

PREVALENCIA Y SENSIBILIDAD DE LOS AGENTES DE ENFERMEDAD FÚNGICA INVASORA EN UN HOSPITAL PÚBLICO DE ARGENTINA

Bryan Ortiz*

*Laboratorio de Micología y Diagnóstico Molecular (LMDM) de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas
FBCB-UNL.

Director: Dr. Guillermo García-Effron.

Área: Ciencias biológicas

INTRODUCCIÓN

Las infecciones fúngicas son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en la población pediátrica a nivel mundial, los agentes comúnmente implicados en estas infecciones son especies del género *Candida* y *Aspergillus* (Ascioglu et al., 2002; De Pauw et al., 2008). Si bien es cierto en los últimos años se ha incrementado el número de patógenos de otros géneros como *Trichosporon*, *Fusarium*, *Scedosporium* y Mucorales. Estas infecciones causadas por estos hongos son difíciles de diagnosticar y tratar, están asociados a resistencia a las distintas familias de antifúngicos por lo que se relacionan con un mayor índice de mortalidad Canton (2014). En Argentina estudios demuestran que los principales agentes causales de Enfermedad Fúngica Invasora (EFI) son levaduras Gomez et al. (2018), siendo *Candida albicans* el principal agente de estas infecciones Córdoba et al. (2011). La correcta identificación de estos patógenos y la evaluación de su sensibilidad *in vitro* a los antifúngicos, son herramientas importantes para la elección de la mejor opción terapéutica para estos pacientes.

OBJETIVO

Establecer la prevalencia de los hongos causantes de enfermedad fúngica invasora probada (EFI) en un hospital público y establecer los patrones de sensibilidad a distintos de antifúngicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron 37 aislamientos obtenidos de distintas muestras clínicas (hemocultivo, lavado bronco alveolar y otras muestras normalmente estériles) de pacientes pediátricos provenientes de un hospital público en un periodo 2 años (junio 2016/junio 2018). Todos los aislamientos de levaduras fueron identificados presuntivamente por pruebas fenotípicas clásicas (tubo germinativo, clamidoconidios, asimilación y fermentación de carbohidratos,

Título del proyecto: Complejo 1,3-β-d-glucan sintasa de hongos patógenos humanos: estudio de sus subunidades, su relación con la resistencia a las equinocandinas y rol en la síntesis de la pared celular.

Instrumento: PICT 2016

Año convocatorio: 2017

Organismo financiador: Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT)

Director/a: Dr. Guillermo García-Effron.

etc), crecimiento en medios cromogénicos (CHROMagar), pruebas fenotípicas automatizadas (Vitek ®). Posteriormente, las identificaciones fueron confirmadas por métodos moleculares basados en diferencias en las secuencias del operon ribosomal (rDNA-ITS) (PCR-especie específicas) o por secuenciación del mismo operón siguiendo protocolos publicados por nuestro grupo Gamarra et al. (2014). Los hongos filamentosos fueron identificados a nivel de secciones (por micro y macromorfología) Gautier (2016). Las pruebas de sensibilidad a antifungicos se realizaron de acuerdo al protocolo CLSI M27-4ed y M38-3d CLSI (2017a), utilizando el método de microdilución. Para levaduras se evaluó la sensibilidad a fluconazol (FLC), itraconazol (ITC), voriconazol (VRC), posaconazol (PSC), anidulafungina (ANF), caspofungina (CSF) y anfotericina B (AMB). Para hongos filamentosos se evaluaron todos los anteriores excepto (FLC). En el caso de *Cryptococcus* spp se evaluaron todos los antifúngicos de levaduras más 5-Flucitosa (5-FCT).

RESULTADOS

Los géneros más prevalentes fueron *Candida* spp. (40.5%), *Aspergillus* spp. (37.8%), *Cryptococcus* spp. (18.9%) y *Scedosporium* (2.7%) (figura 1). Las especies más aisladas fueron *Candida parapsilosis* sensu stricto y *Aspergillus sección fumigati*. Todas las especies de *Candida* pudieron ser identificadas mediante una técnica de PCR desarrollada en nuestro laboratorio (incluyendo especies crípticas) basada en las diferencias en las regiones ITS excepto *Candida pelliculosa* (identificada por secuenciación). Todos los aislamientos de *Cryptococcus* fueron identificados como *C. neoformans* VNI (*C. neoformans* var. *grubii* (VNI)). Las pruebas de sensibilidad evidenciaron un 20% de resistencia a FLC en el género *Candida*, para los demás azoles todas las especies fueron sensibles o fenotipo salvaje (para especies con puntos de corte epidemiológico). Todas las especies de *Candida* fueron sensibles a ANF, CSF y AMB. Todas las cepas de *Aspergillus* fueron sensibles o fenotipo salvaje para todos los antifungicos probados. *C. neoformans* VNI mostro resistencia FLC y PSC 42,8% y 14,2% respectivamente. *Scedosporium prolificans* mostro CIM ≥ 8 $\mu\text{g/ml}$ para ITR, VRC, AMB, y ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$ para PSC y las equinocandinas (prevalencia y sensibilidad por especie en tabla 1).

