

**ESTADO ACTUAL DEL PERFIL DE SENSIBILIDAD Y MECANISMOS DE
RESISTENCIA DE *Fusarium* spp. FRENTE A LOS ANTIFÚNGICOS EMPLEADOS
EN TERAPIA CLÍNICA.**

LINA MARCELA MONTAÑO MORALES



**TRABAJO DE GRADO
Presentado como requisito parcial para optar por el título de
BACTERIÓLOGA**

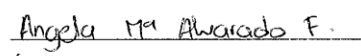
**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA
BOGOTÁ
2012**

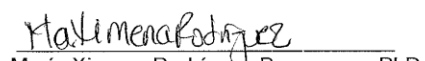
ESTADO ACTUAL DEL PERFIL DE SENSIBILIDAD Y MECANISMOS DE
RESISTENCIA DE *Fusarium* spp. FRENTE A LOS ANTIFÚNGICOS EMPLEADOS
EN TERAPIA CLÍNICA.

LINA MARCELA MONTAÑO MORALES

APROBADO


Melva Yomary Linares Linares, MSc.
DIRECTORA


Ángela María Alvarado F. (c) M.Sc
CODIRECTORA


María Ximena Rodríguez Bocanegra. PhD
JURADO

NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la resolución N°13 de julio de 1946

“La universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará por que no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y por que las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia.”

TABLA DE CONTENIDO

	Pag.
RESUMEN	7
1. INTRODUCCIÓN, PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	8
2. MARCO TEÓRICO	8
2.1 Generalidades del género <i>Fusarium</i> spp.	8
2.2 Importancia Clínica de <i>Fusarium</i> spp.	8
2.3 Tratamientos empleados en las infecciones por <i>Fusarium</i> spp.	9
2.4 Métodos de evaluación para perfil de sensibilidad a antifúngicos.	10
2.5 Resistencia antifúngica.	
3. OBJETIVOS	10
3.1 Objetivo General	10
3.2 Objetivos específicos	11
4. METODOLOGÍA	
4.1 Recolección de la información	11
4.2 selección de información	11
4.2.1 Criterios de inclusión	11
4.2.2 Criterios de exclusión	11
4.3 Estrategia de búsqueda	11
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11
5.1 tratamientos antifúngicos empleados en terapia clínica frente a <i>Fusarium</i> spp. en pacientes inmunocompetentes e inmunocomprometidos y sus mecanismos de acción.	12
5.2 Perfil de sensibilidad de <i>Fusarium</i> spp. de las especies implicadas clínicamente.	17
5.3 Mecanismos de resistencia en hongos filamentosos (<i>Aspergillus</i> spp.) y formación de Biofilms de <i>Fusarium</i> spp.	25
6 CONCLUSIONES	27
7 RECOMENDACIONES	28
8 REFERENCIAS	29

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos antifúngicos empleados en terapia clínica frente a infecciones causadas por <i>Fusarium</i> spp.	15
Tabla 2. Datos del perfil de sensibilidad de aislamientos de <i>Fusarium</i> spp. por el método de microdilución (M38-A2).	21
Tabla 3. Datos del perfil de sensibilidad de aislamientos de <i>Fusarium</i> spp. por E-test.	23
Tabla 4. Datos del perfil de sensibilidad de aislamientos de <i>Fusarium</i> spp. por el método Sensititre YeastOne.	23
Tabla 5. Concordancia de los datos del perfil de sensibilidad de aislamientos de <i>Fusarium</i> spp. por el método Microdilución (M38-A2) / E-test.	24
Tabla 6. Concordancia de los datos del perfil de sensibilidad de aislamientos de <i>Fusarium</i> spp. por el método Microdilución (M38-A2) /Sensititre YeastOne.	24
Tabla 7. Concordancia de los datos del perfil de sensibilidad de aislamientos de <i>Fusarium</i> spp. por el método Microdilución (M38-A2) /Difusión en disco.	24
Tabla 8. Concordancia de los datos del perfil de sensibilidad de aislamientos De <i>Fusarium</i> spp. por el método Microdilución (M38-A2)/Difusión en disco. Microdilución M38-A / M27-A.	25
Tabla 9. Genes relacionados con resistencia de <i>Aspergillus</i> spp.	26

ÍNDICE DE GRÁFICAS, FIGURAS Y ANEXOS

GRÁFICAS

Gráfica 1. Métodos utilizados para evaluar el perfil de sensibilidad.	18
Gráfica 2. Frecuencia de los aislamientos de las especies de <i>Fusarium</i> de importancia clínica.	19

FIGURAS

Figura 1. Mecanismos de acción de los antifúngicos en la vía de síntesis del ergosterol	8
---	---

ANEXOS

Anexo 1: Base de datos de los artículos consultados	35
---	----

ÍNDICE DE SIGLAS

AMB: Anfotericina B
AMB-L: Anfotericina B liposomal
AMB-C: Anfotericina B coloidal
AMB-LI : Anfotericina B lipídica
CAP: Caspofungina
CMI: Concentración mínima Inhibitoria
CMI₅₀: 50% de inhibición de crecimiento
CMI₉₀: 90% de inhibición de crecimiento
EC₅₀: concentración efectiva 50%
FLU: Fluconazol
ITR: Itraconazol
KTC: Ketoconazol
VRC: voriconazol
NAT: natamicina
MCF: micafungina
MIC: miconazol
MEC: concentración mínima efectiva
MFC: mínima concentración fungicida
MG: media geométrica
POS: posaconazol
RVC: ravuconazol
5-FC: flucitosina o 5-fluocitosina

RESUMEN:

Introducción: El género *Fusarium* causa un amplio espectro de enfermedades en el ser humano, como micosis superficiales, localizadas o diseminadas, encontrándose dentro del grupo de las hialohifomicosis, comúnmente conocidas como fusariosis, presentándose principalmente en pacientes inmunosuprimidos y ocasionalmente en pacientes inmunocompetentes. *Fusarium* spp. es considerado multiresistente a los antifúngicos empleados en terapia clínica llevando a fracasos terapéuticos y altas tasas de mortalidad.

Objetivo: Conocer el estado actual del perfil de sensibilidad y los mecanismos de resistencia de *Fusarium* spp. frente a los antifúngicos empleados en terapia clínica.

Materiales y métodos: Se realizó una monografía sobre las infecciones causadas por *Fusarium* spp. en pacientes inmunocompetentes e inmunocomprometidos y su respectivo tratamiento y la evaluación del perfil de sensibilidad y resistencia. Se abordaron artículos de revisión, casos clínicos y artículos de carácter experimental en el período 2000 - 2012 en español e inglés.

Resultados: Los tratamientos para las infecciones causadas por el género *Fusarium* son anfotericina B y voriconazol siendo los utilizados con mayor frecuencia y con mejores resultados. El perfil de sensibilidad de *Fusarium* spp. es variable dependiendo de la especie, sin embargo, anfotericina B y voriconazol mostraron actividad *in vitro* para la mayoría de las especies de *Fusarium*, mientras que posaconazol, itraconazol, ketoconazol, posaconazol, fluconazol, terbinafina y 5-fluocitosina demostraron CMI's altas, siendo los antifúngicos con menor actividad. Aunque *Fusarium* spp. se considera un patógeno multiresistente, no se han descrito mecanismos moleculares de resistencia, sin embargo, se ha evaluado la formación de biopelículas en lentes de contacto por *F. solani* y *F. oxysporum* como posible mecanismo de resistencia frente a los diferentes antifúngicos empleados para las infecciones superficiales.

Conclusiones: el manejo de las infecciones causadas por *Fusarium* spp. es limitado y escaso, dado el perfil de sensibilidad frente a los antifúngicos empleados en la terapia clínica donde se exponen CMI's altas para la mayoría de los antifúngicos, por lo cual se hace preciso conocer los mecanismos de resistencia para una correcta orientación clínica frente a estas infecciones.

1. INTRODUCCIÓN, PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN:

Fusarium spp. es un hongo filamentoso hialino no pigmentado que taxonómicamente se clasifica dentro del phylum Ascomycota (1,2). Las especies de *Fusarium* son conocidas como fitopatógenas, que causan diversas enfermedades en una gran variedad de plantas, sin embargo, se ha visto asociado a infecciones en animales y seres humanos, comportándose como un hongo oportunista emergente en animales y en hospederos inmunocomprometidos e inmunocompetentes (1,3,4). Las especies clínicamente reportadas con mayor frecuencia son: *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. verticillioides* y *F. moniliforme*, causando un 50-80% de mortalidad en pacientes inmunosuprimidos y representando entre un 10-14% de todas las fusariosis (1,3,5-8). El tratamiento se realiza con Anfotericina B y natamicina para infecciones superficiales o localizadas, voriconazol y posaconazol para infecciones diseminadas (3,6-11). Frente a la terapia clínica, la respuesta inmune del paciente y la interacción del hospedero con el antifúngico son factores importantes en la respuesta clínica al tratamiento (6,8,10).

Dada las altas tasas de mortalidad debido a los fracasos terapéuticos por la resistencia frente a los diferentes antifúngicos empleados en la terapia clínica y teniendo en cuenta los escasos estudios sobre la correlación de las pruebas de susceptibilidad *in vitro* e *in vivo* y la gran población en riesgo de adquirir estas infecciones (especialmente pacientes con neoplasias hematológicas, trasplantados, quemados, hospitalizados, usuarios de lentes de contacto y agricultores) (3,12,13), se realizará una monografía que permita conocer el estado actual del perfil de sensibilidad y los posibles mecanismos de resistencia de *Fusarium* spp. frente a los antifúngicos de uso en terapia clínica.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 GENERALIDADES DEL GÉNERO *Fusarium*

El género *Fusarium* es un hongo saprófito habitante normal del suelo asociado a descomposición de sustratos orgánicos, considerado como patógeno de plantas, animales y humanos (1,8,11). *Fusarium* ha sido clasificado informalmente dentro del phylum Deuteromycota, aunque a las especies que se les conoce el telemorfo se clasifican dentro del phylum Ascomycota.

Fusarium spp. crece rápidamente en agar papa dextrosa a 25°C, caracterizándose macroscópicamente por la producción inicial de micelio, algodonoso y luego de color crema, amarillo pálido, rosa pálido, rojo o púrpura. Microscópicamente produce micelio hialino septado con fragmoconidios, microconidios y clamidosporas (1).

2.2 IMPORTANCIA CLÍNICA DEL GÉNERO *Fusarium*

Las infecciones por *Fusarium* spp. están clasificadas dentro del grupo de las hialohifomicosis, infecciones por hongos filamentosos hialinos. Las especies con importancia clínica para el hombre son: *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. verticillioides* y *F. proliferatum* (3). Las formas clínicas dependen del estado inmune del hospedero y de la puerta de entrada (6,8,10), siendo la inhalación de conidios la principal, seguida por traumatismos en piel. En los seres humanos, las especies de *Fusarium* se caracterizan por producir micosis superficiales y diseminadas. Las formas superficiales como queratitis y onicomicosis se presentan principalmente en pacientes inmunocompetentes, mientras que las formas diseminadas se asocian a pacientes inmunosuprimidos, donde la neutropenia y las terapias clínicas agresivas son factores predisponentes a este tipo de infección, siendo esta una micosis de difícil tratamiento y con un alto índice de mortalidad (3,6,8,9,10,14-16).

2.3 TRATAMIENTOS EMPLEADOS EN LAS INFECCIONES POR *Fusarium*

Generalmente el manejo clínico de las micosis superficiales o localizadas se realiza con agentes tópicos y sistémicos como natamicina, anfotericina B, terbinafina y azoles como voriconazol e igualmente voriconazol intravitreo junto con el desbridamiento quirúrgico (3,17-20). Para las infecciones diseminadas, anfotericina B es el tratamiento primario, aunque se han visto fracasos terapéuticos, lo cual implica la incorporación de tratamientos combinados con diferentes triazoles orales como el voriconazol y posaconazol (6,10,16).

El perfil de sensibilidad de las especies de *Fusarium* es variable, las especies de *F. solani* y *F. verticillioides* suelen ser resistentes a los azoles y a anfotericina B mientras que *F. oxysporum* y *F. moniliforme* son susceptibles a estos antifúngicos (3).

2.4 MÉTODOS PARA EVALUAR EL PERFIL DE SENSIBILIDAD DE *Fusarium*

Las pruebas de susceptibilidad dan una orientación para conocer si un microorganismo es resistente o sensible frente a los antimicóticos, siendo estos resultados de utilidad clínica para el manejo y elección del tratamiento adecuado (21-24). Dentro de los métodos de evaluación del perfil de sensibilidad antifúngica, el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) y The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) han desarrollado técnicas reproducibles que permiten la detección de la resistencia *in vitro* para lograr entender el comportamiento clínico de las especies fúngicas (25,26). El método de referencia establecido por el CLSI para la evaluación de especies de *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Pseudallescheria boydii* y en su forma micelial *Sporothrix schenckii*, es la técnica de microdilución en caldo mediante el documento M38-A2.

