

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

MUCORMICOSIS EN LA ACTUALIDAD

Trabajo final de graduación sometido a la consideración de la Comisión
del Programa de Posgrado en Especialidades en Microbiología para
optar al grado y título de Especialidad en Micología Médica

JORGE MAURICIO MONTERO GARCÍA

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2024

DEDICATORIA

A cada una de las personas que hicieron posible este logro, a mis profesores, compañeros de especialidad, a mi familia, pero sobre todo a mi esposa y mi hijo Thiago que me apoyaron en cada momento.

AGRADECIMIENTO

Al inmortal, invisible al único y sabio Dios (1 Ti 1:17), gracias por la sabiduría, por las fuerzas de cada día y permitirme alcanzar este título.

A todas aquellas personas que me apoyaron de una u otra manera en este camino de crecimiento personal, académico y profesional. A la Universidad de Costa Rica y al SEP por permitirme ser parte de la comunidad de especialistas en Micología Médica.

A cada uno de mis profesores de la especialidad, a mis compañeros ya que sin ellos hubiera sido más complicado sobrellevar cada curso.

A mi tutora la Dra. Ingrid Salas y mis lectores el Dr. Allan Valverde y a la Dra. Daniela Jaikel

Gracias a mi esposa por su paciencia y comprensión, a mi hijo Thiago por estar siempre a mi lado, gracias a ellos porque son mi gran tesoro. A mi madre por estar siempre dispuesta a escucharme, darme consejos y motivarme a seguir adelante

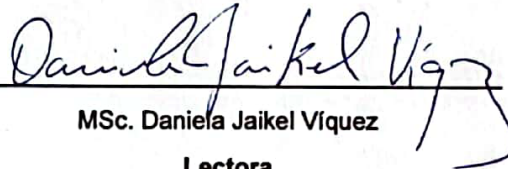
Este trabajo final de graduación fue aceptado por la Comisión del Programa de Posgrado en Especialidades en Microbiología de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Especialidad en Micología Médica.




MSc. Ingrid Salas Campos
Profesora tutora



Esp. Allan Valverde Vindas
Lector



MSc. Daniela Jaikel Víquez
Lectora



Jorge Mauricio Montero García
Sustentante

TABLA DE CONTENIDO

Contenido	
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO	iii
HOJA DE APRBACIÓN.....	iv
TABLA DE CONTENIDO.....	v
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
LISTA DE TABLAS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiv
CAPITULO I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Definición	1
1.2 Sinonimia	2
1.3 Historia.....	3
CAPÍTULO 2. ETIOLOGÍA	4
2.1 Descripción de los agentes etiológicos.....	4
2.1.1 <i>Rhizopus</i>	5
2.1.2 <i>Mucor</i>	7
2.1.3 <i>Lichtheimia</i>	8
2.1.4 <i>Apophysomyces</i>	9
2.1.5 <i>Cunninghamella</i>	10
2.1.6 <i>Saksenaea</i>	11
2.1.7 <i>Rhizomucor</i>	12
2.1.8 <i>Syncephalastrum</i>	13
CAPÍTULO 3. EPIDEMIOLOGÍA	15
3.1 Distribución geográfica y epidemiología	15
3.2 Fuente de infección y vía de entrada.....	19
3.3 Condiciones predisponentes.....	21
3.3.1 Diabetes Mellitus.....	21
3.3.2 Deferoxamina.....	23
3.3.3 Malignidades hematológicas.....	24

