

Identificación de hongos oportunistas en pacientes inmunodeprimidos

Por M. en C. Jesús Reséndiz Sánchez, Responsable del Laboratorio de Micología de Investigación del Hospital Infantil de México “Federico Gómez”, México, D.F.

En México no tenemos una epidemiología real de las Infecciones Fúngicas Invasivas (IFI). En el Continente Americano los países que están reportando la epidemiología son los Estados Unidos, Colombia, Brasil y Paraguay.

Existen varios factores predisponentes para desarrollar estas infecciones, la comunicación médico-laboratorio es muy importante, En el laboratorio de microbiología aislamos este tipo de microorganismos, muchos de ellos son biota normal, contaminante o colonizante, encontrándose ampliamente distribuidos en la naturaleza.

Como introducción hablaremos de las IFI. Estas son causadas por hongos que normalmente son ubicuos o saprobios que, en condiciones normales no van a causar daño, pues para lograrlo necesitan tener ciertos factores predisponentes. Son una alta causa de morbi y mortalidad en el paciente que se encuentra bajo condiciones de inmunosupresión o inmunodeficiencia con una alta tasa de mortalidad que va del 30 al 80% en los pacientes neutropénicos. Este porcentaje ha aumentado por el uso actual de quimioterapias más agresivas y también, porque han incrementado los trasplantes de órganos; actualmente, en nuestro país estamos haciendo trasplantes de riñón, que es el más común, y también se hace trasplante hepático, cardíaco y pulmonar. Cada vez más los institutos están

realizando este tipo de intervenciones, lo que incrementa el número de pacientes que necesitan recibir tratamiento inmunosupresor como terapia anti-rechazo.

Para cada enfermedad existen diferentes factores de riesgo, lo que se comparte es el inmunocompromiso. Por ejemplo, para la infección por *Candida* tenemos: el uso de antibióticos de amplio espectro por tiempos prolongados (por más de cinco días), uso de catéteres venosos centrales (CVC), nutrición parenteral (NTP), ventilación mecánica, colonización previa. Por fortuna o por desgracia, nosotros encontramos que todos los seres humanos en un 60-90% tenemos colonizado la piel y el tracto digestivo por *Candida*, por lo cual, no es raro encontrarnos con este patógeno; de hecho, éste es el más común en todos los hospitales y en todo el mundo, es la infección fúngica más común. Otro factor predisponente son las cirugías abdominales; y específicamente porque son cirugías donde hay muchos microorganismos y muchas bacterias y, obviamente, el paciente deberá recibir tratamientos antibióticos por tiempos prolongados.

Recordemos también que esos hongos, sobretodo *Candida*, forman parte de la biota normal y del tracto digestivo; es decir, nosotros también tenemos biota bacteriana, la cual ocupa 90% de los microorganismos de biota normal y 10% los hongos. Así, cuando nosotros damos antibióticos de amplio espectro rompemos este equilibrio microbiano y le estamos permitiendo a la *Candida* que empiece a desarrollarse más de la cuenta. Se ha visto que esta biota bacteriana está ocupando un lugar, está consumiendo nutrientes y oxígeno, aunado a esto producen de forma natural, antimicóticos; esto le impide a la biota fúngica poder competir con ellas.

La neutropenia es un factor predisponente muy importante para casi todo el desarrollo de las IFI. Recordemos que los neutrófilos son la primera línea de defensa inmunológica con la que contamos, participan en la respuesta inmune innata y son los que van a estar limitando y cerrándole la puerta a los patógenos. Con el uso de los corticoides se actúa sobre la respuesta inmunológica, lo que disminuye la fagocitosis, la quimiotaxis, la activación de los linfocitos T y los linfocitos B. Realmente esos medicamentos son muy buenos en procesos inflamatorios y de rechazo, pero, también son contraproducentes por todo lo que están haciendo, jugando con la respuesta inmunológica y abatiéndola.

La Diabetes Mellitus (DM) es otro factor predisponente también muy importante, donde hay cambios en el metabolismo de los azúcares y donde *Candida* va a tener, obviamente, mayores nutrientes y pasar de ser colonizante a ser causante de daño.