Aunque, también se han reportado otros métodos para hongos filamentosos como E-test, Sensititre YeastOne y difusión en Disco en la investigación (27-30).

2.5 RESISTENCIA ANTIFÚNGICA

La resistencia fúngica es un concepto amplio donde se describe el fracaso terapéutico. Existen dos tipos de resistencia, microbiológica y clínica. La resistencia microbiológica puede ser intrínseca o primaria, la cual se adquiere antes de la exposición al antifúngico o secundaria que se adquiere después de la exposición al antifúngico.

La resistencia clínica es la persistencia o progresión de una infección a pesar de la administración de tratamiento antifúngico. Este tipo de resistencia se ve influenciada por factores como respuesta del sistema inmune y efectos antagónicos por otras drogas (31-33).

Para el género *Fusarium* se ha reportado resistencia primaria frente a anfotericina B y azoles como voriconazol. Sin embargo, poco se conoce sobre sus mecanismos de resistencia, a pesar de que en los últimos años se ha investigado sobre la formación de biopelículas en materiales de lentes de contacto en pacientes con queratitis (34-36).

Existen tres mecanismos de resistencia referente a hongos filamentosos en general, identificados por medio de estudios de fenotipificación y análisis molecular (32):

- Incapacidad del fármaco para alcanzar la diana, lo cual puede deberse a barreras de permeabilidad o bombas de expulsión activa.
- Cambios en la interacción fármaco-diana (mutaciones de copias de la diana).
- Modificaciones en las enzimas de las vías metabólicas.

3 OBJETIVOS:

3.1 Objetivo general:

- Conocer el estado actual del perfil de sensibilidad y los mecanismos de resistencia de *Fusarium* spp. frente a los antifúngicos empleados en terapia clínica.

3.2 Objetivos específicos:

- Evaluar la terapia clínica en pacientes inmunocompetentes e inmunosuprimidos de las infecciones causadas por *Fusarium*.
- Describir el perfil de sensibilidad de las especies de *Fusarium* de importancia clínica.

- Conocer los mecanismos de resistencia de *Fusarium* spp. frente a los antifúngicos empleados en terapia clínica.

4 METODOLOGÍA:

4.1 Recolección de la información: Para el desarrollo de la monografía se revisaron artículos en las bases de datos Elsevier, Medline, MDconsult, Medical library (proquest), Medlatina (Ebscohost), National library of Medicine y Scielo.

4.2 Criterios de selección de la información:

4.2.1 Criterios de inclusión: Para la revisión bibliográfica se tuvieron en cuenta los siguientes parámetros:

- Años de publicación: 2000-2012.
- Idioma de publicación: español/inglés
- Tipo de artículo: Investigación, casos clínicos y revisiones bibliográficas.

4.2.2 Criterios de exclusión: No se revisaron artículos con las siguientes características:

- Artículos en idiomas diferentes a inglés y español.
- Artículos publicados antes del 2000.
- Resúmenes de artículos o comentarios personales tipo editor.

4.3 Estrategia de búsqueda: Se realizó una búsqueda mediante encabezados temáticos y palabras de texto relacionados con el tema.

- Conectores entre los diferentes temas: Y (AND), O (OR), NO (NOT) CON (WITH), CERCA (NEAR).
- Palabras claves: Fusariosis, *Fusarium*, antifúngicos, resistencia, sensibilidad, susceptibilidad, biofilms.

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para dar respuesta a los objetivos planteados se revisaron 113 artículos, que cumplían con los criterios de inclusión, los cuales fueron registrados en el medio de almacenamiento virtual, Dropbox. Sesenta y siete artículos corresponden a casos clínicos, diecinueve a estudios experimentales sobre el perfil de sensibilidad y veintisiete a estudios experimentales sobre resistencia (Anexo 1).

5.1 Terapia clínica en pacientes inmunocompetentes e inmunosuprimidos para las infecciones causadas por *Fusarium*.

Los resultados de la terapia clínica reportada en las infecciones causadas por *Fusarium* entre 2000 y 2012 se muestran en la tabla 1. Se evaluaron en total 354 pacientes (65 artículos), de los cuales el 21% (74) corresponden a pacientes inmunocompetentes y 79% (280) a pacientes inmunosuprimidos.

De los pacientes inmunocompetentes, el 19% (14) presentaban infecciones cutáneas como onicomicosis y el 81% (60) infecciones superficiales como queratitis y endoftalmitis. El tratamiento inicial en los pacientes con onicomicosis fue itraconazol en el 22% (3), terbinafina en el 7% (1) y terapia combinada en el 71% (10) con itraconazol+ fluconazol e itraconazol y terbinafina. Como terapia alterna y secundaria se manejó de forma tópica y oral itraconazol 14% (2) y terbinafina 7% (1). Hubo evolución al tratamiento en el 86% (12) de los casos.

El tratamiento inicial de los pacientes con infecciones superficiales fue terapia combinada en la mayoría de los casos, 43% (26) de los pacientes. Las combinaciones de antifúngicos fueron: anfotericina B+Fluconazol, econazol+voriconazol, anfotericina B+voriconazol, ketoconazol+fluconazol y fluconazol+voriconazol. La evolución al tratamiento fue de 10% (6) de los casos y en 15% (9) no hubo evolución frente a la terapia combinada tópica y oral con anfotericina B e itraconazol respectivamente. El 56% (34) de los pacientes restantes con infección superficial fueron manejados inicialmente con diferentes antifúngicos como anfotericina B, fluconazol, voriconazol, ketoconazol, natamicina y econazol (tabla 1). El 31% (19) de todos los pacientes con infección superficial recibieron segunda terapia con Anfotericina B, voriconazol e itraconazol y el 12% (7) recibieron terapia combinada.

De los pacientes inmunosuprimidos, 253 (90%) presentaron infección diseminada. En el 31% (80) pacientes, la terapia inicial utilizada fue anfotericina B tanto en su forma convencional (desoxicolato) como liposomal y como segunda opción terapéutica fluconazol en un 17% (45) de los pacientes, de los cuales no hubo evolución al tratamiento. Como tratamiento secundario se empleó en la mayoría de los casos voriconazol con un 30% (77), de los cuales hubo resolución de la enfermedad en un 16% (41). De todos los tratamientos utilizados frente a la infección diseminada, cabe destacar que aunque las combinaciones no fueron muy utilizadas en el tratamiento, fue una alternativa con buena respuesta en estos pacientes.

El 8% (23) de las formas diseminadas se manifestaron a nivel cutáneo, de los cuales la mayoría, 66% (15) se trataron con anfotericina B, respondiendo únicamente en el 43% (10) de los casos. Finalmente, el 2% (5) de las formas diseminadas tuvieron una presentación clínica superficial, de los cuales en el 60% (3) de los pacientes, utilizaron terapia combinada con anfotericina B y posaconazol, con un 40% (2) de respuesta al

tratamiento. Como tratamiento secundario utilizaron anfotericina B liposomal en un 60% (3) con respuesta del 40% de los pacientes.

Como se observa en los datos, la terapia antifúngica frente a *Fusarium* spp., es compleja y limitada. El fracaso que se ha visto en los últimos 10 años frente a la terapia antifúngica es el resultado de la multiresistencia que presenta este patógeno y las escasas opciones terapéuticas frente a las infecciones causadas por *Fusarium* spp., causando un 50-80% de mortalidad en pacientes inmunosuprimidos (3,6,8,16,17,37-42).

El manejo clínico de las infecciones causadas por *Fusarium* spp. aún no se ha establecido ni tiene un protocolo estandarizado para la terapia clínica. Se ha visto que la utilización de dos o más antifúngicos en combinación ha demostrado éxito en cualquiera de las presentaciones clínicas (8,17,37-39). Combinaciones de anfotericina B con azoles como voriconazol y posaconazol son una buena alternativa para el manejo clínico (3,38,40). Según lo observado en la revisión de los casos clínicos, además del manejo de los pacientes con terapias combinadas, la incorporación de caspofungina (presentación oral) y terbinafina (presentación tópica) han mostraron buenos resultados. Estudios realizados por Córdoba *et al.*, (2008), Dismukes *et al.*, 2000, Walsh *et al.*, 2004, Cuenca-estrella *et al.*, 2004 y Cendoya *et al.*, 2011, demostraron la sinergia entre anfotericina B y caspofungina, azoles, anfotericina B y terbinafina, permitiendo que éstas sean opciones terapéuticas para el manejo de infecciones causadas por *Fusarium* spp. (16,43-46).

En las infecciones superficiales los fármacos de elección han sido antifúngicos tópicos y orales como natamicina, anfotericina B, voriconazol y posaconazol (3,20). Según Durand *et al.*, 2005, Tu *et al.*, 2006, Gorscak *et al.*, 2007 y Edelstein *et al.*, 2011, el principal problema del manejo de las infecciones superficiales ha sido la poca penetración de las capas más profundas de la córnea, lo cual ha llevado a implementar la utilización de inyecciones intravitreas o intracamerales para obtener un mejor resultado, sin embargo, los constantes fracasos terapéuticos han incluido el desbridamiento quirúrgico como una opción terapéutica (41,42,47-52). En cuanto al manejo de las infecciones cutáneas, el reto terapéutico es complejo ya que el tratamiento es determinado por las características anatómicas donde se presenta la infección. La terapia tópica sigue siendo el tratamiento ideal pero su uso como monoterapia solo consigue la curación de una parte de toda el área a tratar, por consiguiente la combinación de la terapia tópica con la terapia oral ofrece mejores resultados (17,18,20).

Cabe resaltar que la evidencia clínica basada en reportes de casos clínicos y la falta de pruebas estándar acerca de las interacciones sinérgicas o antagónicas no se han

utilizado con frecuencia en el campo clínico, lo que no permite que se tengan comparaciones reales en cuanto a estudios *in vitro* e *in vivo*, limitando así, la estandarización de una terapia específica hacia las infecciones causadas por *Fusarium* spp (53).

Otra de las razones por la que los antifúngicos más utilizados en la terapia clínica tienen una acción limitada, es por los mecanismos de acción dirigidos solo a nivel de pared y membrana celular. Los polienos se unen a los esteroides de la membrana formando canales por donde la célula pierde iones y moléculas carbonadas generando así la muerte celular. Los azoles bloquean la síntesis del ergosterol por la unión con la enzima 14- α esterol demetilasa causando la acumulación de esteroides metilados y así el bloqueo del crecimiento celular. Las alilaminas inhiben la enzima escualeno epoxidasa produciendo la acumulación de escualeno intracelularmente frenando el crecimiento celular. (Figura 1) Y las equinocandinas inhiben la síntesis de 1-3- β -glucano, uno de los principales componentes de la pared celular (32,54,55). La ausencia de antifúngicos dirigidos frente a estructuras de resistencia y síntesis de ácidos nucleicos limita la terapia clínica frente a *Fusarium* spp.

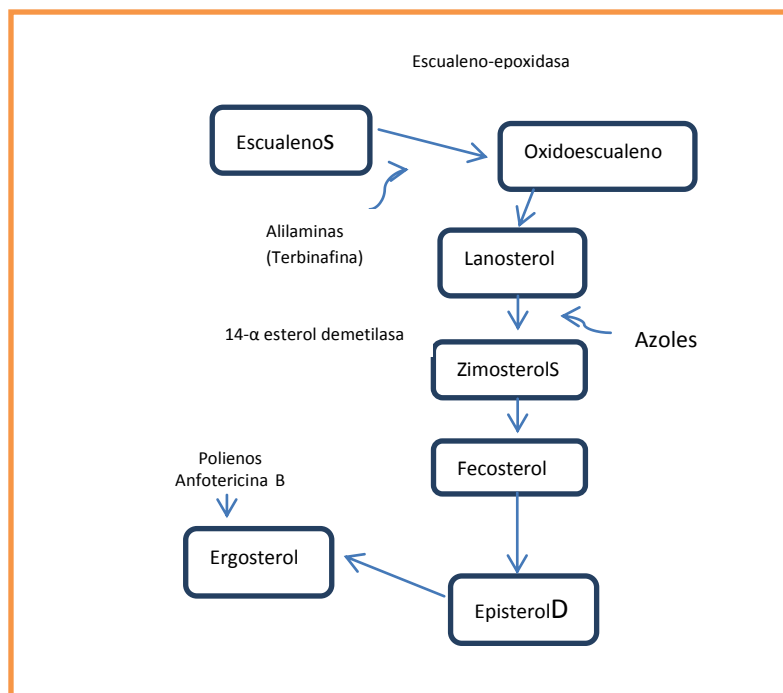


Figura 1. Mecanismos de acción de los antifúngicos en la vía de síntesis del ergosterol

Tabla 1. Tratamientos antifúngicos empleados en terapia clínica frente a infecciones causadas por *Fusarium* spp.