3.3.4 COVID-19	26
3.3.5 Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH)	30
3.3.6 Pacientes trasplantados	31
CAPÍTULO 4. PATOGÉNESIS	34
4.1 Historia natural de la enfermedad	34
4.2 Factores de virulencia	36
4.2.1 Absorción de hierro.....	37
4.2.2 Adhesión.....	40
4.2.3 Homólogos de proteínas de la cubierta de esporas (CoH).....	41
4.2.4 Dimorfismo.....	44
4.2.5 Evasión de la respuesta inmune	47
4.2.6 Resistencia a azoles.....	50
CAPÍTULO 5. FORMAS CLÍNICAS DE LA MUCORMICOSIS	53
5.1 Mucormicosis rino-orbita-cerebral (ROCM).....	54
5.2 Mucormicosis pulmonar.....	58
5.3 Mucormicosis cutánea.....	62
5.4 Mucormicosis gastrointestinal.....	67
5.5 Mucormicosis diseminada.....	71
5.6 Presentaciones poco comunes.....	75
CAPÍTULO 6. INMUNOLOGÍA DE LA MUCORMICOSIS	80
6.1 Sistema Inmune Innato.....	80
6.1.1 Barreras primarias: Mucosas y piel.....	81
6.1.2 Receptores de reconocimiento de patrones.....	87
6.1.3 Respuesta de los macrófagos a los Mucorales.....	91
6.1.4 Papel de los neutrófilos	95
6.1.5 Papel de las plaquetas	97
6.1.6 Interacción con las Células Dendríticas.....	100
6.1.7 Papel de las Natural Killer.....	102
6.2 Sistema de complemento.....	105
6.3 Inmunidad adaptativa	109
6.3.1 Papel de los Linfocitos T	109
6.3.2 Papel de los linfocitos B	113
6.4 Citoquinas.....	116

CAPÍTULO 7. DIAGNÓSTICO	118
7.1 Diagnóstico clínico	119
7.2 Diagnósticos de Laboratorio de rutina	120
7.2.1 Microscopía directa e histología	120
7.2.2 Cultivo	123
7.2.3 MALDI-TOF	125
7.3 Radiología.....	129
7.4 Serología	134
7.5 Diagnóstico Molecular	136
CAPÍTULO 8. TRATAMIENTO	144
8.1 Fármacos antifúngicos	144
8.1.1 Monoterapia.....	148
8.1.2 Terapia combinada	150
8.1.3 Terapia de rescate	153
8.2 Cirugía.....	155
8.3 Tratamientos adyuvantes	158
8.3.1 Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos-Macrófagos y Factor estimulante de Colonias de Granulocitos	159
8.3.2 Oxígeno hiperbárico (OHB).....	161
8.3.3 Quelantes de hierro	162
8.4 Direcciones futuras	164
CAPÍTULO 9. CONCLUSIONES	172
10. RECOMENDACIONES	176
11. BIBLIOGRAFÍA	178

RESUMEN

La presente disertación corresponde a una revisión bibliográfica sobre la mucormicosis en la actualidad. Dicha exploración inicia con la descripción de la enfermedad y los agentes causales, así como la sinonimia y la historia de dicho padecimiento.

Adicionalmente, se incluyen temas como la epidemiología y distribución geográfica, así como las vías de entrada y factores predisponentes como la diabetes mellitus y malignidades hematológicas. Se describe la patogénesis, factores de virulencia asociados, las formas clínicas de la enfermedad con sus respectivas manifestaciones, así como la respuesta inmune que se desarrolla en el hospedero.

Por último, se describe lo encontrado en la literatura sobre los tópicos de diagnóstico clínico, radiológico y diagnóstico de laboratorio, además, del tratamiento contra la enfermedad, y las conclusiones del presente trabajo.

Esta exposición procura compilar el conocimiento básico sobre esta micosis y los últimos avances científicos reportados en la literatura en el tema de la mucormicosis y sus agentes etiológicos.

ABSTRACT

This dissertation is a literature review on mucormycosis. This manuscripts begin with the description of the disease and the etiological agents, as well as the synonymy and history of the condition.

In addition, topics such as epidemiology and geographic distribution, as well as routes of entry and predisposing factors such as Diabetes Mellitus and hematological malignancies, are included. The pathogenesis, associated virulence factors, the clinical forms of the disease with their respective manifestations, as well as the immune response that develops in the host are described.

Finally, the findings in the literature on the topics of clinical, radiological and laboratory diagnosis, as well as the treatment of the disease, and the conclusions of this work are presented.