Analicemos ahora el caso de la Aspergilosis Invasiva (AI), nuevamente aquí está el inmunocompromiso. El factor más importante para el desarrollo de esta micosis es la neutropenia, porque estos participan en la primera línea de defensa. La leucemia y los linfomas también van a ser un factor muy importante para el desarrollo de estas infecciones; sobre todo la leucemia mielocítica porque el hematooncólogo va a tratar de limitarla y va a dar quimioterapia más agresiva. Así, entre más agresiva sea la terapia, hay más daño a la respuesta inmunológica y le damos más oportunidad a los hongos para que pasen de un estado saprobio al estado patógeno.

De igual forma, en el paciente con Lupus Eritematoso Sistémico (LES), recibe tratamientos inmunosupresores y esteroides, porque en esta patología la respuesta inmunológica es la que está agrediendo al paciente y con ello se favorecen las infecciones fúngicas.

Para la criptococosis el factor predisponente número uno es la infección por VIH, sobre todo aquellos pacientes que se encuentran ya en estadios avanzados, en C3 con cuentas de CD4 bajas y cargas virales altas; aquí, ellos tienen dañada la respuesta inmune celular, sobre todo el linfocito T CD4.

Veamos ahora el desarrollo de la zigomicosis, mejor conocido como mucormicosis; aquí tenemos que el factor predisponente número uno es la diabetes mellitus descompensada. Estos pacientes tienen alterado el metabolismo de los azúcares y empiezan a sintetizar lo que se conoce como cuerpos cetónicos, los cuales van a causar un estado de acidosis metabólica que el paciente no va a poder compensar y como los mucorales tienen enzimas que van a ser activas a pH ácidos, entonces, le estamos dando más oportunidad a este tipo de hongos a que empiecen a causar daño.

En la neumocistosis, el factor predisponente es el inmunocompromiso. El VIH y los trasplantes de órganos sólidos son los factores predisponentes más importantes. Asimismo y nuevamente, la neutropenia.

Las IF se han dividido en dos grandes categorías. La primera son las micosis endémica, que van a estar confinadas a ciertas regiones geográficas, entre ellos encontramos la coccidioidomicosis, que en México se localiza en el

norte de la República; la histoplasmosis, que está confinada al centro y sureste del país; la paracoccidioidomicosis, que es poco frecuente en México, y está confinada al sureste del país principalmente. Sin embargo, los cambios climáticos y el calentamiento global, han repercutido en el desarrollo de estas micosis; ya tenemos reportes de coccidioidomicosis presenten en el Estado de México, que es el centro del país.

Las segundas serían las micosis oportunistas, que son causadas por hongos que normalmente son biota normal y están ampliamente distribuidos en la naturaleza. Las enfermedades que encontramos aquí son: candidosis, aspergilosis, criptococosis, zigomicosis o mucormicosis, fusariosis, sedosporiasis, tricosporiasis y penicilinosis. Esta lista va a ir creciendo más porque estamos encontrando otros patógenos que no se había reportado con anterioridad.

La micosis ocasionada por hongos filamentosos, por ejemplo, *Aspergillus*, de la cual hay reportes a nivel mundial, con las especies más comunes como son *clavatus*, *fumigatus*, *terrus* y *niger*. *Fusarium* es otro patógeno que cada vez más está causando problemas, porque este hongo ya contiene información genética para desarrollar resistencia a los antimicóticos; de tal forma que este y *Sedoporium* le van causar al médico verdaderos problemas porque no solamente requieren prescribir un solo antimicótico, sino que inclusive requieren una terapia combinada de fármacos. Los zygomicentos, ó mucormicosis, son patógenos a los que también hay que tenerles mucho cuidado, porque una vez que se encuentran presentes, el daño que causan es mortal, se desarrollan muy rápido, hay necrosis

hasta de 5 milímetros por hora. De tal forma que aunque no se tenga sospecha de esta infección, cuando se ve al paciente, ya es demasiado tarde.

En este grupo de micosis oportunistas causadas por hongos levaduriformes, la reina es *Candida*, y la especie más común y más frecuente es *albicans*; anteriormente, se tenían reportes de 70 a 80% de los casos eran causado por *albicans*, actualmente hay la tendencia a que ésta empiece a disminuir y a predominar las especies no *albicans*. Tenemos otro patógeno levaduriforme que es *Cryptococcus*, la criptococosis antes de los ochentas, era una micosis relativamente rara que empezó a repuntar con el aumento de la infección con VIH, donde aparecieron casos de criptococosis, actualmente es una enfermedad que se va a encontrar muy frecuentemente, sobre todo en el paciente adulto.