Autor	Presentación clínica	N	Tratamiento inicial	Tratamiento final	Respuesta al tratamiento	Especies de <i>Fusarium</i>
Jr. Krcmery <i>et al.</i> ,1997	Diseminada	5	ITR (1), AMB (2), NR (2)	AMB (4), FLU (1)	Muerte (4) Resuelta (1)	<i>F. solani</i> (3), <i>F. oxysporum</i> (1), <i>F. dimerum</i> (1)
Mussa <i>et al.</i> , 2000	Inmunosuprimido / Cutánea	11	FLU (1), AMB (6), NR (4)	AMB (2), AMB-L (2), NR (7)	Resuelta (7), Muerte (4)	NR
Bodey <i>et al.</i> ,2001	Diseminada	35	FLU (8), ITR (1), AMB (8), COMBINACION (1), NR (15)	NR (35)	Resuelta (7), No resuelta (13), NR (15)	<i>F. solani</i> (15), <i>F. oxysporum</i> (2), <i>F. dimerum</i> (1), <i>F. moniliforme</i> (3), <i>F. proliferatum</i> (1), <i>F. semitectum</i> (1)
Pereiro <i>et al.</i> , 2001	Inmunosuprimido / Cutánea	1	ITRA + TRB	FLU	Resuelta	<i>F. oxysporum</i>
Austen <i>et al.</i> ,2001	inmunosuprimido / superficial	1	FLU	AMB-L	No resuelta	<i>F. dimerum</i> (1)
Vagace <i>et al.</i> ,2001	Diseminada	1	FLU	AMB-L + CAP + VRC	resuelta	NR (1)
Cocuroccia <i>et al.</i> , 2003	Inmunosuprimido / Cutánea	1	ITR	NR	Resuelta	<i>F. solani</i>
Dursun <i>et al.</i> , 2003	Superficial (queratitis)	10	KET (5), FLU (5)	AMB (2), NR (8)	Resuelta (1) NR (9)	<i>F. solani</i> (2), <i>F. oxisporum</i> (6), NR (2)
Rodríguez <i>et al.</i> , 2003	Diseminada	1	AMB-L	VRC	Resuelta	<i>F. oxysporum</i> (1)
Nucci <i>et al.</i> , 2003	Diseminada	84	FLU (26), AMB (25), KTC (3), ITR (2), NR (28)	AMB (69), AMB-L (9), AMB-C (3), AMB.LI (1), NR (2)	Resuelta (27)	<i>F. solani</i> (17), <i>F. moniliforme</i> (4), <i>F. oxysporum</i> (4), <i>F. verticillioides</i> (1), <i>F. proliferatum</i> (1), <i>F. dimerum</i> (1), <i>F. semitectum</i> (1), <i>F. equiseti</i> (1)
Bigley <i>et al.</i> ,2004	Diseminada	1	AMB + ITR	VRC	Resuelta	<i>F. dimerum</i> (1)
Piraccini <i>et al.</i> , 2004	Cutánea (onicomycosis)	9	ITRA + TRB (9)	NR (9)	Resuelta (7), NR (2)	<i>F. solani</i> (3) <i>F oxysporum</i> (6)
Kivivuori <i>et al.</i> , 2004	Diseminada	2	AMB-L (2)	AMB-L (2)	Muerte (2)	<i>F. solani</i> (2)
Garbino <i>et al.</i> , 2005	Diseminada	1	VRC	NR	NR	NR (1)
Cudillo <i>et al.</i> , 2005	Diseminada	1	AMB-L	AMB-L + VRC	No resuelta	NR (1)
Dornbusch <i>et al.</i> , 2005	inmunosuprimido / Cutánea	1	AMB-L	CAP + AMB-L + VRC	No resuelta	<i>F. verticillioides</i>
Durand <i>et al.</i> , 2005	Superficial (endofthalmitis)	1	AMB	VRC + FLU	Resuelta (1)	<i>Fusarium</i> spp
Ferrer <i>et al.</i> , 2005	Superficial (endofthalmitis)	1	AMB	FLU + KET	Resuelta (1)	<i>F. proliferatum</i> (1)
Petit <i>et al.</i> , 2005	Diseminada	2	FLU (1), AMB (1)	AMB-L (1) VRC + AMB-L (1)	Resuelta (1), No resuelta (1)	NR (2)
Olivares <i>et al.</i> ,2005	Diseminada	1	AMB	CAP	No resuelta	<i>F. oxysporum</i> (1)
Radd <i>et al.</i> , 2006	Diseminada	21	AMB (16), AMB + ITR (2), AMB + CAP (2), NR (1)	POS (16), NR (5)	Resuelta (10), No resuelta (11)	NR (21)
Tu <i>et al.</i> , 2006	Superficial (queratitis)	3	FLU (1), AMB + FLU (2)	AMB + ITR + POS (1), VRC + AMB + POS (1), VRC + AMB + POS (1)	Resuelta (2), No resuelta (1)	<i>F. solani</i> (1) NR (2)
Torres-Rodríguez <i>et al.</i> , 2006	Inmunosuprimido / Cutánea	1	KTC	NR	Resuelta	<i>F. solani</i>
Stanzani <i>et al.</i> ,2006	Diseminada	1	VRC	AMB-L + VRC	Resuelta	NR (1)
Gupta <i>et al.</i> ,2006	Diseminada	1	FLU	AMB-L +VRC + CAP + POS	Resuelta	<i>F. solani</i> (1)
Selleslag <i>et al.</i> , 2006	Inmunosuprimido / Cutánea	1	VRC	AMB-L	Resuelta	<i>F. solani</i>

Autor	Presentación clínica	N	Tratamiento inicial	Tratamiento final	Respuesta al tratamiento	Especies de <i>Fusarium</i>
Stephe <i>et al.</i> , 2006	Diseminada	1	VRC	NR	Resuelta	<i>F. oxysporum</i> (1)
Cudillo <i>et al.</i> , 2006	Diseminada	1	ITR	AMB-L	Resuelta	NR (1)
Gorscak <i>et al.</i> , 2007	Superficial (queratitis)	15	AMB + VRC (12) VRC (3)	AMB (2) , VRC (1), NR (12)	NR (15)	<i>Fusarium spp</i> (21)
Hu <i>et al.</i> , 2007	Superficial (queratitis)	3	NAT (2), NAT + FLU (1)	VRC (1), NR (2)	Resuelta (1) , NR (2)	<i>F. solani</i> (1) <i>Fusarium spp</i> (2)
Perez-Perez <i>et al.</i> , 2007	Inmunosuprimido / Cutánea	1	ITR	NR	Resuelta	<i>F. solani</i>
Cesaro <i>et al.</i> , 2008	Diseminada	1	AMB-L	VRC + CAP	Resuelta	NR (1)
Neuburger <i>et al.</i> , 2008	Diseminada	1	CAP	VRC + AMB-L + TRB	Resuelta	<i>F. oxysporum</i> (1)
Mallo-Garcia <i>et al.</i> , 2008	Cutánea (oncomicosis)	1	ITR	NR	Resuelta	<i>Fusarium spp</i>
Busemann <i>et al.</i> , 2008	Diseminada	1	CAP + VRC	ITR + POS + AMB-L + CAP	No resuelta	<i>F. solani</i> (1)
Oubazz <i>et al.</i> , 2008	Superficial (queratitis)	1	FLU + AMB	NR	Resuelta (1)	<i>Fusarium spp</i> (1)
Parra <i>et al.</i> , 2008	Diseminada	2	AMB-L + VRC (1) AMB-L+ITR (1)	NR (2)	No resuelta (2)	<i>F. solani</i> (1) / NR (1)
Moreno <i>et al.</i> , 2008	Diseminada	1	VRC	NR (1)	Resuelta	NR (1)
Yang <i>et al.</i> , 2009	Cutánea	2	FLU + ITRA(1), TRB (1)	ITR (2)	Resuelta (2)	<i>Fusarium spp</i> (1)
Rodríguez-Cuellar <i>et al.</i> , 2009	Diseminada	1	VRC	VRC + AMB + POS + TRB	Muerte	NR (1)
Cs <i>et al.</i> , 2009	Superficial (queratitis)	4	ECO + VRC (2) , ECO (1), AMB (1)	NR (4)	Resuelta (3), No resuelta (1)	<i>F. solani</i> (4)
Lee <i>et al.</i> , 2009	Superficial (queratitis)	2	AMB (2)	VRC (2)	Resuelta (2)	<i>Fusarium spp</i> (2)
Halpern <i>et al.</i> , 2010	Inmunosuprimido / Cutánea	1	VRC	AMB-L	Resuelta	NR
Giraldo <i>et al.</i> , 2010	Diseminada	1	CAP + AMB	VRC + POS	No resuelta	NR (1)
Pina <i>et al.</i> , 2010	Superficial	1	VRC	AMB + VRC	Resuelta (1)	<i>F. solani</i> (1)
Romano <i>et al.</i> , 2010	Cutánea	1	ITR	NR	Resuelta	<i>F. oxysporum</i>
Jossi <i>et al.</i> , 2010	Diseminada	1	FLU	VRC + POS + AMB-L	No resuelta	<i>F. solani</i> (1)
Nunes <i>et al.</i> , 2010	Diseminada	1	AMB	VRC + AMB	No resuelta	<i>F. solani</i> (1)
Belliappa <i>et al.</i> , 2010	Superficial (queratitis)	7	POS, VRC, AMB, FLU (No especifica por pte)	NAT, POS, VRC, AMB-L (No especifica)	Resuelta (6), No resuelta (1)	<i>Fusarium spp</i> (7)
Fan <i>et al.</i> , 2010	Inmunosuprimido / Cutánea	2	VRC + AMB (1), VRC + AMB-L (1)	NR (2)	Resuelta (2)	<i>F. Subglutinans</i> (2)
Zaigaykina <i>et al.</i> , 2010	Superficial (queratitis)	1	FLU	VRC	Resuelta (1)	<i>F. dimerum</i> (1)
Mellouli <i>et al.</i> , 2010	Inmunosuprimido / Cutánea	1	ITR	AMB-L	Resuelta	<i>F. solani</i>
Lortholary <i>et al.</i> , 2010	Diseminada	73	AMB (21), CAP (8), FLU (4), ITR (4), POS (2), MIC (2), COMBINACION (3), NR (17), Ttr P (12)	VRC (73)	Resuelta (34)	<i>F. solani</i> (16), <i>F. moniliforme</i> (8), <i>F. proliferatum</i> (8), <i>F. oxysporum</i> (7), <i>F. dimerum</i> (4), <i>F. incarnatum</i> (1), <i>F. subglutinans</i> (2)
Cocchi <i>et al.</i> , 2011	Diseminada	1	FLU	VRC	Resuelta	<i>F. verticillioides</i> (1)

Autor	Presentación clínica	N	Tratamiento inicial	Tratamiento final	Respuesta al tratamiento	Especies de <i>Fusarium</i>
Brash <i>et al.</i> , 2011	Cutánea (onicomicosis)	1	ITR	TRB	Resuelta	<i>F. proliferatum</i>
Gungel <i>et al.</i> , 2011	Superficial (endoftalmitis)	9	VRC + AMB	ITR (9) oral	No resuelta (9)	<i>F. solani</i> (9)
Carneiro <i>et al.</i> , 2011	Diseminada	6	AMB-L + CAP (1), AMB-L + VRC (1), AMB + VRC (1), VRC (1), NR (2)	NR (6)	Resuelta (1), No resuelta (5)	NR (6)
Liu <i>et al.</i> , 2011	Diseminada	1	FLU	AMB + VRC	Resuelta	<i>F. solani</i> (1)
Bose <i>et al.</i> , 2011	Diseminada	2	POS (1), FLU (1)	AMB-L + VRC (1) POS + AMB-L (1)	Muerte (2)	NR (2)
Edelstein <i>et al.</i> , 2011	Superficial (queratitis)	1	NAT + AMB + FLU	AMB + VRC + POS	NR (1)	<i>F. solani</i> (1)
Kapp <i>et al.</i> , 2011	inmunosuprimido / superficial	1	POS + FLU	POS + VRC + AMB-L + AMB	Muerte	<i>F. solani</i>
Kah <i>et al.</i> , 2011	Inmunosuprimido / Superficial	1	AMB	VRC	Resuelta	NR
Hernández <i>et al.</i> , 2011	Diseminada	1	FLU + AMB	VRC	Resuelta	NR (1)
Hernández-cruz <i>et al.</i> , 2011	Inmunosuprimido / Superficial	2	AMB + AMB-L	AMB-L (2)	Resuelta (1), No resuelta (1)	NR (2)
Sekeroglo <i>et al.</i> , 2012	Superficial (queratitis)	1	NAT + AMB	VRC	Resuelta (1)	<i>F. solani</i> (1)
Shingal <i>et al.</i> , 2012	Inmunosuprimido / Cutánea	1	ITR	NR	Resuelta	NR

5.2 Perfil de sensibilidad de las especies de *Fusarium* de importancia clínica.

La incidencia de las infecciones causadas por hongos filamentosos ha ido incrementado debido a la resistencia frente a los antifúngicos empleados en terapia clínica, por lo cual es importante realizar pruebas de sensibilidad *in vitro*. Tal es el caso de las especies del género *Fusarium*, las cuales han ido creando resistencia, generando así, un cambio de aislamientos sensibles a resistentes (26).

