (n=2; 10,6%), *C. lusitanae* (n=1; 5,2%) y *C. guilliermondii* (n=1; 5,2%). Todas las cepas fueron sensibles a caspofungina con medias geométricas de: 0,030 µg/ml, 0,294 µg/ml, 0,12 µg/ml, 0,25 µg/ml y 0,25 µg/ml, respectivamente. Ninguna de las *C. albicans* presentaron mutaciones en FKS1. Todos los aislados estudiados formaron biofilm, siendo las cepas categorizadas como: 21% AFB, 74% BFB y sólo el 5% PFB. Los factores de riesgo para esta micosis fueron los descriptos. Los datos nacionales sobre prevalencia de agentes de funguemia publicados por el Inst. Malbrán (2011) indican que *C. albicans* es la especie principal seguida de *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. glabrata* (38,4%, 26%, 15,4% y 4,3%, respectivamente). En este trabajo, *C. albicans* es la especie más frecuente y con una prevalencia mayor a la nacional, no se encontraron *C. tropicalis* ni *C. glabrata* y se detectaron especies con resistencias primarias a flucanazol (*C. krusei*). La formación de biofilm fue un atributo de virulencia exhibido por todas las cepas evaluadas, siendo el 95% de ellas altas o buenas formadoras de biofilm. Las cepas estudiadas presentaron buena sensibilidad a la caspofungina reforzando la idea de su uso como primera línea de tratamiento para candidemia.

**Palabras Clave:** *Candida albicans*, equinocandinas

## 6. Micología general

# Candida africana: caracterización bioquímica, molecular y capacidad patogénica in vivo

**Miró M.S.<sup>1,2</sup>, Dudiuk C.<sup>3,4</sup>, Rodríguez E.<sup>1,2</sup>, Gamarra S.<sup>3</sup>, Vigezzi C.<sup>1,2</sup>, Icely P.A.<sup>1,2</sup>, Riera F.<sup>2</sup>, Caeiro J.P.<sup>2</sup>, Garcia-Effron G.<sup>3,4</sup>, Sotomayor C.E.<sup>1,2</sup>**

1 CIBICI-CONICET-Fac. de Ciencias Químicas, Univ. Nac. de Córdoba.

2 Grupo de Investigación en Inmunología y Micología, Córdoba.

3 Lab. de Micología y Diagnóstico Molecular, Cátedra de Parasitología y Micología,

4 CONICET, Univ. Nac del Litoral. Santa Fe. Argentina.

La clasificación taxonómica de *C. africana* está en discusión. Algunos autores la consideran una nueva especie del complejo *C. albicans* y otros una variedad inusual de *C. albicans*. Lo que no se discute es que *C. africana* es agente causal de candidiasis vulvovaginal (CVV). Se ha especulado que el estrecho nicho anatómico de esta especie estaría relacionado con su menor capacidad de filamentación, sin embargo no se ha explorado su patogenicidad en modelos mamíferos de infección. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la virulencia de una cepa de *C. africana* aislada en Argentina en un estudio comparativo con aislados clínicos de pacientes con CVV recurrente (CVVR) y en un modelo animal de CVV. La cepa de *C. africana* fue aislada de una paciente con CVV. Se identificó fenotípicamente por criterios morfológicos y bioquímicos. Se utilizó la amplificación del gen HWP1 y la secuenciación de las regiones ITS (rRNA) para la identificación molecular. Con respecto a la sensibilidad a antifúngicos fueron evaluados: fluconazol, itraconazol, voriconazol, clotrimazol, terbinafina, anfotericina B y nistatina (M27A3 y M27S4). Se determinó la capacidad formadora de biofilm (CFB) (ensayo XTT) junto a 8 aislados de *C. albicans* de pacientes con CVVR (CVVR1-8). La patogenicidad de *C. africana* se evaluó en un modelo animal de CVV y su capacidad infectiva fue comparada con: una cepa de *C. albicans* CVVR, ATCC 36801 y SC5314. Se utilizaron ratones hembras C57BL/6 en fase estro del ciclo hormonal inducida con inyecciones repetidas de estradiol. Los animales se inocularon intravaginalmente (iv) con 5.106 levaduras de las respectivas cepas en el día (D) 0. A los D 2, 4 y 8 post infección (pi) se obtuvo el lavado vaginal (LV) para evaluar la carga fúngica (UFC). *C. africana* tuvo un patrón de asimilación de fuentes de carbono similar a *C. albicans* (ATCC 90028 y SC5314) y *C. dubliniensis* (NCPF3949) pero fue incapaz de asimilar trealosa. Fue tubo germinativo positivo, clamidoconidios negativo, formó colonias verdes en CHROMagar y no pudo crecer a 42°C. *C. africana* presentó un fragmento de 700 pb al amplificar el gen HWP1 (*C. albicans* 941 pb y *C. dubliniensis* 569 pb) y las mutaciones previamente descritas en las regiones ITS (rRNA). Presentó CIM muy bajas para todos los antifúngicos estudiados. La CFB fue buena y similar a los aislados clínicos de CVVR (p=NS). En el modelo animal la infección con *C. africana* exhibió un comportamiento similar a *C. albicans* CVVR, con una sostenida carga fúngica iv a lo largo de todo estudio (p=NS). Al D8 pi ambas cepas clínicas mostraron valores elevados de UFC (p<0,05) en comparación con animales infectados con *C. albicans* ATCC 36801 y SC5314. El presente estudio demuestra que la cepa de *C. africana* aislada y caracterizada presenta una virulencia similar a *C. albicans* patogénicas aisladas de tracto genital femenino. Nuestros resultados aportan nueva y valiosa evidencia sobre su capacidad infectiva en un modelo animal de CVV.