El grupo "*Pneumocystis*", no es un hongo levaduriforme realmente; en años anteriores había una gran controversia porque este patógeno comparte muchas características con los protozoarios y se pensaba que era un parásito y era estudiado por los parasitólogos. Actualmente, con los estudios de biología molecular y de la proteonómica, se ha visto que este patógeno tiene más parecido a los hongos, a nivel génico y a nivel de proteínas. Este hongo, por llamarlo de algún modo, se divide por trofozoítos y quistes como lo hacen algunos parásitos.

Hablemos ahora de la micosis endémica, la más importante y más común era la histoplasmosis causada por *Histoplasma capsulatum*. Hay lugares muy conocidos donde se pueden encontrar brotes o regiones endémicas. En

Coccidioides sp, anteriormente se conocía una sola especie llamada *Coccidioides immitis*, pero ahora con los advenimientos de biología molecular se ha identificado otra nueva especie que se llama *posadasii* y se ha encontrado aislado hasta en un 90% de los casos. *Coccidioides posadasii* predomina en Centroamérica; y en la República Mexicana, *Coccidioides immitis* es la predominante, así como en la región geográfica es California, de tal forma que ya se les conoce a estos (*Coccidioides immitis*) como cepas californianas.

Para *Blastomyces dermatitidis*, tenemos muy pocos casos documentados en México, principalmente en Chiapas y Tabasco. En *Paracoccidioides* también se le va a agregar “*sp*”, ya que nuevamente con estudios de biología molecular se ha encontrado una nueva especie, que es la especie *lutzi*. Desgraciadamente como no son patógenos frecuentes, no tenemos las herramientas suficientes que nos puedan ayudar para diagnosticarlo. Tenemos otro hongo común que es *Sporothrix schenckii*, la esporotricosis típica es una enfermedad cutáneo-linfática. En el paciente o en los individuos con una respuesta inmunológica buena y adecuada, se confinan en las lesiones gomosas que siguen un trayecto linfático, por ello vamos a encontrar que los ganglios linfáticos se ulceran y dan lesiones gomosas. La respuesta inmunológica está deteniendo la entrada del patógeno a los ganglios linfáticos. ¿Qué ocurre en el paciente que tiene inmunocompromiso? En este caso, el hongo ya no tiene que lo detenga y empiezan a desarrollarse fenómenos sépticos e invasivos, que realmente, algunas veces no se sospechan.

Los pacientes que están en gran riesgo de padecer estas patologías son los paciente inmunocomprometidos. Son aquellos que tienen trasplantes de células

hematopoyéticas; actualmente, este tipo de trasplantes está siendo cada vez más frecuente. Recordemos que le estamos trasplantando una nueva médula ósea, la cual, por definición, es la madre de todas las células y entre ellas están las células inmunológicas. Cuando las cambiamos de un sistema a otro, estas células empiezan a desconocer a su nuevo hospedero y empiezan a agredirlo, entonces, para evitar eso se deben administrar medicamentos inmunosupresores, los cuales le van a abrir la puerta a otros patógenos.

En las inmunodeficiencias, tanto congénitas como secundarias, como son los pacientes que nacen con la respuesta inmunológica disminuida, en algunos casos estos pacientes mueren después de dos o tres meses de nacidos. Pero también hay inmunodeficiencias adquiridas e inmunodeficiencias primarias, que no son tan graves, por ejemplo, la inmunodeficiencia a inmunoglobulina; el paciente puede estar teniendo una calidad de vida buena, pero va a estar siempre susceptible a la aparición de estas infecciones. En cuanto a las inmunodeficiencias adquiridas, no solo en el VIH, sino también en aquellos pacientes que cursan con terapias oncológicas, que es otra causa de inmunodeficiencia adquirida.