Las infecciones causadas por *Fusarium* spp. representan una alta mortalidad y morbilidad, especialmente en pacientes inmunosuprimidos, donde se reportan tasas entre un 70% y 90%, debido a la resistencia primaria a los antifúngicos utilizados en la terapia clínica (16,23,56).

Dentro de las especies de este género, *F. solani* es reportada como la más patógena y resistente, siendo también la especie más aislada clínicamente, seguida por *F. oxysporum*. (1,3,6,10,16,17,24,53,57-59).

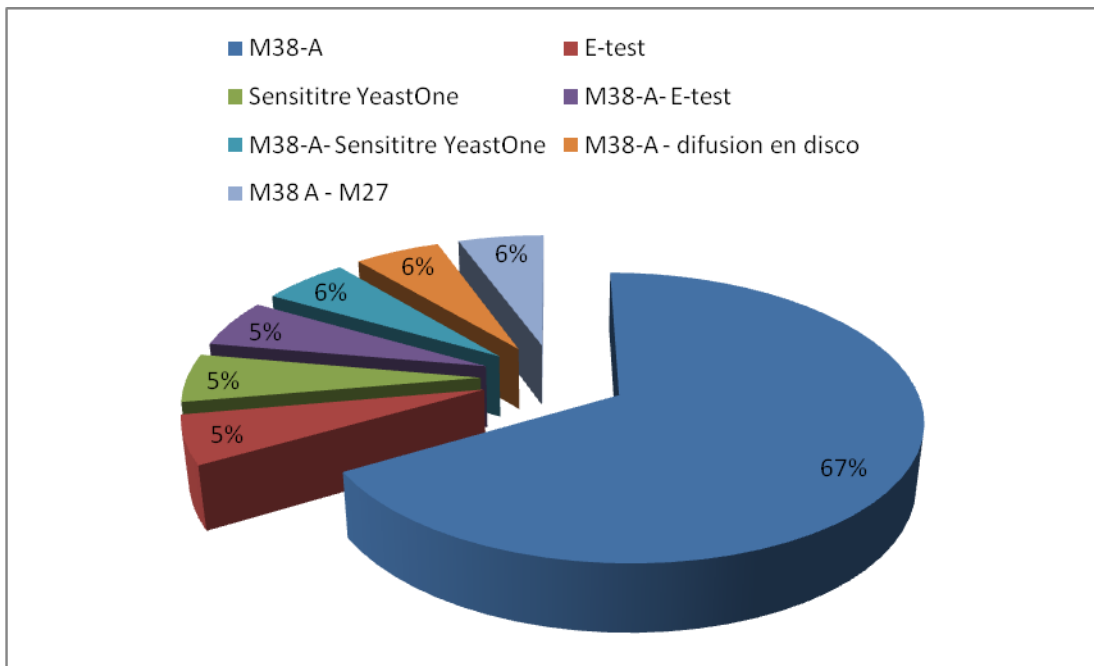
Fusarium spp. se caracteriza por ser multiresistente, por lo tanto, limita el tratamiento para las infecciones diseminadas, sin embargo, anfotericina B sigue siendo el antifúngico más activo aunque actualmente hay reportes que muestran fracasos clínicos por la resistencia primaria frente a este antifúngico permitiendo que los azoles, como el voriconazol, sea otra opción terapéutica con menos efectos secundarios (21,57,60-62).

Las pruebas de sensibilidad logran ser una herramienta para la orientación clínica. Sin embargo, se deben tener en cuenta aspectos como la farmacodinamia y farmacocinética del antifúngico y las condiciones del paciente, ya que juegan un papel importante en la acción del antifúngico (21,24,63).

se ha reportado que *F. solani* y *F. verticillioides* generalmente son resistentes a los azoles y presentan concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) altas frente a anfotericina B, mientras que *F. oxysporum* y *F. moniliforme* son susceptibles a voriconazol y posaconazol (3).

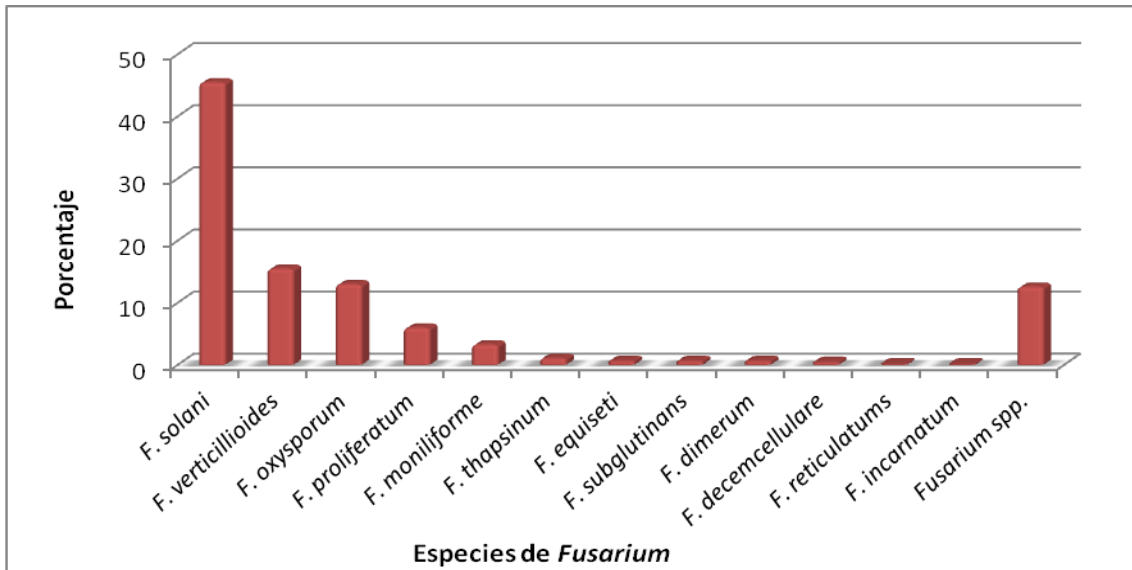
De acuerdo a la revisión de las publicaciones entre 2001 y 2012, en la gráfica 1 se ilustran los métodos utilizados para la evaluación del perfil de sensibilidad *in vitro* para 11 antifúngicos: siete azoles (voriconazol (VRC), posaconazol (POS), itraconazol (ITR), fluconazol (FLU), ketoconazol (KET), ravuconazol (RVS), albaconazole (ABC)), un polieno (anfotericina B (AMB)), una equinocandina (micafungina (MCA)), una pirimidina (5-fluocitosina (5-FC)) y una alilamina (terbinafina (TRB)) frente a 444 aislamientos de *Fusarium* spp.

Como se observa en la gráfica, el método *in vitro* utilizado con mayor frecuencia (67%) es microdilución en caldo (M38-A2), método de referencia establecido por el CLSI. Los otros métodos reportados son E-test, Sensititre YeastOne y Difusión en Disco, con un 5% para cada uno y frente a dos métodos en un 18%.



Gráfica 1. Métodos utilizados para evaluar el perfil de sensibilidad

De los 444 (100%) aislamientos, el 96,7% fueron de origen clínico, que corresponden a muestras de piel, uñas, raspados oculares, muestras respiratorias, muestras de sangre y orina entre otros y el 3,3 % corresponden a aislamientos de origen ambiental. En el gráfico 2 se indican los porcentajes de las especies evaluadas.



Gráfica 2. Frecuencia de los aislamientos de especies de *Fusarium* de importancia clínica evaluadas para susceptibilidad *in vitro*.

Perfil de sensibilidad por Microdilución en caldo (M38-A2).

Por el método de microdilución en caldo (M38-A2), se evaluaron el 69,3% (308) de aislamientos de *Fusarium spp.* Los resultados del perfil de sensibilidad *in vitro* y las especies evaluadas se muestran en la tabla 2.

De acuerdo a los resultados reportados para los diferentes antifúngicos, según las medias geométricas, anfotericina B y voriconazol fueron los antifúngicos que mostraron mejor actividad para la mayoría de especies de *Fusarium*, con un rango de CMI 0,12- 32 µg/ml y un rango de CMI 0,5 - 16 µg/ml respectivamente. Aunque diferentes autores reportan actividad para anfotericina B con CMI ≤ 2 µg/ml y para voriconazol una CMI de 2-8 µg/ml. Anfotericina B presentó mejor actividad frente a *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *F. reticulatum* y voriconazol frente a *F. reticulatum*.

Aunque Anfotericina B sigue siendo el fármaco de elección para el tratamiento de la fusariosis, varios fracasos clínicos han sido reportados. Los resultados de las CMIs de este antifúngico, no son buenos predictores de la respuesta clínica, debido a que a pesar de tener CMIs bajos se observa fallas terapéuticas en los pacientes. Tal es el caso del estudio planteado por Espinel-Ingroff (2001) donde 73 pacientes con infección diseminada que recibieron tratamiento con anfotericina B, 56 pacientes fracasaron al tratamiento a pesar de presentar CMI ≤ 1 µg/ml (21,42,63).

La eficacia del voriconazol en el tratamiento de las infecciones fúngicas diseminadas ha sido reportada como tratamiento de rescate. En un estudio realizado por Stanzani (2007), 34 pacientes con infección diseminada tuvieron tratamiento primario con voriconazol, de los cuales el 69% (24) respondieron satisfactoriamente (8). En otro estudio retrospectivo realizado por Lortholary *et al.*, (2010), 73 pacientes recibieron voriconazol como terapia de rescate, donde la respuesta fue del 47% (34) (10). Estos datos sugieren que voriconazol es eficaz como tratamiento primario y de rescate. Sin embargo, mediante la revisión no se pudo obtener un dato de la CMI.

Posaconazol presentó actividad frente a *F. equiseti* y *F. verticillioides* con rangos CMI₅₀ 0,5-16µg/ml. Posconazol, es un triazol de amplio espectro que ha demostrado ser activo frente a las especies de *Fusarium*, aunque los resultados dependen de la especie implicada. Un estudio realizado por Radd *et al.*, (2006), muestra que en 21 pacientes que recibieron posaconazol como tratamiento secundario en forma oral, 10 de los pacientes fueron tratados con posaconazol como terapia de rescate con respuesta en un 30% (3), 11 pacientes que presentaron infección localizada su respuesta fue del 57 al 75% y 16 pacientes con infección diseminada junto con la recuperación del estado de inmunosupresión respondieron en un 50% al tratamiento (6). En otro estudio realizado por Sponzel *et al.*, (2002) el tratamiento con posaconazol oral y tópico frente a infecciones superficiales (queratitis), presentó eficacia (64). Estos resultados sugieren que posaconazol puede ser una terapia alternativa en pacientes que no toleran o presentan infecciones resistentes al tratamiento convencional (anfotericina B y voriconazol). Según un estudio multicéntrico realizado por Nucci *et al.*,(2003), la persistencia de la neutropenia y la terapia con corticosteroides son predictores de la pobre respuesta frente a este tratamiento, por consiguiente, la utilización de diferentes factores estimulantes de crecimiento de células granúlocíticas es indispensable para una mejor respuesta al tratamiento (63).

Itraconazol presentó valores altos en las MG, con CMI₅₀ >16µg/ml para la mayoría de especies de *Fusarium*, excepto *F. verticillioides* que presenta valores de CMI 1-16µg/ml. Estos datos sugieren que este azol no presenta actividad frente a infecciones por *Fusarium* spp. aunque se han visto estudios en donde itraconazol en presentación oral y tópica para infecciones superficiales y cutáneas ha demostrado eficacia en combinación con terbinafina (65-68)

Ketoconazol fue evaluado para las especies de *F. thapsinum*, *F. verticillioides* y *Fusarium* spp. con un rango de CMI₅₀ 1- >16 µg/ml, donde no es clara la actividad del antifúngico frente a estas especies debido al número de aislamientos evaluados. Para *F. solani* se evaluó CMI₅₀ mostrando valores de 32 µg/ml. Igualmente fueron evaluados dos triazoles de nueva generación, ravuconazol y albaconazol, presentando rangos entre CMI₅₀ 0.5-≥16µg /ml y 2-≥16 µg/ml respectivamente. Queda claro que estos dos antifúngicos, no mostraron actividad, al igual que no son utilizados con frecuencia en la terapia clínica frente a las infecciones causadas por *Fusarium* spp. (69).