This work seeks to compile the basic knowledge about this mycosis and the latest scientific advances reported in the literature on the subject of mucormycosis and its etiological agents.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Lista de las especies/grupos de Mucorales de la Fungi IVD Library Versión 2022 que forma parte del MBT HT Filamentous Módulo IVD Fungi.....	125
Tabla 2. Base de datos del Vitek MS Prime: Base de datos clínica.....	125
Tabla 3. Base de datos del Vitek MS Prime: Base de Datos de investigación RUO.....	126
Tabla 4. Terapia antifúngica de rescate recomendada en casos de mucormicosis.....	151
Tabla 5. Actividad in vitro de nuevos agentes antifúngicos frente a los patógenos fúngicos.....	165

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 <i>Rhizopus</i> spp.	5
Figura 2 Características morfológicas de <i>Rhizopus</i> spp.....	6
Figura 3 Rizoides de <i>Rhizopus</i> spp.....	6
Figura 4 Características morfológicas de <i>Mucor</i> spp.....	7
Figura 5 Características morfológicas de <i>Lichtheimia</i> spp.....	9
Figura 6 Características morfológicas de <i>Apophysomyces</i> spp.....	10
Figura 7 Características morfológicas de <i>Cunninghamella</i> spp.....	11
Figura 8 Características morfológicas de <i>Saksenaia</i> spp.....	12
Figura 9 Características morfológicas de <i>Syncephalastrum</i> sp.....	14
Figura 10 Porcentaje de casos de mucormicosis documentados por cultivo desde la década de los 40s.	15
Figura 11 Distribución mundial de la mucormicosis (reporte de casos por millón de habitantes).....	16
Figura 12 Mortalidad de la mucormicosis desde 1940.....	18
Figura 13 La patogenia de la mucormicosis asociada a la COVID-19.....	26
Figura 14 Mecanismo propuesto de <i>R. arrizus</i> para la absorción de hierro de ferrioxamina.....	39
Figura 15 Eventos postulados que conducen a la adhesión e invasión y a la muerte de la célula huésped.....	41
Figura 16 Las proteínas CotH en la superficie fúngica promueve la angiоinvasión.	42
Figura 17 Interacción de los Mucorales con las células endoteliales durante la diseminación.....	43
Figura 18 La interacción de la calcineurina, la proteína quinasa A (PKA) y los sistemas de captación de hierro en el dimorfismo y la virulencia de <i>Mucor circinelloides</i>	45

Figura 19 Mecanismos de patogénesis implicados en la mucormicosis.....	46
Figura 20 Mecanismos de <i>Mucor circinelloides</i> para escapar de la actividad fungistática de los macrófagos.....	48
Figura 21 Formas clínicas de la mucormicosis reportadas en diferentes estudios.....	54
Figura 22 Mucormicosis cutánea y rinocerebral.....	57
Figura 23 Hallazgos de la tomografía computarizada de tórax de la mucormicosis pulmonar.....	60
Figura 24 Distribución geográfica de los Mucorales causantes de mucormicosis cutánea.....	64
Figura 25 Sitio anatómico de la infección en Mucormicosis cutánea.....	66
Figura 26 Género causante de las distintas manifestaciones de la mucormicosis.....	69
Figura 27. Mecanismo propuesto de susceptibilidad del huésped cetoacidótico a la mucormicosis.....	84
Figura 28. Fisiopatología de la mucormicosis.....	87
Figura 29. Reconocimiento de PAMPs fúngicos por PRR del huésped.....	89
Figura 30. Germinación de esporas y crecimiento filamentoso de <i>Rhizopus microsporus</i>	92
Figura 31. Respuesta inmunitaria en etapa de desarrollo de las esporas de los Mucorales.....	94
Figura 32. Actividad plaquetaria contra las hifas y conidios de los Mucorales.....	99
Figura 33. Reconocimiento de las hifas Mucorales por las células dendríticas.....	101
Figura 34. Interacción de las células NK y los patógenos fúngicos.....	103
Figura 35. Las plaquetas complementan la respuesta del complemento, uniendo los TLR y el complemento.....	107
Figura 36. Diferenciación de subconjuntos células T colaboradoras.....	110
Figura 37. Respuesta inmunitaria a los patógenos fúngicos.....	115
Figura 38. Perfil de citocinas y quimiocinas producidos durante la infección fúngica por Mucorales.....	117
Figura 39. Morfología de las hifas en mucormicosis y aspergilosis.....	121
Figura 40. Signos imagenológicos que pueden sugerir mucormicosis pulmonar.....	131