**Palabras clave:** Candidiasis Vulvovaginal, *Candida africana*

## 6. Micología general

# Humoral immune response to *Paracoccidioides lutzii* antigens in experimental paracoccidioidomycosis in mice

**Cabral, W.R.A.S.<sup>1</sup>; Sekiguchi B.A.<sup>1</sup>, Lenhard-Vidal A.<sup>1</sup>; Sano A.<sup>2</sup>; Carlos, N.J.<sup>1</sup>; Itano E.N<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup> State University of Londrina, Londrina, PR, Brazil.

<sup>2</sup> University of the Ryukyus, Okinawa, Japan

Paracoccidioidomycosis (PCM) is one of the most important systemic mycosis in Latin America. The disease is caused by the dimorphic fungus *Paracoccidioides brasiliensis* (S1, PS2, PS3 and PS4) and by the recently discovered new species *P. lutzii*. Current research aimed to evaluate the humoral immune response to *P. lutzii* in experimental murine paracoccidioidomycosis. Swiss mice were divided into three groups, with six mice per group: control (no infection, with injection of sterile PBS), infected (intravenously  $1 \times 10^6$  *P. lutzii* =LDR2) and sacrificed 14 days post-infection (p.i.) and a group infected (i.v.  $1 \times 10^6$  *P. lutzii*) and sacrificed 28 days p.i. Indirect ELISA was employed to analyse the levels of IgG to cell free antigens (CFA) from *P. brasiliensis* (Pb18) and *P. lutzii* (LDR2), and the levels of IgG anti-gp43 and anti-high molecular mass (hMM) from *P. lutzii*. The results show significantly higher levels of serum IgG anti-CFA from Pb18 or *P. lutzii* or to hMM from *P. lutzii*, after 28 days of infection with *P. lutzii* compared to the uninfected control group ( $p < 0.05$ ), but there was no difference of antibody levels anti-gp43 ( $p > 0.05$ ). In conclusion, the experimental infection of swiss mice with *P. lutzii* induced humoral immune response to *P. lutzii* total soluble antigens and to hMM, but not to gp43. Additionally, the antibodies produced also interacted with soluble antigens of *P. brasiliensis*, suggesting the presence of common antigens between the two etiological agents of PCM.

## 6. Micología general

# Neurocandidiasis: rol del inflammasoma NALP3 en la respuesta inflamatoria mediada por IL-1beta durante la infección sistémica con *Candida albicans*

**Viguzzi C , Rodríguez E , Miró MS , Icelly P , Garcia-Effron G , Riera F , Caeiro JP , Sotomayor CE.**

*Candida albicans* es un hongo oportunista capaz de causar infección cerebral en neonatos y pacientes inmunocomprometidos. Las células gliales residentes de cerebro, participan en la respuesta antifúngica mediante la producción de mediadores inflamatorios. El inflammasoma NALP3 es un complejo multimolecular involucrado en el procesamiento y activación de interleuquina-1 beta (IL-1 beta), citoquina pro-inflamatoria importante en el control de este patógeno. En la actualidad poco se conoce sobre los mecanismos que ocurren durante la respuesta inmune innata frente a los hongos en el Sistema Nervioso Central (SNC).

Nuestro objetivo fue evaluar la respuesta inflamatoria local, los cambios histopatológicos y la contribución de la activación del inflammasoma NLRP3 en cerebro, luego de una infección diseminada con *C.albicans*.