Terbinafina fue evaluada frente a *F. dimerum*, *F. thapsinum*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. equiseti* y *F. decemcellulare* con un rango de CMI 0,12 - 64µg/ml, reportando datos de CMI altos para *F. solani* y *F. incarnatum*. A pesar de que hubo actividad frente a algunas especies de *Fusarium*, terbinafina es un antifúngico para las presentaciones superficiales como onicomicosis en su formulación tópica (70-72).

Fluconazol fue evaluado para los 27 aislamientos de *F. solani* presentando CMI₅₀ de 128 µg/ml. Esto demuestra que a pesar de que el fluconazol es utilizado como antifúngico profiláctico en infecciones fúngicas en pacientes receptores de trasplante y pacientes con quimioterapia, las altas CMI₅₀ frente a las especies de *Fusarium* demuestra que no tiene actividad (73).

Finalmente se evaluó 5-fluocitosina que es un antifúngico que no es utilizado para las infecciones causadas por *Fusarium* spp.; sin embargo, los 27 aislamientos de *F. solani* presentaron CMI₅₀ 128 µg/ml, lo que demuestra que no tiene actividad frente a esta especie.

La actividad fungicida fue evaluada mediante la MFC para anfotericina B, voriconazol, posaconazol e itraconazol frente a los aislamientos de *F. solani*, *F. oxysporum* y *F. moniliforme*, los cuales mostraron rangos entre 0.5-≥32 µg/ml. Estos resultados indican que no hay actividad fungicida frente a las especies de *Fusarium* (74,75).

Tabla 2. Datos del perfil de sensibilidad de aislamientos de *Fusarium* spp. por el método de microdilución (M38-A2).

ESPECIE	N	ANTIFUNGICO	GM µg/ml	CMI µg/ml	CMI ₅₀ µg/ml	CMI ₉₀ µg/ml	MFC µg/ml
<i>F. solani</i>	98	AMB (98)	1.25-1.43	0.5 – 8	16	0.5 - 32	0.5 ≥ 32
		FLU (27)			128		
		VRC (98)	8	4 - > 16	16	4 - 32	8 - ≥ 32
		POS (69)	16	16	32	32	
		ITR (98)	> 16	> 16	ND	≥ 32	≥ 32
		RVS (49)	16	16		32	
		KET (27)				32	
		ABC (27)				NR	32
		MCA (27)				32 – 256	
		TRB (64)	29.9	16- > 64		32	
5-FC (27)				128	NR		
<i>F. oxysporum</i>	39	AMB (39)	0.78-2.3	0.12 – 16	8	1.0 - 16	1.0 - 8
		VRC (39)	4 - 8	0.5 – 16	4.0	2 - 32	≥ 32
		POS (24)		0.06 – 16	2.0	4.0	2.7-4.6
		ITR (39)	16	> 16		≥ 32	≥ 32
		RVS (14)	8.0	2 – 16			
		TRB (21)	10.77	0.5 - > 64			
<i>F. verticillioides</i>	69	AMB (69)	1.53 - 2.33	0.5 – 32			
		VRC (68)	1.74 - 8	1 – 16			
		POS (68)	0.48 - 3.23	0.5 – 16			
		ITR (68)	3.33 - 17.51	1 - > 16			
		RVS (37)	8.98	1 - 16			
		KET (24)	3.24	1 - > 16			
		ABC (24)	3.34	2 – 8			
		TRB (38)	0.24 - 3.23	0.125 - 32			
<i>F. proliferatum</i>	25	AMB (25)	1.56 - 1.7	1 – 4			
		VRC (25)	4.2 - 9.28	4 – 16			
		POS (24)	6.4 - 11.89	2 - > 16			
		ITR (25)	> 16	> 16			
		RVS (14)	15.23	8 – 16			
		TRB (15)	3.62	1 – 64			
<i>F. dimerum</i>	3	AMB (3)		0.5 - 1.0			
		VRC (3)		8			
		POS (1)		> 16			
		ITR (3)		> 16			
		TRB (2)		2 – 4			

ESPECIE	N	ANTIFUNGICO	GM µg/ml	CMI µg/ml	CMI ₅₀ µg/ml	CMI ₉₀ µg/ml	MFC µg/ml
<i>F. moniliforme</i>	7	AMB (7)	3.0	8.0	1 - 4	1 - 4	2 - 4
		VRC (7)	3.0	4.0	1.0	1 - > 8	2 - 8
		POS (1)			1.0	1.0	
		ITR (7)	> 8	> 16		> 8	
		TRB (1)		4.0			
<i>F. equiseti</i>	3	AMB (3)	0.79	0.5 - 1			
		VRC (3)	4.0	4.0			
		POS (3)	2.0	2.0			
		ITR (3)	16	16			
		RVS (3)	16	16			
		TRB (3)	10	4 - 16			
<i>F. incarnatum</i>	1	AMB (1)		16			
		VRC (1)		8.0			
		ITR (1)		> 16			
		TRB (1)		> 64			
<i>F. reticulatum</i>	1	AMB (1)	0.015				
		VRC (1)	1.0				
		POS (1)	1.0				
		ITR (1)	16				
		RVS (1)	1.0				
		TRB (1)	0.25				
<i>F. subglutinans</i>	3	AMB (3)	3.3	4.0			
		POS (3)	10.75	> 16			
		ITR (3)	10.8	> 16			
<i>F. thapsinum</i>	5	AMB (5)	2.64	2 - 4			
		VRC (5)	2.64	2 - 4			
		POS (5)	> 16	> 16			
		ITR (5)	> 16	> 16			
		RVS (5)	18.38	8 - > 16			
		KET (5)	> 16	> 16			
		ABC (5)	18.38	16 - > 16			
		TRB (5)	0.44	0.25 - 5			
<i>Fusarium spp.</i>	47	AMB (47)		1 - 2	1 - 8	1 - 32	
		VRC (20)		0.8 - 8	4 - 16	32	
		POS (20)		0.5 - > 8	16	32	
		ITR (47)		2 - > 16	> 16	32	
		RVS (18)		0.5 - > 8	> 8	> 8	
		KET (27)		0.6 - 16	8.0	16	
		TRB (27)		0.125 - > 32	2.0	> 32	
		CAP (11)		NA	NA	NA	
<i>F. decemcellulare</i>	2	AMB (2)		0.5 - 1			
		VRC (2)		8.0			
		ITR (2)		> 16			

Los datos reportados, en general, muestran valores de CMI's altos y variables frente a las especies de *Fusarium* evaluadas, lo cual confirma que la identificación a nivel de especie es muy importante para establecer y realizar el seguimiento adecuado del tratamiento. Sin embargo, anfotericina B y voriconazol fueron los antifúngicos con mejor actividad *in vitro*, frente a las especies de *Fusarium* (15,22,53). Es importante tener en cuenta que los datos consignados en la tabla 2 corresponden a diferentes estudios donde no se evaluaron el mismo número de aislamientos ni los mismos antifúngicos para todas las especies.

Por el método E-test, se evaluó únicamente la especie *F. solani*, frente a anfotericina B, voriconazol, itraconazol y caspofungina. Voriconazol fue el antifúngico que presentó la mejor actividad farmacológica con $CMI_{50} \leq 1 \mu\text{g/ml}$ y $CMI_{90} \leq 32\mu\text{g/ml}$, como se muestra en la tabla 3

Tabla 3. Datos del perfil de sensibilidad de aislamientos de *Fusarium* spp. por E-test

ESPECIE	N	ANTIFUNGICO	CMI ₅₀ µg/ml	CMI ₉₀ µg/ml	GM µg/ml
<i>F. solani</i>	9	AMB (9)	6	32	5.01
		VRC (9)	1	32	1.71
		ITR (9)	32	32	13.28
		CAP (9)	32	32	32

El método E-test tiene un valor potencial para las pruebas de sensibilidad en hongos filamentosos identificando las especies resistentes, lo cual lo hace reproducible frente al método de referencia, debido a que las CMI's son fáciles de interpretar (27). Comparaciones de este método con métodos de referencia, muestran concordancia del 90% para los triazoles y un 80% para anfotericina B, confirmando así la confiabilidad de los datos (25,74).

Los resultado obtenidos por la prueba Sensititre YeastOne para los aislamientos de *Fusarium* spp. se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Datos del perfil de sensibilidad de aislamientos de *Fusarium* spp. por el método Sensititre YeastOne.

	N	ANTIFÚNGICO	CMI ₉₀ µg/ml
<i>Fusarium</i> spp	9	AMB (9)	2
		FLU (9)	> 256
		VRC (9)	2
		ITR (9)	> 16
		KET (9)	> 16
		5-FC (9)	> 64

Anfotericina B y voriconazol son los antifúngicos con los valores más bajos, con $CMI_{90} 2\mu\text{g/m}$. Sin embargo, el método Sensititre YeastOne es utilizado para determinar el perfil de sensibilidad *in vitro* para especies *Candida* spp. lo que hace difícil interpretar los datos para hongos filamentosos (30).

Para la evaluación del perfil de sensibilidad, también se reportaron resultados comparando el método de referencia microdilución en caldo (M38-A2) y otros métodos comerciales por medio del porcentaje de concordancia.

Tabla 5. Concordancia de los datos del perfil de sensibilidad de aislamientos de *Fusarium spp.* por el método Microdilución (M38-A2) / E-test

ESPECIE	N	ANTIFÚNGICO	CMI µg/ml	CMI ₅₀ µg/ml	CMI ₉₀ µg/ml	GM µg/ml
<i>F. solani</i>	59	AMB (59)	0.5 - 4 / 0.125 - > 8	0.125-2 / 0.064-32	2 - 4 / >8 - 16	1.2- 1.62 / 1.9 - > 8
		FLU (1)	> 64 / 256			
		VRC (49)	8 / 24	1 - 16 / 0.25- 32	8 / 8	4.6 / 2
		POS (1)	> 16 / > 32			
		ITR (11)	> 16 / > 32		> 8 / NR	> 8 / > 8
		CAP (1)	> 16 / > 32			
		ANI (1)	> 16 / > 32			
<i>F. oxysporum</i>	6	AMB (6)	1.0 / 1.0 - > 8		1.0 / > 8	1.0 / > 8
		ITR (6)	1.0 - > 8 / > 8		>8 / NR	> 8 / NR

De acuerdo a los datos reportados por los estudios realizados, la concordancia para anfotericina B fue de 73-87%, para voriconazol fue de un 92% y para itraconazol fue 92.7% (74,76).

Tabla 6. Concordancia de los datos del perfil de sensibilidad de aislamientos de *Fusarium spp.* por el método Microdilución (M38-A2) /Sensititre YeastOne

ESPECIE	N	ANTIFÚNGICO	CMI µg/ml	CMI ₅₀ µg/ml	CMI ₉₀ µg/ml
<i>F. moniliforme</i>	8	VRC (8)	0.5 - 2 / 0.5 - 4	0.25 / 0.25	0.5 - 0.5
<i>F. oxysporum</i>	6	VRC (6)	0.25 - 0.5 / 0.5	0.25 / 0.25	0.5 / 0.5

Comparaciones de este método con métodos de referencia, muestran concordancia del 82.5-99% confirmando así la confiabilidad de los datos (24,27).

Tabla 7. Concordancia de los datos del perfil de sensibilidad de aislamientos de *Fusarium spp.* por el método Microdilución (M38-A2) /Difusión en disco.

ESPECIE	N	ANTIFÚNGICO	CMI ₅₀ µg/ml	MEC µg/ml	IZ µg/ml
<i>F. solani</i>	18	CAP (18)	> 16	> 16	ND
<i>F. oxysporum</i>	4	CAP (4)	> 16	> 16	ND

En la utilización de estos dos métodos, se hace preciso aclarar que para el antifúngico caspofungina se empleo la evaluación de concentraciones mínimas efectivas (MEC) y las zonas de inhibición (IZ), los cuales evalúan la acción de este antifúngico, donde la presencia de MEC altas se correlaciona con la ausencia de ZI. Siendo el método Difusión en disco, un buen método de referencia para la evaluación del perfil de sensibilidad para este antifúngico (77).