Figura 41. Tomografía computarizada y resonancia magnética de un paciente con ROCM.....	133
Figura 42. Ubicación del gen rnl en el genoma mitocondrial de <i>R. arrhizus</i>	139
Figura 43. Mecanismo acción anfotericina B.....	146
Figura 44. Mecanismo de acción del Posaconazol.....	147
Figura 45. Dianas farmacológicas y mecanismos de acción.....	151
Figura 46. Tratamiento óptimo para la mucormicosis en adultos.....	152
Figura 47. Respuestas provocadas por el GM-CSF en las células inmunitarias.....	160
Figura 48. Esquema para el tratamiento de la mucormicosis.....	164
Figura 49. El mecanismo de acción de la manogepix.....	165

LISTA DE ABREVIATURAS

Ácido peryódico-Schiff (PAS)
Acuaporina (aqp1)
AMP cíclico (AMPC)
Amplificación de la polimerasa recombinasa (RPA)
Anfotericina B (AmB)
anfotericina B desoxicolato (AmB-D)
Anfotericina B encocleado (CAmB)
Anfotericina B liposomal (AmB-L)
Anticuerpos monoclonales (mAb)
Antígeno polisacárido extracelular (EPS)
ARN de interferencia (ARNi)
Aspergilosis pulmonar invasiva (API).
Cadena de la polimerasa (PCR)
Células asesinas naturales (NK)
Células dendríticas (CD)
Células dendríticas derivadas de monocitos (CDmo)
Células presentadoras de antígenos (APC)
Células T auxiliares (helper) o (Th)
Celulitis orbitaria bacteriana (COB)
Cetoacidosis diabética (CAD)
Citocromo P450 (CYP)
Citopatología líquida (CPL)
Citopatológica convencional (CCP)
complejo de ataque a la membrana (MAC)
Complejo lipídico de anfotericina B (ABLC)
Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC)
Concentración mínima efectiva (MEC)
Concentración Mínima Inhibitoria (MIC)

Desorción/ionización láser asistida por matriz, tiempo de vuelo (MALDI-TOF, por sus siglas en inglés Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization, Time-Of-Flight)

Diabetes mellitus (DM)

Enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2)

Espaciador interno transcrito (ITS)

Especies reactivas de nitrógeno (RNS)

Especies reactivas del oxígeno (ROS)

Espectrometría de masas (MS)

Examen histopatológico (EH)

Factor de Crecimiento de Fibroblastos (FGF) -2

Factor de crecimiento epidérmico (EGF)

Factor de crecimiento transformante alfa (TGF alfa)

Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)

Factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF)

Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF)

Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos humanos recombinantes (rhu GM-CSF)

Factor nuclear- κ B (NF- κ B)

Fosmanogepix (FMGX)

Glicofosfatidilinositol (GPI)

Hematológicas malignas (HM)

Hematoxilina-Eosina (HE)

Hidróxido de potasio (KOH)

Homólogos de proteína de la cubierta de esporas (CotH)

Infecciones fúngicas invasivas (IFI)

Interferón gama (INF- γ)

Interleucina (IL)

Isotiocianato de fluoresceína (FITC)

Lactato deshidrogenasa (LDH)

Lanosterol 14 α -desmetilasa (LDM)

Lavado broncoalveolar (BAL)