El paciente que se encuentra en las unidades de cuidados intensivos también es muy susceptible. En la unidad de cuidados intensivos, podemos encontrarnos con algún paciente que esté multi-invadido, que puede haber adquirido una infección nosocomial. Cuando se tienen infecciones nosocomiales, obviamente estamos enfrentándonos con microorganismos que presentan multi-resistencia. Estos pacientes no van a recibir un solo antibiótico, van a recibir mezclas o combinaciones de antibióticos (dos, tres o hasta cinco antibióticos).

Algunos ejemplos son el paciente multi-invadido, que tiene catéteres, ventilación mecánica, antibióticos de amplio espectro, aparte puede ser que este paciente sea oncológico y que le hicieron una intervención quirúrgica; entonces, le hicieron ya una ruptura de la barrera natural, le hicieron una cirugía abdominal; también puede ser un paciente desnutrido o neonato. El paciente está, prácticamente en alto riesgo, a expensas de que llegue un hongo y le cause la infección; entonces, los diagnósticos deben de ser rápidos y, el médico debe tener en mente que existen estas IFI.

Hasta aquí presentamos la experiencia de las infecciones fúngicas en adultos, pero ¿qué pasa con el paciente pediátrico, y sobre todo con los neonatos?, estos pacientes van a tener una respuesta inmunológica inmadura; de tal forma que el paciente pediátrico es uno de los más susceptibles de infección por hongos.

La IFI más común en las instituciones de salud es la infección por *Candida*, donde encontramos del 85 al 95% de los aislamientos fúngicos son causados por *Candida*, al igual como lo reporta la literatura. Siendo *Candida albicans* la más común la cual estuvo entre 40 y 60%. Sin embargo, también hay otras especies no *albicans*, como son la *Candida parapsilosis*, *tropicalis* y *glabrata*. En México, las infecciones fúngicas son reportadas principalmente en la ciudad de Monterrey, NL.

En la población pediátrica, la IFI mas frecuente es la AI. La aspergilosis también se ha visto incrementada en los hospitales que están en remodelación, ya que el polvo contiene las conidias del hongo y éstas llegan al paciente. En el

paciente adulto la segunda infección fúngica más frecuente es la criptococosis, y en tercer lugar, la mucormicosis, la cual está condicionada al paciente con diabetes mellitus descompensado, ya que al haber cambios metabólicos, éstos ocasionan que los mucorales encuentren el campo abierto; en el paciente pediátrico también encontramos pacientes con DM tipo 1, pero generalmente en el paciente pediátrico, los padres se preocupan por darle el medicamento y llevarlo al laboratorio para hacerle su determinación de glucosa y todos los estudios que requieran. Por el contrario, el paciente adulto es el más difícil de tomar el medicamento, y por eso, encontramos que la mucormicosis es más común en el paciente adulto.

La neumocistosis es más frecuente en el paciente pediátrico porque tiene una respuesta inmunológica inmadura y no es capaz de controlar la infección. No se sabe realmente cuál es el hábitat ni la fuente de infección de la neumocistosis. Se ha encontrado que forma parte de la biota normal de muchos adultos sanos; aunque hay reportes de neumocistosis ocasionada por brote en los hospitales. Por biología molecular se ha encontrado que la neumocistosis que tiene la enfermera es el mismo patógeno que tiene el paciente. Anteriormente, se conocía a la neumocistosis como una especie llamada *carini*, que fue el primer nombre que se le dio y se pensaba que existía solamente un tipo; ahora, con las técnicas modernas que tenemos para el estudio de estas infecciones se ha encontrado *Pneumocystis* del humano, que es el *Pneumocystis jiroveci*. Tenemos también neumocistosis que atacan a los primates, los cuales son inofensivos para el

humano. Los ratones y las ratas que tienen neumocistosis no transfieren este patógeno al humano; entonces, son especies específicas de género.

Otro patógeno que se ha aislado es *Fusarium*, aunque son raros los aislamientos que encontramos, cada vez son más frecuentes. Este patógeno, aparte de provocar IFI, puede llegar a ser queratitis o inclusive onicomicosis.

Los factores predisponentes más comunes para desarrollar la infección, es la neutropenia prolongada por más de diez días y menos de 500 neutrófilos/mm³. El uso de antibióticos de amplio espectro por tiempo prolongado es una de las principales causas. Los pacientes oncológicos son pacientes neutropénicos, ellos reciben quimioterapia que está dañando a los neutrófilos, los está destruyendo y eliminando y se le da la oportunidad al patógeno de desarrollarse. Otros de los factores son el uso CVC; NTP, VIH, para el caso de la criptococosis; y, para la diabetes descompensada, la mucormicosis.