Tabla 8. Concordancia de los datos del perfil de sensibilidad de aislamientos de *Fusarium* spp. por el método Microdilución (M38-A2) /Difusión en disco.. Microdilución M38-A / M27-A

ESPECIE	N	ANTIFÚNGICO	CMI ₅₀ µg/ml	GM
<i>F. solani</i>	18	FLU (18)	128 / 128	> 64 / > 64
		AMB (18)	14.8 / 20.1-32	2 - > 16 / 4 - > 16
		POS (18)	1 - 27.4 / 2.8 - 32	1 - > 16 / 2 - > 16
		RVS (18)	9.5 - 30.7 / 26.9 - 32	4 - > 16 / > 16
		VRC (18)	1.6 - 5.4 / 4 - 8.9	1 - 8 / 2 - > 16
<i>F. oxysporum</i>	4	FLU (4)	128 / 128	> 64 / > 64
		AMB (4)	16 / > 16	16 / 32
		RVS (4)	9.5 / 26.9	4-16 / 16 - > 16
		POS (4)	1 / 2.8	01/02/2004
		VRC (4)	1.6 / 4	1 - 2 / 2- 8

Teniendo en cuenta el análisis realizado entre las comparaciones de los métodos, se puede decir que la utilización de los métodos comerciales hoy en día han sido utilizados con frecuencia en laboratorios clínicos por su fácil y rápida interpretación, haciendo que se reduzcan los tiempos de diagnóstico. Sin embargo, la variación de sus datos podría llegar a dificultar la interpretación de sus resultados. Otra de las cosas evaluadas fue el tiempo de incubación, el tamaño del inóculo y la temperatura de incubación los cuales causaron un impacto en los resultados (21,22,63).

La importancia de las pruebas de sensibilidad permiten conocer la resistencia y sensibilidad de los aislamientos y poder vigilar la resistencia hacia nuevos antifúngicos para predecir su respuesta clínica (26).

5.3 Mecanismos de resistencia de *Fusarium* spp. frente a los antifúngicos empleados en terapia clínica.

En los últimos años, la incidencia de hasta 5,97 casos por cada 1.000 pacientes con infecciones causadas por el género *Fusarium* ha aumentando; así como la resistencia a los antifúngicos de uso en terapia clínica (78). Sin embargo, en la revisión realizada, los mecanismos de resistencia no han sido documentados; solamente, los estudios realizados por Alfonso et al 2006, Chang et al 2006, Zhang et al 2007, Dyavaiah et al 2007, Imamura et al 2008, Mukherjee et al 2012 describen como mecanismo de resistencia la formación de biopelículas en lentes de contacto con pacientes que presentan queratitis micótica. En estos estudios se plantea que las biopelículas o "Biofilm" son una población de células que crecen unidas a una superficie envuelta en una matriz de exopolisacáridos que tienen la capacidad de proteger frente a diferentes soluciones de limpieza de lentes de contacto, encontrando que las diferentes soluciones, el tiempo de limpieza, el tipo de lente, el uso de cajas contaminadas son factores que predisponen en la adherencia y formación de biopelículas (34-36,79-81).

En el estudio realizado por Mukberjee et al 2012 se evaluó la sensibilidad de las biopelículas formadas por *F. solani* y *F. oxysporum* frente a los antifúngicos. Basados en este estudio, la resistencia de Anfotericina B en biopelículas formadas por *F. solani* posiblemente es debido al agotamiento de ergosterol en la membrana y el aumento de las bombas de flujo, lo que también podría influir en la resistencia hacia voriconazol en cepas de *F.oxysporum*. Por otra parte natamicina mostró actividad frente a las dos especies, siendo este un antifúngico de utilidad sobre todo en el tratamiento primario cuando hay sospecha de la formación de biopelículas. De igual manera, los autores concluyeron que el grosor de la biopelícula no tiene relación alguna con la resistencia, mientras que se observó que las células planctónicas (células en suspensión) presentaban mejor sensibilidad que la misma biopelícula formada (36).

Aspergillus spp. es un hongo que comparte características clínicas y se encuentra al igual que *Fusarium* clasificado dentro de las hialohifomicosis. Para este patógeno se han reportado diferentes mecanismos de resistencia a los antifúngicos por lo que podría plantear como modelo base para investigar los posibles genes implicados en la resistencia de *Fusarium* (Tabla 9).

De acuerdo a lo reportado frente a *Aspergillus* se podría plantear para *Fusarium* spp. la evaluación de genes implicados en la biosíntesis de ergosterol y pared celular teniendo en cuenta los CMI's mostrados en este trabajo para los azoles y las equinocandinas.

Tabla 9. Genes relacionados con la resistencia de *Aspergillus* spp.

Autor	Gen	Función del gen	locus	Cambio que genera la resistencia
Mellado <i>et al.</i> , 2001	Gyp51	Codificar la enzima 14- α -lanosterol demetilasa, involucrada en la biosíntesis del ergosterol por desmetilación del lanosterol (diana de los azoles)	M220, G54, L98	SUSTITUCIONES: G54 por ácido glutámico, lisina, valina. M220 por isoleucina, valina, lisina. L98 por histidina + duplicación del tandem de la secuencia de 43pb en el promotor del gen Gyp51.
Mann <i>et al.</i> , 2003				
Nascimento <i>et al.</i> , 2003				
Mellado <i>et al.</i> , 2004				
Balashov <i>et al.</i> , 2004				
Chen <i>et al.</i> , 2005				
Ferreira <i>et al.</i> , 2005				
Mellado <i>et al.</i> , 2007				
García-Effron <i>et al.</i> , 2008				
Rodríguez-tudela <i>et al.</i> , 2008				
Howard <i>et al.</i> , 2009				
Liu <i>et al.</i> , 2004	Erg11	Codificar a la β -1-3-D-glucano sintasa que participa en la formación de polímeros de glucano en la pared celular.	F389	F389 por leucina
Rocha <i>et al.</i> , 2006				
Qiao <i>et al.</i> , 2008				
Gardiner <i>et al.</i> , 2005	AfuEcm3 3	Codificar las proteínas de pared para la organización celular.	NR	NR
Perlin <i>et al.</i> , 2007				
Kanafi <i>et al.</i> , 2008	mdr1, mdr2, Art	Transporte de diferentes compuestos intracelularmente.	NR	NR
Uicab <i>et al.</i> , 2010				

6. CONCLUSIONES

- Anfotericina B y voriconazol son los antifúngicos utilizados en infecciones diseminadas por *Fusarium* spp.
- Terbinafina, itraconazol y anfotericina B son los antifúngicos utilizados para infecciones superficiales.
- En pacientes inmunosuprimidos, el éxito de la terapia antifúngica está ligado con la recuperación de su estado de inmunosupresión, mientras que en pacientes inmunocompetentes el éxito de la terapia es mediante la utilización de antifúngicos orales y tópicos.
- Itraconazol, ketoconazol y fluconazol son antifúngicos que tienen baja actividad frente a *Fusarium*.
- Anfotericina B y voriconazol fueron los antifúngicos que presentaron mayor actividad farmacológica gracias a su amplio espectro frente a la mayoría de especies de *Fusarium* pero no mostraron el 100% de evolución en los pacientes.
- La falta de estudios *in vivo* y la correlación con estudios *in vitro*, así como la estandarización de puntos de corte y la identificación a nivel de especie, son aspectos importantes para instaurar la terapia clínica en el paciente.
- A pesar de la resistencia reportada frente al género *Fusarium* no hay estudios sobre los mecanismos moleculares de resistencia que sustenten este comportamiento.
- La formación de biopelículas en lentes de contacto es la única aproximación como mecanismo de resistencia para las especies de *F. solani* y *F. oxysporum*.

7. RECOMENDACIONES

Es importante resaltar la necesidad de realizar más investigaciones sobre el perfil de sensibilidad en aislamientos de *Fusarium* con el fin poder determinar un tratamiento específico por especie contra estas infecciones.

Se hace preciso realizar más estudios sobre los mecanismos moleculares de resistencia de *Fusarium* spp., que nos permitan conocer cuáles son esos mecanismos utilizados para generar resistencia frente a las moléculas de uso en terapia clínica, dado que actualmente no se encuentran reportes en la literatura.

Realizar estudio de genes implicados en la resistencia de *Fusarium* tomando como modelo lo reportado para *Aspergillus* spp.

8. REFERENCIAS

1. Heras M. Susceptibilidad Antifúngica y Filogenia Molecular de Especies del Genero *Fusarium* de Interés Clínico. **Tesis Doctoral**. Departament de Ciències Mèdiques Bàsiques. Universitat Rovira I Virgili, Reus, España, 2009, 261p.
2. Heitman J, Filler GS, Edwards EJ, Mitchell PA. Molecular principles of fungal pathogenesis. Primera edición. ASM Press. Washington, D.C. Estados Unidos. 2006, 700p.
3. Nucci M, Anaissie E. *Fusarium* Infections in Immunocompromised Patients. *Clinical Microbiology Reviews* 2007; **20**(4): 695-704.
4. Álvez F, Figueras C, Rosello E, Representacion del grupo de trabajo de Infecciones Fúngicas de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica. Infecciones fúngicas invasivas emergentes. *Anpediatr* 2010; **73**(1): 52.e1-52.e6
5. Moreno N, Saavedra-Rodríguez A, Sánchez-Morales E, García-Herrero P. Fusariosis como nódulo pulmonar solitario. *Rev.Fac.Med* 2008; **56**: 257-261.
6. Radd II, Hachem RY, Herbrecht R, Graybill JR, Hare R, Corcoran G, Kontoyiannis DP. Posaconazole as Salvage Treatment for Invasive Fusariosis in Patients with Underlying Hematologic Malignancy and Other Conditions. *Clinical Infectious Diseases* 2006; **42**: 1398-403.
7. Stanzani M, Vianelli N, Bandini G, Paolini S, Arpinati M, Bonifazi F, Giannini B, Agostinelli C, Bacarani M, Ricci P. Successful treatment of disseminated Fusariosis after allogenic hematopoietic stem cell transplantation with the combination of voriconazole and liposomal amphotericin B. *Journal of Infection* 2006; **53**:e243-e246.
8. Olivares L, Organismos emergentes y resurgentes en micología medica. http://www.asociacionmexicanademicrologiamedica.com.mx/DocEnLinea/textos_apoyo/organis_emer.pdf. Consultado en 31 jul. De 2012.
9. Stanzani M, Tumietto F, Vianelli N, Bacarani M. Update on the treatment of disseminated fusariosis: Focus on voriconazole. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 2007; **3**(6): 1165-1173.
10. Lortholary O, Obenga G, Biswas P, Caillot D, Chachaty E, Bienvenu AL, Cornet M, Greene J, Herbrecht R, Lacroix C, Grenouillet F, Raad I, Sitbon K, Troke P and the French Mycoses Study Group. International Retrospective Analysis of 73 Cases of Invasive Fusariosis Treated with Voriconazole. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy* 2010; **54**(10): 4446-4450.
11. Sekeroglu HT, Erdem E, Yagmur M, Gumral R, Ersoz R, Ilkit M, Harbiyeli I. Successful Medical Management of Recalcitrant *Fusarium solani* Keratitis: Molecular Identification and Susceptibility. *Mycopathologia* 2011.
12. Paphitou NI, Zeichner OL, Paetznick VL, Rodriguez JR, Chen E, Rex JH. In Vitro Activities of Investigational Triazoles against *Fusarium* Species: Effects of Inoculum Size and Incubation Time on Broth Microdilution Susceptibility Test Results. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2002; **46**(10): 3298-3300.
13. Edelstein SL, Akduman L, Durham BH, Forthergill AW, Hsu HY. Resistant *Fusarium* Keratitis Progressing to Endophthalmitis. *Eye & Contact Lens* 2012; **38**(5): 331-335.
14. Godoy P, Cano J, Gené J, Guarro J, Lima-Höfling AL, Colombo AL. Genotyping of 44 Isolates of *Fusarium solani*, the Main Agent of Fungal Keratitis in Brazil. *Journal Of Clinical Microbiology* 2004; **42**(10): 4494-4497.