Para este propósito se utilizó el siguiente modelo pre-clínico animal: ratones C57BL/6 de tipo salvaje (WT) fueron infectados por vía intravenosa con  $2,5 \times 10^6$  *C.albicans* (SC5314), y a las 4, 12, 24 y 48 horas fueron sacrificados y se obtuvo sangre, riñón y cerebro para evaluar carga fúngica (CFU), histología (PAS y HE), expresión de IL-1 beta y NALP3 (PCR) y producción de dicha citoquina (ELISA) en homogenato de cerebro. A fin de evaluar la contribución de la IL-1 beta en la respuesta al hongo se incluyeron en el presente estudio ratones NALP3 deficientes (KO) que fueron sometidos al mismo tratamiento. En animales WT, el pico de fungemia ocurrió a las 4 h p.i, tiempo en el que el hongo fue recuperado de cerebro (CFU- $p < 0,05$ ) y se observó en el parénquima cerebral en ausencia de infiltrado inflamatorio. Inmediatamente después de la llegada del hongo, la secreción local de IL-1 beta aumentó significativamente con respecto al control sin infectar ( $p < 0,05$ ), mientras que la expresión de NALP3 se mantuvo durante las 4h y 12h pi. Interesantemente en animales deficientes en NALP3, la carga fúngica en el cerebro fue significativamente mayor que la observada en los animales WT a tiempos tan tempranos como 4h p.i. ( $p < 0,05$ ). Este trabajo demuestra la relevancia de IL-1 beta intracerebral durante la respuesta inflamatoria frente a *C.albicans*.

## 6. Micología general

# Zoonosis micóticas asociadas a conejos

**Reynaldi F.J.<sup>1,2</sup>, Della Vedova R.<sup>1</sup>, Cordiviola C.A.<sup>3</sup>, Trigo M.S.<sup>3</sup>, Reinoso E.H.<sup>1</sup>, Córdoba S.B.<sup>1,4</sup>**

1 Cátedra de Micología Médica e Industrial “Prof. Dr. Pablo Negroni” FCV UNLP La Plata, Argentina

2 CCT- CONICET La Plata, Argentina

3 Cátedra de Introducción a la Producción Animal FCAYF UNLP, La Plata, Argentina

4 Departamento Micología, INEI ANLIS “Dr. C. G. Malbrán”, Buenos Aires, Argentina

**Palabras claves:** Conejos, Zoonosis, Tiñas

La Tiña en los conejos es una micosis zoonótica que afecta tegumentos y faneras, causada por *Trichophyton mentagrophytes*, principalmente. La incorporación de los conejos como mascotas en establecimientos educativos, granjas de recuperación y ambiente familiar reviste carácter de importancia en la vigilancia y prevención de la transmisión de esta zoonosis. Los niños son especialmente vulnerables a la infección por el estrecho contacto con las mascotas. El Querion de Celso es el signo clínico observado y es causa de discapacidad social, por el aspecto de la lesión.

El objetivo fue relevar la presencia de esta micosis en los conejares de establecimientos educativos y de producción del conurbano bonaerense desde abril del 2013 hasta febrero del 2014.

En 9 establecimientos, 3 educativos y 6 de producción, se evaluó el estado de salud de los animales y se realizaron tomas de muestras de los clínicamente sanos y enfermos, muestras del ambiente, del personal y niños expuestos que presentaron lesiones compatibles con tiña. Las muestras se obtuvieron por depilación y raspado, se realizó observación microscópica directa con OHK 40% en caliente, se sembraron en agar Sabouraud con cloranfenicol y cicloheximida. Para las muestras de alimento, cama y ambiente se usó la técnica del anzuelo (placas con tierra y pelos estériles inoculadas con muestras). Se incubaron a 25/28°C por 7/21 días. Los cultivos se identificaron por macro y micromorfología, y pruebas fisiológicas (urea, pigmento difusible rojo vináceo, ataque al pelo in vitro). De los 9 establecimientos, solo 2 (22,2 %) de producción fueron positivos para *T. mentagrophytes*, en todas sus muestras (animales, ambiente y personal).

En nuestro estudio, la presencia de *T. mentagrophytes* fue menor a la comunicada por otros autores en establecimientos de la zona, quienes reportaron un 50 % de establecimientos positivos sobre 10 evaluados.

Hay que destacar la importancia del laboratorio de micología en el control de animales nuevos, para descartar la introducción de portadores sanos, así como conocer los antecedentes sanitarios de unidades productivas a adquirir. De esta manera resulta prioritario para el control de esta zoonosis determinar el estatus sanitario de los conejares, a partir del relevamiento y estudio microbiológico de todo el sistema productivo.