Lectina de unión al manano (MBL)
Leucemia linfoblástica aguda (LLA)
Leucemia mielocítica aguda (LMA)
Ligando 5 de la quimiocina CC (CCL-5)
Manogepix (MGX)
Metenamina-plata de Grocott (GMS)
Mucormicosis asociados a esa enfermedad (CAM, por sus siglas en inglés COVID-19 Associated Mucormycosis)
Mucormicosis cutánea (MC)
Mucormicosis gastrointestinal (MGI)
Mucormicosis invasiva (MI)
Mucormicosis pulmonar (MP)
Mucormicosis rino-orbito-cerebral (ROCM),
Nanopartículas de plata biosintetizadas (AgNPs)
Neutrófilos polimorfonucleares (PMN),
Oxígeno hiperbárico (OHB)
Patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP)
Patrones moleculares asociados al daño (DAMP).
Péptidos catiónicos de neutrófilos (NP)
Permeasa de hierro de alta afinidad (TFR1)
Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP)
Proteína 78 regulada por glucosa (GRP78)
Proteína quinasa A (PKA)
Proteínas reguladas por glucosa de superficie (GRP78)
Receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR)
Receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR)
Receptores de lectina tipo C (CLR)
Receptores de reconocimiento de patrones (PRR)
Receptores similares a NOD (NLR)
Receptores tipo Toll (TLR)

Resonancia magnética (RM)
SARS (síndrome respiratorio agudo grave)
SARS-CoV-2 (coronavirus 2 del SARS)
Tomografía computarizada (TC)
Tomografía computarizada (TC)
Unidad de Cuidados Intensivos (UCI)
Valores de corte epidemiológico (ECV)
Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)
 β -hidroxibutirato (BHB)

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

La mucormicosis es una infección fúngica invasora emergente con una alta tasa de mortalidad, causada por hongos filamentosos ubicuos pertenecientes al orden de los Mucorales. La incidencia reportada de mucormicosis ha aumentado a lo largo de los años, presumiblemente debido a un aumento de la población en riesgo y a la mejora de las herramientas diagnósticas (1).

Debido a la baja frecuencia de la enfermedad, es casi imposible realizar ensayos clínicos aleatorizados a gran escala; la mayoría de los datos disponibles sobre epidemiología, diagnóstico y tratamiento se originan en informes de casos y series de casos (2).

Los hongos Mucorales son ubicuos y morfológicamente aparecen como micelio ancho, sin septos o escasamente septado en forma de cinta. Once géneros y cerca de 27 especies de Mucorales están asociados con infecciones humanas. *Rhizopus arrhizus* es el agente causante más común de mucormicosis en todo el mundo, seguido de las especies *Lichtheimia* spp. (*Absidia*), *Apophysomyces* spp., *Rhizomucor* spp., *Mucor* spp. y *Cunninghamella* spp. (3).

En la pandemia ocasionada por el COVID-19, se observó un incremento de casos de mucormicosis asociados a esa enfermedad (CAM, por sus siglas en inglés COVID-19 *Associated Mucormycosis*), principalmente en individuos que presentaban diabetes mellitus (DM), cetoacidosis diabética o tratamiento con esteroides. A nivel global, el mayor número de casos notificados fue en India con alrededor de 4,000 casos con CAM (4).

En los siguientes apartados, se detallará la definición de la mucormicosis, la sinonimia de la enfermedad y se sintetizará prestamente los aspectos históricos sobre la descripción inicial de la enfermedad y sus agentes etiológicos, así como los primeros trabajos científicos al respecto.

1.1 Definición

La mucormicosis es una infección causada por un grupo de mohos filamentosos no septados del orden Mucorales (5).

En los países desarrollados, la mucormicosis se presenta principalmente en huéspedes gravemente inmunocomprometidos (por ejemplo, aquellos con neoplasias hematológicas malignas, trasplante de órganos, neutropenia, trastornos autoinmunitarios u otras

alteraciones de la inmunidad) (5), mientras que en los países en desarrollo la enfermedad subyacente es la diabetes mellitus no controlada (2). A lo largo de los años, la incidencia reportada de la mucormicosis ha aumentado, presumiblemente debido a un aumento de la población en riesgo y a la mejora de las herramientas diagnósticas (1).