En el Laboratorio de Micología se requiere de poco material y de pocos reactivos y que este separado del Laboratorio de Bacteriología. Las muestras biológicas se deben trabajar de manera diferente para el estudio micológico que para el estudio bacteriológico.

¿Con qué se puede medir la calidad de la muestra?, recordemos que estos microorganismos forman parte de la biota normal y, si no tomamos una muestra adecuada, lo que estamos trayendo al laboratorio es la biota. También es importante el tiempo de procesamiento; tenemos que procesar las muestras lo más pronto posible, pues en muchas de estas micosis el tiempo va a ser crucial,

ya que se requieren diagnósticos rápidos para evitar en lo posible que el paciente desarrolle una infección diseminada.

La herramienta esencial, básica y primordial es el examen directo con hidróxido de potasio al 20% (KOH). Para esta prueba requerimos de portaobjetos, cubreobjetos, microscopio. Entonces, el costo del reactivo es prácticamente cero y el tiempo del examen es de cinco a diez minutos antes de entregar el reporte al médico. Este examen directo nos va a dar la pauta de encontrar las formas invasivas. Si el hongo se encuentra como biota normal, no lo vamos a encontrar porque no está formando las estructuras invasivas. Si nosotros nos hiciéramos un examen directo de una secreción de la boca ahora, vamos a ver blastoconidias de *Candida*, de tres o cuatro por campo, nunca vamos a ver forma invasiva ya que ésta se va a presentar cuando el patógeno está causando el daño. En la candidosis vamos a encontrar las blastoconidias y las pseudohifas. La pseudohifa es la parte infectante, aunque *Candida* se está anunciado como patógena también. En cuanto nosotros observamos la formación de la pseudohifa, en ese momento, decimos que *Candida* ya no es biota normal.

Siguiendo con el examen directo, se observan hifas macrosifonadas septada, hialina, en ese momento le reportamos al médico que el paciente tiene una infección fúngica. No podemos decir que se trate de *Aspergillus*, aunque muchas veces, si no se tiene este conocimiento, se le reporta así al médico, quien inicia una terapéutica dirigida para *Aspergillus*. Sin embargo éste no es el único hongo filamentoso que va a dar esta estructura, tenemos, por ejemplo, a *Scedosporium* o a *Fusarium*, que también presenta estas estructuras en el estado

invasivo. Con solo hacer el examen directo, estamos dándole una gran certeza al paciente.

Otro hongo que podemos ver en el examen directo es la hifa macrosifonadas no septada (cenocítica). Cuando se observa esto en el examen directo, entonces el patógeno más común y sin temor a equivocarnos será un mucoral. En cuanto nosotros vemos el examen directo y confirmemos el resultado, en ese momento nos ponemos en contacto con el médico y le informamos.

Un estudio más, es la tinta china. Este también tiene un costo muy bajo y sirve para poner en evidencia la cápsula de *Cryptococcus*, cuando se observa un hongo levaduro-uniforme, no siempre es *Candida*, puede ser *Cryptococcus*. Debemos de poner de manifiesto la presencia de la cápsula con esta tinción negativa que es un fondo oscuro y pone de manifiesto la presencia de cápsula. Sin embargo, es importante recordar que hay cepas que no tienen cápsula, es decir que son acapsulares. En este caso el puro examen directo es de gran utilidad, pero no es lo único que tenemos que hacer. También podemos contar con estudios histopatológicos como la tinción de Metenamina de plata, la tinción de Otoluidina, para *Pneumocystis*, y la tinción de Giemsa. Y, obviamente, los cultivos son esenciales. Cuando tenemos sospecha de una aspergilosis o una neumocistosis, es recomendable tomar tres muestras en diferentes tiempos y la mejor es el lavado broncoalveolar o, en su defecto, un aspirado bronquial. Para la toma de hemocultivos, si el paciente tiene catéter venoso, se debe de tomar de todos los lúmenes; cuando encontramos una infección relacionada a catéter o una fungemia, en ese momento se le reporta al médico.