## 6. Micología general

# Especies levaduriformes aisladas de pacientes pediátricos hospitalizados

**Rojas F<sup>1</sup>, Finquelievich J<sup>2</sup>, Fernández M<sup>1</sup>, Cattana ME<sup>1</sup>, Sosa MÁ<sup>1</sup>, Liliana A<sup>1</sup>, Bertona V<sup>1</sup>, Giusiano G<sup>1</sup>.**

1 Instituto de Medicina Regional, UNNE, Av. Las Heras 727, Resistencia, Argentina

2 Dpto. de Microbiología Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina, UBA, Viamonte 430, Buenos Aires, Argentina.

En los últimos años se ha observado un considerable aumento en las micosis sistémicas y un importante cambio en la frecuencia y diversidad de las mismas. Entre ellas, más del 50% son producidas por levaduras. Las levaduras del género *Candida* surgen como importantes patógenos nosocomiales junto a otros géneros antes considerados inocuos o que raramente producían enfermedad. Los pacientes pediátricos hospitalizados representan un importante grupo de riesgo para desarrollar este tipo de infecciones. El objetivo de este trabajo fue determinar la frecuencia de especies levaduriformes aisladas de muestras clínicas de pacientes neonatos y pediátricos de unidades de internación del nordeste argentino.

Entre enero de 2004 y Julio de 2015 todas las levaduras aisladas de pacientes neonatos y pediátricos internados en centros de Salud de la ciudad de Corrientes y Resistencia, fueron derivadas al departamento de Micología de Instituto de Medicina Regional. La identificación de las mismas fue realizada por pruebas fisiológicas, bioquímicas y por características micro-morfológicas de los aislamientos, luego confirmadas por sistema comercial API ID 32C. Se procesaron un total de 433 aislamientos obtenidos de 266 pacientes: 188 fueron pediátricos y 76 neonatos. El 50,2 % fueron femeninos y el 49,8 % masculino. La edad máxima de los pediátricos fue 16 años y neonatos fueron considerados los infantes de  $\leq 30$  días. Los aislamientos fueron obtenidos más frecuentemente de muestras de sangre, catéter y orina en los pacientes pediátricos, y de orina y materia fecal en neonatos.

*C. albicans* fue la especie aislada con mayor frecuencia (34,3%), seguida por *C. parapsilosis* (33,1%) y *C. tropicalis* (21,8 %). Esta frecuencia se mantuvo cuando se consideraron las dos poblaciones por separados. *C. parapsilosis* fue aislada más frecuentemente de hemocultivos (42,7%), pero en neonatos fue la especie mayoritaria (60,9 %) y fue menos frecuente en pediátricos (38,3%), donde se obtuvieron también *C. tropicalis* (28,7%) y *C. albicans* (21,3%) con elevada frecuencia. En muestras de orina y materia fecal *C. albicans* fue la especie predominante. Entre las especies menos frecuentes, *Trichosporon* sp. se aisló en cuarto lugar en pediátricos (3,39%) y *C. glabrata* (5,42%) en neonatos.

Los resultados demuestran el cambio epidemiológico observado con la emergencia de levaduras no- *C. albicans* como aislamientos principales en niños hospitalizados (65,8 %). El alto porcentaje de aislamientos de *C. parapsilosis* demuestran la necesidad del mejorar las medidas de control sanitario debido que esta especie es transmitida a través de manos del personal de salud, guantes e instrumental contaminados. Otras levaduras aisladas como *C. glabrata* y *Trichosporon* sp. tienen baja sensibilidad al fluconazol y en ciertos casos, a la anfotericina B, que son las drogas de elección en el tratamiento de pacientes pediátricos. La diversidad de agentes encontrados enfatiza la importancia de aislar e identificar el agente causal a fin de controlar la infección fúngica y prevenir infecciones futuras.

## 6. Micología general

# Peritonitis por *Crisonyia* en una paciente con enfermedad renal crónica en diálisis peritoneal.

**López T<sup>1</sup>, González T<sup>2</sup>, Balcells E<sup>1</sup>, Gutierrez C<sup>3</sup>, León E<sup>2</sup>.**

1Departamento de Enfermedades Infecciosas del Adulto. Red Salud UC CHRISTUS. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago-Chile.

2Laboratorio de Microbiología. Red Salud UC CHRISTUS. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago-Chile.

3 Enfermedades infecciosas del Adulto . Hospital San Juan de Dios . Santiago- Chile

## 6. Micología general

# Infección fúngica osteoarticular durante el período 2000-2015

**Fernández N., Pozzi N., Farias L., Tiraboschi IN.**

División Infectología .Hospital de Clínicas José de San Martín, Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires . Argentina

### Introducción

La infección osteoarticular fúngica es severa y debilitante, de baja incidencia, que se desarrolla por inoculación directa, por extensión contigua de un foco en las inmediaciones de la infección o por diseminación hematológica.