15. Venturini TP, Rossato L, Spader TB, Tronco-Alves GR, Azevedo MI, Weiler CB, Santurio JM, Alves SH. In vitro synergisms obtained by amphotericin B and voriconazole associated with non-antifungal agents against *Fusarium* spp.. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2011; **71**:126-130.
16. Cordoba S, Rodero L, Vivot W, Abrantes R, Davel G, Vitale RG. In vitro interactions of antifungal agents against clinical isolates of *Fusarium* spp.. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2008; **31**:171-174.
17. Llambrich A, Lecha Tratamiento actual de las onicomicosis. *Rev Iberoam Micol* 2002; **19**: 127-129.
18. Piraccini BM, Tosti A. White Superficial Onychomycosis Epidemiological, Clinical, and Pathological Study of 79 Patients. *Arch Dermatol* 2004; **140**: 696-701
19. Fica A. Tratamiento de infecciones fúngicas sistémicas Primer parte: fluconazo, itraconazol y voriconazol. *Rev Chil Infect* 2004; **21**(1): 26-38.
20. Gold DH, Lewis RA. American Medical Association Oftalmología. Unica edición. MARBÁN. Madrid. España. 2006, 1134 p.
21. Espinel-Ingroff A, Boyle K, Sheenhan DJ. In vitro antifungal activities of voriconazole and reference agents as determined by NCCLS methods: Review of the literature. *Mycopathologia* 2001, **150**: 101-115.
22. Alastruey-Izquierdo A, Cuenca-Estrella M, Monzón A, Mellado E, Rodríguez-Tudela JL. Antifungal susceptibility profile of clinical *Fusarium* spp. isolates identified by molecular methods. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2008, **61**: 805-809.
23. Tomás JG, Calvo CR, Ruesca RB. Criterios de sensibilidad a los azoles. *Rev Esp Quimioterap* 2004, **17**(1): 83-90.
24. Linares MJ, Charriel G, Solís F, Rodríguez F, Ibarra A, Casal M. Susceptibility of Filamentous Fungi to Voriconazole Tested by Two Microdilution Methods. *Journal of clinical microbiology* 2005, **43**(1): 250-253.
25. CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standard-Second Edition. CLSI document M38-A2. Wayne,pa: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008
26. Tapia, C.V. Actualización en pruebas de susceptibilidad antifúngica. *Rev Chil Infect* 2009, **26**(2): 144-150.
27. Martín-Marzuelos E, Lacasa CE, Espinel-Ingroff A. Otros métodos para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos. *Rev. Iberoam de Mico* 2007, **16**: 1-9.
28. Balashov SV, Gardiner R, Park S, Perlin DS. Rapid, High-Throughput, Multiplex, Real-Time PCR for Identification of Mutations in the *cyp51A* Gene of *Aspergillus fumigatus* That Confer Resistance to Itraconazole. *Journal of Clinical Microbiology* 2005, **43**(1): 214-222.
29. Perlin DS. Resistance to echinocandin-class antifungal drugs. *Drug Resist Updat* 2007, **10**(3): 121-130.
30. Espinel-Ingroff A. Mechanisms of resistance to antifungal agents: Yeasts and filamentous fungi. *Rev Iberoam Micol* 2008, **25**: 101-105.
31. Rodríguez-Tudela JL, Alcazar-Fuoli L, Mellado E, Alastruey-Izquierdo A, Monzon A, Cuenca-Estrella M. Epidemiological Cutoffs and Cross-Resistance to Azole Drugs in *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2008, **52**(7): 2468-2472.
32. Mellado E, Cuenca-Estrella M, Rodríguez-Tudela JL. Importancia clínica de los mecanismos de resistencia de los hongos filamentosos a los antifúngicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2002, **20**(10): 523-530.

33. Kontoyiannis DP, Lewis RE. Antifungal drug resistance of pathogenic fungi. *Lacenet* 2002, **359**: 1135-1144.
34. Dyavaiah M, Ramani R, Chu DS, Ritterban DC, Shah MK, Samsonoff WA, Chaturvedi S, Chaturvedi V. Molecular characterization, biofilm analysis and experimental biofouling study of *Fusarium* isolates from recent cases of fungal keratitis in New York State. *BMC Ophthalmology* 2007, **7**(1): 1-9.
35. Imamura Y, Chandra J, Mukherjee PK, Lattif AA, Szczotka-Flynn LB, Pearlman E, Lass JH, O'Donnell K, Mahmoud A. *Fusarium* and *Candida albicans* Biofilms on Soft Contact Lenses: Model Development, Influence of Lens Type, and Susceptibility to Lens Care Solutions. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2008, **52**(1): 171-182.
36. Mukherjee PK, Chandra J, Yu C, Sun Y, Pearlman E, Ghannoum MA. Characterization of *Fusarium* Keratitis Outbreak Isolates: Contribution of Biofilms to Antimicrobial Resistance and Pathogenesis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2012, **53**(3): 4450-4457.
37. Stanzani M, Vianelli N, Bandini G, Paolini S, Arpinati M, Bonifazi F, Giannini B, Agostinelli C, Baccarani M, Ricci P. Successful treatment of disseminated Fusariosis after allogenic hematopoietic stem cell transplantation with the combination of voriconazole and liposomal amphotericin B. *Journal of Infection* 2006; **53**: e243-e246
38. Cocchi S, Codeluppi M, Venturelli C, Bedini A, Grottola A, Gennari W, Cavrini F, Benedetto FD, Ruvo ND, Rumpianesi F, Gerunda GE, Guaraldi G. *Fusarium verticillioides* fungemia in a liver transplantation patient: successful treatment with voriconazole. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2011; **71**: 438–441
39. Guilhermetti E, Takahachi G, Shinobu CS, Svidzinski TI. *Fusarium* spp. as agents of onychomycosis in immunocompetent hosts. *International Journal of Dermatology* 2007; **46**: 822–826.
40. Jossi M, Ambrosioni J, Macedo-vinas M, Garbino J. Invasive fusariosis with prolonged fungemia in a patient with acute lymphoblastic leukemia: case report and review of the literature. *International Society for Infectious Diseases* 2010; **14**: e354–e356
41. Cocuroccia B, Gaido J, Gubinelli E, Annessi G, Girolomoni G. Localized Cutaneous Hyalohyphomycosis Caused by a *Fusarium* Species Infection in a Renal Transplant Patient. *journal of clinical microbiology* 2003; **41** (2) : 905–907.
42. Musa MO, Eisa A, Halim M, Sahovic E, Gyger M, Chaudhri N, Mohareb F, Seth M, Aslam M, Aljurf M. The spectrum of *Fusarium* infection in immunocompromised patients with haematological malignancies and in non-immunocompromised patients: a single institution experience over 10 years. *British Journal of Haematology* 2000; **108**: 544-548.
43. Dismukes WE. Introduction to Antifungal Drugs. *Clinical Infectious Diseases* 2000; **30**: 653–657.
44. Walsh TJ, Teppler H, Donowitz GR, Maertens JA, Badem LR, Dmoszynska A, Cornely OA, Bourque MR, Lupinacci RJ, Sable CA, Pauw BE. Caspofungin versus Liposomal Amphotericin B for Empirical Antifungal Therapy in Patients with Persistent Fever and Neutropenia. *The new england journal of medicine* 2004; **351**(14): 1391-1402.
45. Cuenca-Estrella M. Combinations of antifungal agents in therapy—what value are they?. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2004; **54**: 854–869.
46. Cendoya RM, Pastor FJ, Capilla J, Guarro J. Treatment of murine *Fusarium verticillioides* infection with liposomal amphotericin B plus terbinafine. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2011; **37**: 58–61.

47. Durand ML, Kim KI, D'Amico DJ, Loewenstein JI, Tobin EH, Kieval SJ, Martín SS, Azar DT, Miller SF, Lujan JB, Miller WJ. Successful Treatment of Fusarium Endophthalmitis With Voriconazole and Aspergillus Endophthalmitis With Voriconazole Plus Caspofungin. *American Journal Of Ophthalmology* 2005; **140**(3): 552-554.
48. Tu YE, McCartney LD, Beatty FR, Springer LK, Levy J, Edward D. Successful Treatment of Resistant Ocular Fusariosis With Posaconazole (SCH-56592). *Elsevier Inc* 2007; **143**(2): 222-227.
49. Bodey GP, Boktour M, Mays S, Duvic M, Kontoyiannis D, Hachem K, Raad I. Skin lesions associated with *Fusarium* infection. *American Academy of Dermatology* 2002; 659-666
50. Lee SJ, Lee JJ, Kim SD. Topical and Oral Voriconazole in the Treatment of Fungal Keratitis. *Korean Journal of Ophthalmology* 2009; **23**:46-48.
51. Gupta S, Almyroudis NG, Battiwalla M, Bambach BJ, McCarthy PL, Proefrock AD, Ball D, P. Paplham, A.Varma, Kwon-Chung J. Successful treatment of disseminated fusariosis with posaconazole during neutropenia and subsequent allogeneic hematopoietic stemcell transplantation. *Transpl Infect Dis* 2007, **9**:156–160.
52. Sanglard D. Resistance of human fungal pathogens to antifungal drugs. *Current Opinion in Microbiology* 2002, **5**:379–385.
53. Sanglard D. Resistance and tolerance mechanisms to antifungal drugs in fungal pathogens. *Mycologist* 2003, **17**: 74-78.
54. Gadea I, Cuenca-Estrella M, Martín E, Pemán J, Pontón J, Rodríguez-Tudela JL. Procedimientos de diagnóstico microbiológico de las micosis y estudios de sensibilidad a los antifúngicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2007, **25**(5): 336-340.
55. Jain PK, Gupta VK, Misra AK, Gaur R, Bajpai V, Issar S. Current Status of *Fusarium* Infection in Human and Animal. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 2011, **6**(3): 201-227.
56. Bidart T. Rol de voriconazol y caspofungina en terapia antifúngica. *Rev Chil Infect* 2004, **21**(1): 13-19.
57. Azor M, Gene J, Cano J, Sutton DA, Fothergill AW, Rinaldi MG, Guarro J. In Vitro Antifungal Susceptibility and Molecular Characterization of Clinical Isolates of *Fusarium verticillioides* (*F. moniliforme*) and *Fusarium thapsinum*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2008, **52**(6):2228-2231.
58. Arika S, Chiu ML, Paetznick V, Nangia S, Rex JH. Microdilution Susceptibility Testing of Amphotericin B, Itraconazole, and Voriconazole against Clinical Isolates of *Aspergillus* and *Fusarium* Species. *Journal of Clinical Microbiology* 1999, **32**(12): 3946-3951.
59. Azor M, Gené J, Cano J, Guarro J. Universal In Vitro Antifungal Resistance of Genetic Clades of the *Fusarium solani* Species Complex. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2007, **51**(4): 1500-1503.
60. Rodríguez-Tudela JL, Alcazar-Fuoli L, Cuesta I, Alastruey-Izquiero A, Monzón A, Mellado E, Cuenca-Estrella M. Clinical relevance of resistance to antifungals. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2008, **32**(2): 111-113.
61. Liu JY, CHEN § WT, KO SB, Yao M, Hsueh PR, Hsiao CH, Kuo YM, Chen CH. Combination antifungal therapy for disseminated fusariosis in immunocompromised patients : a case report and literature review. *Medical Mycology* November 2011, **49**, 872–878.
62. Nucci M, Anaissie EJ, Queiroz-Telles F, Martins CA, Trabasso P, Solza C, Mangini C, Simoes BP, Colombo AL, Vaz J, Levy CE, Costa S, Moreira VA, Oliveira JS, Paraguay N, Duboc G, Voltarelli JC, Maiolino A, Pasquin R, Souza

- CA. Outcome predictors of 84 patients with hematologic malignancies and *Fusarium* infection. *American Cancer Society* 2003, **98**: 315-319.
63. Sponzel EW, Graybill RJ, Nevarez LH, Dang D. Ocular and systemic posaconazole (SCH-56592) treatment of invasive *Fusarium solani* keratitis and endophthalmitis. *Br J Ophthalmol* 2002;**86**:827–833.
 64. Piraccini BM, Tosti A. White Superficial Onychomycosis Epidemiological, Clinical, and Pathological Study of 79 Patients. *Arch Dermatol* 2004; **140**: 696-701.
 65. Yang SY, Ahn JJ, Shun KM, Lee HM. *Fusarium solani* onychomycosis of the thumbnail coinfecting with *Pseudomonas aeruginosa*: report of two cases. *Mycoses* 2009; **54**, 168–171.
 66. Brash J, Shimanovich I. Persistent fingernail onychomycosis caused by *Fusarium proliferatum* in a healthy woman. *Mycoses* 2011, **55**: 86-89.
 67. Calado BN, Jr SF, Gomez ON, Cardoso RF, Zaror CL, Milán PE. *Fusarium* nail and skin infection: A report of eight cases from Natal, Brazil. *Mycopathologia* 2006; **161**: 27–31.
 68. Torres-Rodríguez MJ, Altisent-sellart M. Celulitis y onicomicosis proximal de ambos oríjenes mayores producida por *Fusarium solani*. *Rev. Iberoam Micol* 2006; **23**: 241-244.
 69. Escobar LM, Fonseca-Carmona J. Onicomicosis por hongos ambientales no dermatofitos. *Rev Iberoam Micol* 2003; **20**: 6-10.
 70. Palacio A, Pazos C, Cuétara S. Onicomicosis por hongos filamentosos no dermatofitos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2001; **19**: 439-442.
 71. Hernández-cruz C, Nuñez-Quintana A, Rodríguez-Fraga Y, Carnot-Uria J, Muñoz-Perurena J, Pérez-Román G, Chávez-Medina R, Moya-Pérez I, Llanes-Rodríguez N, Hart-Casares M. Sepsis sistémica por *Fusarium solani* en pacientes con leucemias agudas. Reporte de dos casos. *Rev Hematol Mex* 2011;**12**(4):287-292.
 72. Espinel-Ingroff A. Comparison of the E-test with the NCCLS M38-P Method for Antifungal Susceptibility Testing of Common and Emerging Pathogenic Filamentous Fungi. *Journal of Clinical Microbiology* 2001, **39**(4): 1360-1367.
 73. Lewis ER, Wiederhold , Klepser EM. In Vitro Pharmacodynamics of Amphotericin B, Itraconazole, and Voriconazole against *Aspergillus*, *Fusarium*, and *Scedosporium* spp. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2005; **49**(3): 945–951.
 74. Debourgogne A, Hoog S, Lozniewski A. Amphotericin B and voriconazole susceptibility profiles for the *Fusarium solani* species complex: comparison between the E-test and CLSI M38-A2 microdilution methodology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; **31**:615–618.
 75. Chavez J, Rivas P, Cortés J, Cuervo S, Sanchez R, Parra C. Sensibilidad in vitro de hongos miceliales de aislamientos clínicos en pacientes con cáncer en el Instituto Nacional de Cancerología ESE. *Infectio* 2010; **14**(2): 116-126.
 76. Arıkan S, Paetznick V, Rex HJ. Comparative Evaluation of Disk Diffusion with Microdilution Assay in Susceptibility Testing of Caspofungin against *Aspergillus* and *Fusarium* Isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2002; **46**(9): 3084–3087.
 77. Giraldo C, Velásquez MM, Correa LA. Infección diseminada por *Fusarium* spp. en un paciente con anemia aplásica. *Rev Asoc Colomb Dermatol* 2010;**18**: 225-32.
 78. Alfonso CE, Miller D, Cantu-Dibildox J, O'Brien PT. Schein DO. Fungal Keratitis Associated With Non-therapeutic Soft Contact Lenses. *Brief Reports* 2006; **142** (1): 154-155.