Dependiendo de la presentación clínica, la mucormicosis se clasifica en rino-orbito-cerebral, pulmonar, cutánea, gastrointestinal, diseminada u otras, que incluye formas raras poco frecuentes, como endocarditis, osteomielitis, peritonitis, renal, entre otros (6). La enfermedad se caracteriza por una vasculitis necrotizante extensa, que provoca trombosis y posterior infarto tisular. La infección es el resultado de la inhalación de esporangiosporas, la inoculación en heridas o la ingestión. La angioinvasión posterior por hifas comienza con una interacción específica con las células endoteliales y puede dar lugar a una diseminación sistémica de la enfermedad (1). Esta infección micótica está asociada a una alta morbilidad y mortalidad (3).

1.2 Sinonimia

En 1956, Emmons creó el término de ficomicosis para las enfermedades ocasionadas por hongos tradicionalmente colocados en la clase Phycomycetes, e incluía infecciones por Mucorales y entomophthorales (7). Sin embargo, en 1957 Baker retomó el término mucormicosis (8).

El término zigomicosis se utilizaba para referirse a infecciones causadas por hongos pertenecientes al filo Zygomycota, clase Zygomycetes, órdenes Mucorales y Entomophthorales (9). Sin embargo, debido a una clasificación en el 2007 la clase Zygomycetes fue abolida, y la zigomicosis ahora se atribuye principalmente al orden Mucorales, clase Mucoromycetes del subfilo Mucoromycotina, filo Mucoromycota, sub reino Mucoromyceta (10,11). Por lo tanto, el término conocido anteriormente como zigomicosis, se utiliza actualmente como mucormicosis para las infecciones oportunistas causadas por el orden Mucorales (12).

Otros sinónimos que se han usado son: hifomicosis, rinoficomicosis, micosis *destruens* (13).

1.3 Historia

En 1791, Plaignaud reportó el primer caso de una posible sinusitis fúngica en un soldado de 22 años de edad con dolor maxilar y con un tumor fúngico que había sido curado con cauterización(14) .

Kurchenmeister comunicó un caso de mucormicosis en 1855, en un paciente con cáncer pulmonar. Dibujó en su descripción las hifas cenocíticas y los esporangios del hongo, al cual llamó *Mucor* (7).

En 1885 Paltauf publicó un caso de mucormicosis en humanos, se trataba de un paciente masculino de 52 años de edad, el cual falleció por una infección diseminada a cerebro, pulmones, intestinos, faringe y laringe (15). Este mismo autor empleó el término micosis mucorina (16).

Mucor pusillus y *Mucor racemosus* fueron descritos en seres humanos y en animales en 1886 por Lindt, mientras que en 1895 Herla aisló un *Mucor* sp. en una caverna pulmonar de una mujer con cáncer hepático (17).

El primer caso de mucormicosis pulmonar de Estados Unidos fue publicado en 1948 por Baker y Severance, mientras que entre 1946 y 1948 se reconocieron cinco casos (sin publicar) en Carolina del Norte y Carolina del Sur. Un segundo caso fue reportado en 1949 por Lloyd, Sexton y Hertig en una mujer con características clínicas de diabetes, mientras que un tercer caso se reportó en 1954 por Martin en un bebé con la presentación intraorbitaria y meníngea con trombosis bilateral de las arterias carótidas (18).

Con el descubrimiento de la Anfotericina B, en 1958 Chick, Evans y Baker pudieron demostrar la efectividad de ese antifúngico como tratamiento contra la mucormicosis (19).

Vignale presentó en 1964 el primer caso de mucormicosis crónica en una mujer de 39 años de edad, con historia clínica de 24 años de destrucción lenta y progresiva de tejidos blandos de la nariz, labios y paladar causada por *Mucor ramosissimus* (20).