### Objetivo

Registrar los casos de recuperación de agentes fúngicos en material osteoarticular.

### Materiales y Métodos

Se revisaron las historias clínicas de los pacientes con recuperación fúngica en materiales osteoarticulares desde enero del 2000 a julio de 2015. Se registraron los datos de sexo, edad, diabetes, resultado del cultivo microbiano y tratamiento.

### Resultados

Durante los 16 años se registraron 34 episodios con recuperación de agentes fúngicos en 33 pacientes: 17 varones y 15 mujeres, con 59,4 años de edad promedio (rango 16-78).

Los aislamientos correspondieron en 29 casos (85%) a *Candida*, 1 *Cryptococcus albidus*, 1 *Rhodotorula*, 1 *T. cutaneum* y 2 *Aspergillus* (Tabla). Se recuperaron de hueso en 25 (en 4 asociado a otros materiales: piel y partes blandas, músculo, injerto, cemento y músculo y poliéster de prótesis); en 9 de otros materiales: 4 líquidos articulares, 3 tendones, 1 bursa, 2 partes blandas y 1 cemento. Se obtuvo desarrollo polimicrobiano bacteriano en 11 de los cultivos (bacilos gram negativos y cocos gram positivos).

En 15/16 pacientes se constató que correspondía a una infección del sitio quirúrgico (ISQ), y 5/20 pacientes eran diabéticos. Fueron tratados con fluconazol 10 pacientes y 1 con voriconazol (con desarrollo de *C. krusei*). Una paciente tuvo hemocultivos y retrocultivos con *C. parapsilosis*, pero *C. albicans* en el hueso; otra paciente tuvo recuperación de *C. tropicalis* en hueso y 9 días después *C. tropicalis* en la punta del catéter venoso central.

### Conclusión

Es baja la recuperación de hongos en los materiales de infecciones osteoarticulares, predominan las levaduras del género *Candida* y dentro de ellas *C. albicans*. La mayor frecuencia se relaciona a complicaciones posquirúrgicas (infecciones del sitio quirúrgico) y como parte de infecciones polimicrobianas.

**Tabla.** Especies fúngicas en material osteoarticular

Caso	Material desde donde se aisló	Especie
1	hueso fémur	<i>C albicans</i>
2	hueso fémur	<i>C tropicalis</i>
3	hueso fémur	<i>C parapsilosis</i>
4	hueso fémur	<i>C glabrata</i>
5	hueso fémur	<i>Rhodotorula</i>
6	hueso sacro	<i>C albicans</i>
7	hueso sacro	<i>C glabrata</i>
8	hueso pelvis	<i>C albicans</i>
9	hueso cadera	<i>Candida sp</i>
10	hueso costilla	<i>C albicans</i>
11	hueso calcáneo	<i>C glabrata</i>
12	hueso calcáneo	<i>C lusitaneae</i>
13	hueso pie derecho	<i>C krusei</i>
14	hueso metatarsiano	<i>T cutaneum</i>
15	hueso	<i>C albicans</i>
16	hueso	<i>C albicans</i>
17	hueso	<i>C albicans</i>

Caso	Material desde donde se aisló	Especie
18	hueso	<i>C parapsilosis</i>
19	hueso y partes blandas	<i>C parapsilosis</i>
20	hueso y poliéster de prótesis	<i>C tropicalis</i>
21	hueso y músculo	<i>C parapsilosis</i>
22	hueso de apófisis espinosa, injerto y músculo	<i>C albicans</i>
23	tendón	<i>C parapsilosis</i>
24	tendón	<i>C parapsilosis</i>
25	tendón de Aquiles	<i>C parapsilosis</i>
26	líquido de punción	<i>C albidus</i>
27	líquido articular	<i>A niger</i>
28	líquido articular	<i>Aspergillus sp</i>
29	líquido articular	<i>C albicans</i>
30	material quirúrgico de columna	<i>C albicans</i>
31	material quirúrgico de hombro	<i>C parapsilosis</i>
32	bursa rotuliana	<i>C albicans</i>
33	piel y partes blandas	<i>C glabrata</i>
34	cemento	<i>C tropicalis</i>

## 6. Micología general

# Efeito da ozonioterapia de baixo custo sobre Candida

**Dayane Batista Franzes; José Henrique Fermino Ferreira dos Santos; Larissa Carolina Dierings; Carla Sakuma de Oliveira ; Eduardo Alexandre Loth.**