79. Chang CD, Grant BG, O'Donnell K, Wannemuehler AK, Noble-Wang J, Rao YC, Jacobson ML, Crowell SC, Sneed SR, Lewis MF, Schaffzin KJ, Kainer AM, Genese AC, Alfonso CE, Jones BD, Srinivasan A, Fridkin KS, Park JB, for the *Fusarium* Keratitis Investigation Team. Multistate Outbreak of *Fusarium* Keratitis Associated With Use of a Contact Lens Solution. *JAMA* 2006; **296** (8): 953-963.
80. Zhang S, Ahearn DG, Stulting RD, Schwam BL, Simmons RB, Pierce GE, Crow SA. Differences Among Strains of the *Fusarium oxysporum*-*F. solani* Complexes in Their Penetration of Hydrogel Contact Lenses and Subsequent Susceptibility to Multipurpose Contact Lens Disinfection Solutions. *Cornea* 2007, **26**(10): 1249-1254.
81. Mohammadinia M, Amiri MA, Delavari F, Yousefzadeh B, Maymeh MH. Antifungal efficacy of soft contact lens disinfecting solutions against *Fusarium solani* and *Candida albicans*. *Clinical and Experimental Optometry* 2012, **95**: 207-211.

ANEXO 1. Base de Datos

Art.	AUTOR	TIPO DE ESTUDIO	IDIOMA
1	Jr. Krcmery <i>et al.</i> ,1997	Caso clínico	Ingles
2	Mussa <i>et al.</i> , 2000	Caso clínico	Ingles
3	Bodey <i>et al.</i> ,2001	Caso clínico- retrospectivo	Ingles
4	Pereiro <i>et al.</i> , 2001	Caso clínico	Ingles
5	Austen <i>et al.</i> ,2001	Casi clínico	Ingles
6	Vagace <i>et al.</i> ,2001	Caso clínico	Ingles
7	Cocuroccia <i>et al.</i> , 2003	Caso clínico	Ingles
8	Dursun <i>et al.</i> , 2003	Caso clínico- retrospectivo	Ingles
9	Rodriguez <i>et al.</i> , 2003	Caso clínico	Ingles
10	Nucci <i>et al.</i> , 2003	Caso clínico- retrospectivo	Ingles
11	Bigley <i>et al.</i> ,2004	Caso clínico	Ingles
12	Kivivuori <i>et al.</i> , 2004	Caso clínico	Ingles
13	Piraccini <i>et al.</i> , 2004	Casi clínico	Ingles
14	Garbino <i>et al.</i> , 2005	Caso clínico	Ingles
15	Dornbusch <i>et al.</i> , 2005	Caso clínico	Ingles
16	Cudillo <i>et al.</i> , 2005	Caso clínico	Ingles
17	Petit <i>et al.</i> , 2005	Caso clínico	Ingles
18	Durand <i>et al.</i> , 2005	Caso clínico	Ingles
19	Ferrer <i>et al.</i> , 2005		Ingles
20	Olivares <i>et al.</i> ,2005	Caso clínico	Español
21	Radd <i>et al.</i> , 2006	Caso clínico- retrospectivo	Ingles
22	Tu <i>et al.</i> , 2006	Caso clínico- retrospectivo	Ingles
24	Torres-Rodríguez <i>et al.</i> , 2006	Caso clínico	Ingles
25	Stanzani <i>et al.</i> ,2006	Caso clínico	Ingles
26	Selleslag <i>et al.</i> , 2006	Caso clínico	Ingles
27	Gupta <i>et al.</i> ,2006	Caso clínico	Ingles
28	Stephe <i>et al.</i> , 2006	Caso clínico	Ingles
29	Cudillo <i>et al.</i> , 2006	Caso clínico	Ingles
30	Gorscak <i>et al.</i> , 2007	Caso clínico- retrospectivo	Ingles
31	Hu <i>et al.</i> , 2007	Caso clínico- retrospectivo	Ingles
32	Perez-Perez <i>et al.</i> , 2007	Caso clínico	Ingles
33	Cesaro <i>et al.</i> , 2008	Caso clínico	Ingles
34	Neuburger <i>et al.</i> , 2008	Caso clínico	Ingles
35	Mallo-Garcia <i>et al.</i> , 2008	Casi clínico	Ingles
36	Busemann <i>et al.</i> , 2008	Caso clínico	Ingles
37	Oubazz <i>et al.</i> , 2008	Casi clínico	Ingles
38	Parra <i>et al.</i> ,2008	Caso clínico	Español
39	Moreno <i>et al.</i> , 2008	Caso clínico	Español
40	Yang <i>et al.</i> , 2009	Caso clínico	Ingles
41	Rodriguez- Cuellar <i>et al.</i> , 2009	Caso clínico	Ingles

42	Cs et al., 2009	Caso clínico	Ingles
43	Lee et al.,2009	Caso clínico	Ingles
44	Halpern et al., 2010	Caso clínico	Ingles
45	Proenca-Pina et al., 2010	Caso clínico	Ingles
46	Romano et al., 2010	Caso clínico	Español
47	Giraldo <i>et al.</i> ,2010	Caso clínico	Español
48	Jossi et al.,2010	Caso clínico	Ingles
49	Nunes <i>et al.</i> , 2010	Caso clínico	Ingles
50	Belliappa et al., 2010	Caso clínico- retrospectivo	Ingles
51	Fan et al., 2010	Caso clínico	Ingles
52	Zaigraykina <i>et al.</i> , 2010	Caso clínico	Ingles
53	Melloulli et al.,2010	Caso clínico	Ingles
54	Lortholary <i>et al.</i> ,2010	Caso clínico- retrospectivo	Ingles
55	Cocchi <i>et al.</i> ,2011	Caso clínico	Ingles
56	Brash et al., 2011	Caso clínico	Ingles
57	Gungel et al., 2011	Caso clínico	Ingles
58	Carneiro <i>et al.</i> , 2011	Caso clínico- retrospectivo	Ingles
59	Liu <i>et al.</i> , 2011	Caso clínico	Ingles
60	Bose <i>et al.</i> , 2011	Caso clínico	Ingles
61	Edelstein et al., 2011	Caso clínico	Ingles
62	Kapp et al., 2011	Caso clínico	Ingles
63	Kah et al., 2011	Caso clínico	Ingles
64	Hernández <i>et al.</i> , 2011	Caso clínico	Ingles
65	Hernández-cruz et al.,2011	Caso clínico	Ingles
66	Sekeroglo et al.,2012	Caso clínico	Ingles
67	Shingal et al., 2012	Caso clínico	Ingles
68	Espinel-Ingroff <i>et al.</i> ,2001	<i>In Vitro</i>	Ingles
69	Espinel-Ingroff et al.,2001	<i>In Vitro</i>	Ingles
70	Arikan <i>et al.</i> , 2002	<i>In Vitro</i>	Ingles
71	Paphitou <i>et al.</i> , 2002	<i>In Vitro</i>	Ingles
72	Diekema <i>et al.</i> , 2003	<i>In Vitro</i>	Ingles
73	Maragon <i>et al.</i> , 2004	<i>In Vitro</i>	Ingles
74	Pfaller <i>et al.</i> , 2004	<i>In Vitro</i>	Ingles
75	Linares <i>et al.</i> , 2005	<i>In Vitro</i>	Ingles
76	Lewis <i>et al.</i> , 2005	<i>In Vitro</i>	Ingles
77	Sabatelli <i>et al.</i> , 2006	<i>In Vitro</i>	Ingles
78	Azor <i>et al.</i> , 2007	<i>In Vitro</i>	Ingles
79	Alastruey-Izquierdo <i>et al.</i> , 2008	<i>In Vitro</i>	Ingles
80	Azor <i>et al.</i> , 2008	<i>In Vitro</i>	Ingles
81	Cordoba <i>et al.</i> , 2008	<i>In Vitro</i>	Ingles
82	Tortorano <i>et al.</i> , 2008	<i>In Vitro</i>	Ingles
83	Chavez <i>et al.</i> , 2010	<i>In Vitro</i>	Español
84	Ruiz - cendoya <i>et al.</i> , 2011	<i>In Vitro</i>	Ingles

85	Debourgogne <i>et al.</i> , 2011	<i>In Vitro</i>	Ingles
86	Sekeroglu <i>et al.</i> , 2012	<i>In Vitro</i>	Ingles
87	Délye <i>et al.</i> , 1997	Experimental	Ingles
88	Dannaoui <i>et al.</i> , 2001	Experimental	Ingles
89	Mellado <i>et al.</i> , 2001	Experimental	Ingles
90	Mellado <i>et al.</i> , 2001	Experimental	Ingles
91	Osheroov <i>et al.</i> , 2001	Experimental	Ingles
92	Mosquera <i>et al.</i> , 2002	Experimental	Ingles
93	Diaz-Guerra <i>et al.</i> , 2003	Experimental	Ingles
94	Mann <i>et al.</i> , 2003	Experimental	Ingles
95	Nascimento <i>et al.</i> , 2003	Experimental	Ingles
96	Liu <i>et al.</i> , 2004	Experimental	Ingles
97	Balashov <i>et al.</i> , 2004	Experimental	Ingles
98	Mellado <i>et al.</i> , 2004	Experimental	Ingles
99	Munayyer <i>et al.</i> , 2004	Experimental	Ingles
100	Ferreira <i>et al.</i> , 2004	Experimental	Ingles
101	Xiao <i>et al.</i> , 2004	Experimental	Ingles
102	Chen <i>et al.</i> , 2005	Experimental	Ingles
103	Chang <i>et al.</i> , 2006	Experimental	Ingles
104	Alfonso <i>et al.</i> , 2006	Experimental	Ingles
105	Mellado <i>et al.</i> , 2007	Experimental	Ingles
106	Dyavaiah <i>et al.</i> , 2007	Experimental	Ingles
107	Zhang <i>et al.</i> , 2007	Experimental	Ingles
108	Garcia-Effron <i>et al.</i> , 2008	Experimental	Ingles
109	Behlau <i>et al.</i> , 2008	Experimental	Ingles
110	Imamura <i>et al.</i> , 2008	Experimental	Ingles
111	Sun <i>et al.</i> , 2009	Experimental	Ingles
112	Ha <i>et al.</i> , 2009	Experimental	Ingles
113	Mukherjee <i>et al.</i> , 2012	Experimental	Ingles

AGRADECIMIENTOS

A Melva Yomary Linares L. M.sc. Directora de este trabajo a la cual le agradezco el haberme guiado en el desarrollo del mismo, por confiar en mi y en mi trabajo en los momentos en que yo mismo no lo hacia, por su paciencia y su gran aporte en mi formación académica y personal.

A Ángela María Alvarado F, (c) M.sc. Codirectora de este trabajo la cual le agradezco su acompañamiento incondicional, disposición permanente e incondicional en aclarar mis dudas y por sus palabras de animo en los momentos difíciles en la realización de este trabajo.

A mis padres Cecilia y Armando y a mis hermanos Camilo y Ricardo por su cariño, confianza, apoyo y consejos en este largo camino académico que me llevaron a formar la persona que soy.

A mis amigas, Maria Isabel, Erika, Maria Alejandra, Marcela, Silvia, Natalia Casallas, Natalia Corredor, Natalia Garzon y demás compañeros, quiero darle las gracias porque con su humor y amistad me ayudaron a afrontar los diferentes obstáculos que se me presentaron en el camino.