¿Qué vamos a hacer una vez que ya tenemos desarrollado el microorganismo? Lo tenemos que identificar; así, primero que nada, tenemos que utilizar, si es candidosis, medios cromogénicos, los cuales nos pueden ayudar a identificar si es candidiasis mixta y también son de tamizaje porque nos van a estar orientando y casi diciendo qué especie es la que está involucrada en el padecimiento. Si no lo pudimos identificar así, nos vamos a la identificación de pruebas bioquímicas, que se basan en la fermentación y utilización de carbohidratos. Cuando tenemos el desarrollo de un hongo filamentoso, no existen pruebas bioquímicas, porque estos son metabólicamente muy activos y tienen la capacidad de sintetizar gran cantidad de enzimas, entonces, las pruebas bioquímicas no son útiles, pero contamos con la identificación macro y microscópica. Macroscópicamente vamos a ver la forma de la colonia, el color, la textura, si produce o no pigmentos; y microscópicamente tenemos que ver las estructuras de reproducción, la hifa y las estructuras especializadas. Para eso podemos utilizar la cinta de celulosa, o bien, el microcultivo, para confirmar la especie. Así, el género y la especie los estamos identificando macro y microscópicamente.

También una vez que ya tenemos identificado el microorganismo, debemos hacer el perfil de susceptibilidad. Aquí podemos utilizar el método Kirby Bauer o una microdilución en tubo. Siempre se debe reportar la concentración mínima inhibitoria (MIC) y poner el valor los puntos de corte, para clasificarlo como sensible (S), sensible-intermedio (SI), resistente (R) o dosis dependiente (DD). También se cuenta con búsqueda de antígenos: el mananos, para el caso de

candidiasis invasiva, y el galactomananos, para el caso de AI. Hay otra prueba que es el beta-1,3 d-glucano que identifica a todas las infecciones fúngicas invasivas, aunque ninguna prueba nos dice que el paciente tiene una infección fúngica. Tenemos entonces que hacer también la búsqueda de polisacáridos de *Cryptococcus*, y la inmunofluorescencia para el diagnóstico de *Pneumocystis*.

¿Lo que estamos aislando tiene valor clínico? El médico, debe evaluar los parámetros clínicos y saber si existe realmente una concordancia entre el resultado del laboratorio con la sintomatología que el paciente. La comunicación sirve también para empezar a tomar muestras seriadas y ver la evolución clínica y el monitoreo terapéutico del paciente.

BIBLIOGRAFIA

1. Pappas PG. Invasive candidiasis. Infect Dis Clin North Am. 2006; 20(3):485-506.
2. Pelroth J, Choi B, Spellberg B. Nosocomial fungal infections: epidemiology, diagnosis and treatment. Med Mycol. 2007; 45:321-246.
3. Kollef MH, Napolitano LM, Salomkin JS, Wunderink RG, Bae IG, Fowler VG, et al. Health care-associated infection (HAI): a critical appraisal of the emerging treat-proceeding of the HAI summit. Clin Infect Dis. 2008; 47(2): 55-99.
4. Quindós G. Nosocomial candidemias and invasive candidiasis. Med Clin. 2010; 134(1):17-9.
5. Horn DL, Meofystos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ, et al. Clinical characteristics of 2,019 patients with candidemia: data from the PATH Alliance Registry. Clin Infect Dis. 2009; 48:1695-1703.
6. Neofytos D, Horn D, Anaisse E, Steinback W, Olyaei A, Fishman J, et al. Epidemiology and outcome of invasive fungal infection in adult hematopoietic stem cell transplant recipient: analysis of PATH Alliance Registry. Clin Infect Dis. 2009; 48:265-273.

7. Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Meis JF, Gould IM, et al. 1997-2005: An 8.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* and Other Yeast Species to Fluconazole and Voriconazole by CLSI Standardized Disk Diffusion Testing. *J Clin Microbiol.* 2007; 45(6):1735-1745.
8. Leroy O, Gangneux JP, Montravers P, Mira JP, Gouin F, Sollet JP et al. Epidemiology, management, and risk factors for death of invasive *Candida* infections in critical care: a multicenter, prospective, observational study in France (2005-2006). *Crit Care Med.* 2009; 37:1612-1618.
9. Pappas PG, Rex JH, Lee J, Hamill RJ, Larsen RA, Powderly W, et al. A prospective observational study of candidemia: epidemiology, therapy, and influences on mortality in hospitalized adult and pediatric patient. *Clin Infect Dis.* 2003; 37(5):634-643.
10. Zaoutis TE, Aragon J, Chu J, Berlin JA, Walsh TJ, Feudtner C. The epidemiology and attributable outcomes of candidemia in adults and children hospitalized in united state; a propensity analysis. *Clin Infect Dis.* 2005; 41(9):1232-1239.
11. Patterson T. *Aspergillus species*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Principles and practice of infectious diseases. 7th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2010. p. 3241-3256.
12. Maschmeyer G, Haas A, Cornely OA. Invasive aspergilosis. *Drugs* 2007; 67(11):1567-1701.
13. Verwij PE, Brandt ME. *Aspergillus, Fusarium, and other opportunistic monillaceous* fungi. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA editors. Manual of clinical microbiology, 9th ed. Washington DC, ASM press; 2007. p. 1802-1838.
14. Walsh TJ, Anaissie EJ, Denning DW, Herbrecht R, Kontoyiannis DP, Marr KA, et al. Treatment of Aspergillosis: Clinical Practice Guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *CID* 2008;46:327-360.
15. Patterson TF. Aspergillosis. In: Dismukes WE, Pappas PG, Sobel JD editors. Clinical micology. 1st ed. New York: Oxford University Press; 2003. p. 221-240.
16. Sherif R, Segal BH. Pulmonary aspergilosis: clinical presentation, diagnostic test, management and complications. *Curr Opin Pulm Med* 2010;16:242-250.
17. Barnes PD, Marr KA. Aspergillosis: spectrum of diseases, diagnosis and treatment. *Infect Dis Clin N Am* 2006;20:545-561.
18. Thompson III GR, Patterson TF. Pulmonary Aspergillosis. *Semin Respir Crit Care Med* 2008;29:103-110.

19. Richardson MD, Hope W. *Aspergillus*. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors. *Clinical Microbiology*, 2nd ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2009. p. 271-296.
20. Segal BH. Aspergillosis. *N Engl J Med* 2009;360:1870-84.
21. Richardson M, Koukila-Kähkölä P. *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Absidia*, and other agents of systemic and subcutaneous zygomycoses. En: Murray P, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th Edition, 1. Washington: ASM Press; 2007. p. 1839-56.
22. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schrenckenberger P, et al. Procedimientos de laboratorio para la identificación presuntiva de aislamientos de hongos. En: Koneman EW, editor. *Diagnóstico Microbiológico. Texto y atlas color*. 6ª edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2008. p. 1118-21.
23. Kontoyiannis D. Agents of Mucormycosis and Entomophthoromycosis en: Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases, 7th Edition. Philadelphia:Elsevier, 2010.
24. Richardson M. The ecology of the Zygomycetes and its impact on environmental exposure. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15 (Suppl.5): 2-9.
25. Pongas GN, Lewis RE, Samoni G, Kontoyiannis D. Voriconazole associated zygomycosis: a significant consequence of evolving antifungal prophylaxis and immunosuppression practices? *Clin Microbiol Infect* 2009; 15 (Suppl.5):93-97.
26. Symeonidis A.S. The role of iron and iron chelators in zygomycosis. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15 (Suppl.5): 26-32.
27. Cornely O.A, Vehreschild J.J, Rüping M. Current experience in treating invasive zygomycosis with posaconazole. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15 (Suppl.5): 77-81.
28. Rogers T. Treatment of zygomycosis: current and new options. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61 (Suppl.1):i35-i39.
29. Hiemenz J, Groll A, Walsh T. Infections caused by uncommon fungi in patients undergoing hematopoietic stem cell or solid organ transplantation. In: Raleigh A, Bowden P, Snyderman D. *Transplant Infections* 3th Edition. NY: Lippincott Williams & Wilkins; 2010.
30. Corina E, Gonzalez, Michael G, Rinaldi, Alan M, Sugar. Zygomycosis. *Infect Dis Clin N Am* 16 (2002) 895-914