CAPÍTULO 2. ETIOLOGÍA

2.1 Descripción de los agentes etiológicos

Mucoromycotina constituye un gran grupo de hongos, cuyo hábitat principal es el suelo (12). Los agentes etiológicos de la mucormicosis son hongos pertenecientes al orden Mucorales, el cual comprende 261 especies en 55 géneros, de los cuales 38 han sido asociados con infecciones en humanos (6). Las especies *Rhizopus*, *Mucor* y *Lichtheimia (Absidia)* son los miembros más comunes del orden Mucorales que causan mucormicosis, representando más del 90 % de todos los casos (21). La especie más común a nivel mundial es *R. arrhizus* (6), mientras que, *Cunninghamella*, *Apophysomyces*, *Saksenaea*, *Rhizomucor*, *Cokeromyces*, *Actinomucor* y *Syncephalastrum* individualmente son responsables de menos del 1 al 5 % de los casos notificados de mucormicosis (22).

Los Mucorales se reproducen tanto sexual como asexualmente (23). En su forma asexual producen esporas unicelulares de forma endógena conocidas como esporangiosporas las cuales se dispersan y en condiciones especiales germinan para producir un complejo micelial (23,24). Estas esporas están dentro de células especializadas las cuales se nombran de acuerdo a su forma y el número de esporas que contienen. Los esporangios son estructuras globosas que contienen una cantidad incontable de esporangiosporas, los merosporangios son de forma alargada y tienen de una a un número contable de esporas (24), mientras que los esporangiolos como los que presenta *Cunninghamella* spp. son células globosas que tienen de una a un número contable de esporangiosporas (25).

La mayoría de los Mucorales patógenos son heterotálicos, y en su desarrollo sexual, las hifas de los dos tipos diferentes de apareamiento [(-) y (+)] se censan entre sí llegando a fusionarse para formar las zigosporas, que luego germinan para formar un esporangio en el ápice que culmina en meiosporas sexuales (23).

Los Mucorales se caracterizan por la formación de hifas hialinas, anchas ([5 – 25] um de diámetro) (26) semejantes a una cinta, no septadas (cenocíticas) o espaciadamente septadas, con ramificaciones en ángulos de 90 °, aproximadamente (25). Dichos septos se forman para delimitar estructuras reproductivas o partes hinchadas; además, durante la infección, estos hongos pueden producir septos, pero a distancias irregulares a diferencia de los ascomicetes (27).

Algunas de las siguientes características permiten distinguir fácilmente a estos hongos:

- Los Mucorales se reconocen fácilmente en los medios de cultivo ya que presentan colonias grisáceas, que llenan rápidamente las placas de Petri.

La diferenciación de varios géneros se basa en:

- La presencia (o ausencia) y localización de rizoides, que son como raíces a lo largo de las hifas vegetativas.
- La ramificación de los esporangióforos (tallos que llevan los esporangios en forma de saco)
- La forma de la columella que es un área pequeña en forma de cúpula ubicada en el ápice del esporangióforo.
- La apariencia de la apófisis que es un ensanchamiento cerca del vértice del esporangióforo, justo por debajo de la columella
- El tamaño y la forma del esporangio (26)

2.1.1 *Rhizopus*.

Este hongo se caracteriza por tener hifas gruesas sin septos, abundantes rizoides (figura 3), columella ovoide y un esporangio grande (figuras 1 y 2) de (100 a 200) μm (28). *Rhizopus* spp. junto con *Rhizomucor* spp. se han relacionado con infecciones cuya vía de entrada o modo de transmisión es principalmente aérea y esto se podría explicar por las características de sus esporangios los cuales son secos sobre esporangióforos largos y delgados adaptados para liberar esporas en el aire (29). *Rhizopus* spp. y *Lichtheimia* spp. pueden crecer a 37 °C (30).