AGENTES ETIOLÓGICOS

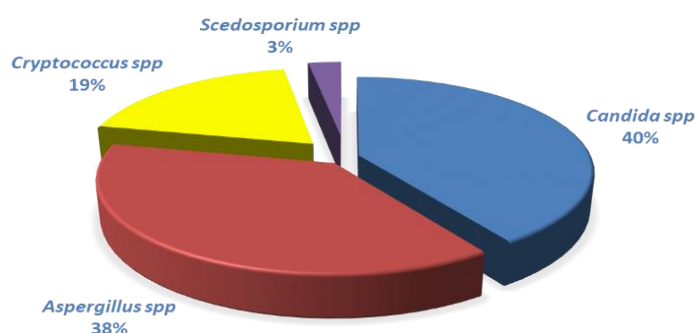


FIGURA 1. Distribución por genero de los agentes de Enfermedad fúngica invasora en un hospital público de Argentina

TABLA 1. AISLMIENTOS POR ESPECIE O SECCION Y SENSIBILIDAD IN VITRO DE LAS CEPAS INCLUIDAS EN ESTE ESTUDIO

ESPECIE	N (%)	AMB	ANF	CSF	VRC	ITR	PSC	FLC	5-FCT
<i>Candida parapsilosis</i>	5 (13,5)	0,25-1	0,25-2	0,25-0,5	0,015-0,012	*0,015-0,03	*0,015-0,012	0,25-4	—
<i>Candida albicans</i>	3 (8,1)	0,06-0,5	0,015-0,06	0,015-0,25	0,015-0,06	*0,015-0,06	*0,015-0,012	*0,12-≥8	—
<i>Candida guilliermondii</i>	2 (5,4)	*0,5-1	1-2	0,5-0,5	*0,12-0,06	*0,06-0,06	*0,25-0,25	4-4	—
<i>Candida lusitanae</i>	1 (2,7)	*0,25	0,12	*0,12	*0,015	0,03	*0,015	*0,25	—
<i>Candida tropicalis</i>	1 (2,7)	0,12	0,12	0,25	0,015	0,015	*0,015	0,12	—
<i>Candida orthopsilosis</i>	1 (2,7)	*0,5	*0,5	*0,25	*0,03	*0,06	*0,015	*1	—
<i>Candida pelliculosa</i>	1 (2,7)	*0,25	*0,12	*0,25	*0,25	*0,12	*0,12	*4	—
<i>Candida glabrata</i>	1 (2,7)	1	0,03	0,015	*0,03	0,03	*0,06	4	—
<i>Aspergillus sección fumigati</i>	7(18,9)	0,5-1	0,007-0,03	0,015-0,25	0,12-0,5	0,06-0,5	0,06-0,5	—	—
<i>Aspergillus sección terreus</i>	4(10,8)	1-2	0,007-0,03	0,06-0,12	0,25-1	0,06-0,5	0,03-1	—	—
<i>Aspergillus sección flavi</i>	2(5,4)	0,5-1	0,007-0,03	0,03-0,06	0,25-0,25	0,06-0,12	0,03-0,5	—	—
<i>Aspergillus sección nigri</i>	1 (2,7)	1	0,03	0,03	1	0,5	1	—	—
<i>Cryptococcus neoformans</i> VNI	7(18,9)	0,5-0,12	—	—	0,03-0,12	0,06-0,12	0,25-0,12	2-8	2-4
<i>Scedosporium prolificans</i>	1 (2,7)	*≥4	*≥4	*≥4	*≥4	*≥4	*≥4	—	—

Los valores de CIM se expresan en µg/ml

*No hay puntos de corte para este antifúngico en esta especie, según los protocolos citados.

CONCLUSIÓN

Se evidencia la gran variedad de patógenos fúngicos aislados en este hospital y resalta la importancia de la identificación a nivel género y especie. En cuanto a la resistencia, destaca la alta tasa de resistencia a FLC en *Candida spp.* y *Cryptococcus neoformans*. La resistencia a azoles en *Aspergillus spp.* fue nula. Se aislaron especies de hongos multirresistentes como *S. prolificans*.

BIBLIOGRAFÍA

- Ascioglu, S., Rex, J., De Pauw, B., Bennett, J., Bille, J., Crokaert, F., . . . Erjavec, Z. J. C. I. D. (2002).** Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. 34(1), 7-14.
- Canton, E. (2014).** Métodos microbiológicos para el diagnóstico, manejo y estudio de la infección fúngica invasora. 32(6), 375-379.
- CLSI. (2017a).** Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Third Edition, M38Ed3E. In C. a. L. S. Institute. (Ed.).
- CLSI. (2017b).** Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, 4th Edition. In C. a. L. S. Institute. (Ed.).
- Córdoba, S., Vivot, W., Bosco-Borgeat, M. E., Taverna, C., Szusz, W., Murisengo, O., . . . Davel, G. J. R. a. d. m. (2011).** Species distribution and susceptibility profile of yeasts isolated from blood cultures: results of a multicenter active laboratory-based surveillance study in Argentina. 43(3), 176-185.
- De Pauw, B., Walsh, T. J., Donnelly, J. P., Stevens, D. A., Edwards, J. E., Calandra, T., . . . Kauffman, C. A. J. C. i. d. (2008).** Revised definitions of invasive fungal disease from the European organization for research and treatment of cancer/invasive fungal infections cooperative group and the national institute of allergy and infectious diseases mycoses study group (EORTC/MSG) consensus group. 46(12), 1813-1821.

Gamarra, S., Morano, S., Dudiuk, C., Mancilla, E., Nardin, M. E., de los Angeles Méndez, E., & Garcia-Effron, G. J. M. (2014). Epidemiology and antifungal susceptibilities of yeasts causing vulvovaginitis in a teaching hospital. 178(3-4), 251-258.

Gautier. (2016). Previously unknown species of *Aspergillus*. 22(8), 662-669.

Gomez, S. M., Caniza, M., Fynn, A., Vescina, C., Ruiz, C. d., Iglesias, D., . . . Sung, L. J. T. I. D. (2018). Fungal infections in hematopoietic stem cell transplantation in children at a pediatric children's hospital in Argentina. e12913.