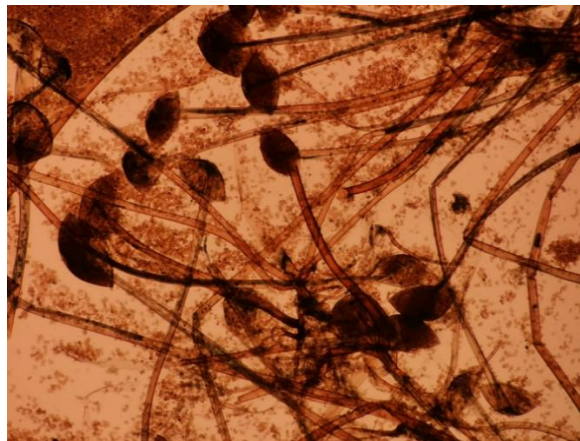


Figura 1. Características morfológicas de *Rhizopus* spp. En la fotografía se observa el esporangióforo de *Rhizopus* sp. en un montaje de lactofenol claro en microscopía de luz a 10X. El esporangióforo, las esporangiosporas y el esporangio son señalados por flechas. Fuente: Elaboración propia.

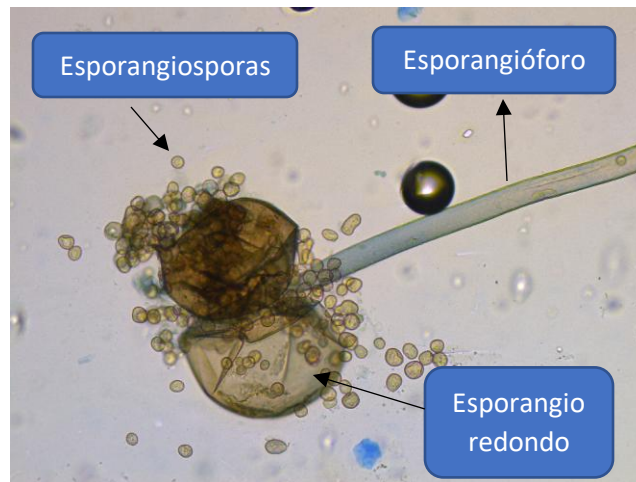


Figura 2. Características morfológicas de *Rhizopus* spp. En la fotografía se observa el esporangióforo de *Rhizopus* sp. en un montaje de azul de lactofenol en microscopía de luz a 20X. El esporangióforo, las esporangiosporas y el esporangio son señalados por flechas. Fuente: Elaboración propia.



Figura 3. Rizoides de *Rhizopus* spp. En la fotografía se observan los rizoides de *Rhizopus* sp. en un montaje de azul de lactofenol en microscopía de luz a 20X Fuente: Elaboración propia.

La forma micelial crece rápidamente, madura en cinco días llegando a cubrir la placa de Petri velozmente. Las especies patógenas crecen bien a 37 °C, mientras que su crecimiento es inhibido por la cicloheximida. En el anverso, las colonias se observan algodonosas de color blanco inicialmente, luego pueden variar de gris a marrón amarillento, mientras que

en el reverso tienen tonos blancos a pálidos de gris o café (26). Las especies oportunistas más reportadas son *R. arrhizus*, *Rhizopus microsporus var. rhizopodiformis* y *Rhizopus stolonifer* (13) mientras que *Rhizopus homothalicus* considerado un mucoral raro es una especie emergente causante de mucormicosis (3,6).

2.1.2 *Mucor*.

Se caracteriza por poseer hifas gruesas sin septos, no presenta rizoides, la columella es ovoide y el esporangio es pequeño ([20 – 80] μM de diámetro) (figura 4) (28). Las especies de *Mucor* se caracterizan por la formación de esporangios no apofisados en esporangióforos simples o ramificados, y por zigosporas que nacen de suspensores opuestos o en forma de pinza (31). *Mucor* spp. junto con *Lichtheimia* spp. infectan a los huéspedes principalmente por contacto y al igual que *Rhizopus* spp., esto se podría explicar por las características de su esporangio, ya que generan esporangios húmedos que liberan las esporas en pequeñas gotas cuando varios esporangios se adhieren entre sí. No obstante, la masa seca de esporas también puede dispersarse por el aire utilizando la vía aérea como una forma secundaria de infección (32). Estas consideraciones podrían explicar la prevalencia de las especies *Mucor* y *Lichtheimia* en heridas por quemaduras infectadas y traumatismos, generalmente causadas por contacto con el suelo o superficies contaminadas (29). Se considera que las especies de *Mucor* son generalmente mesófilas (33).

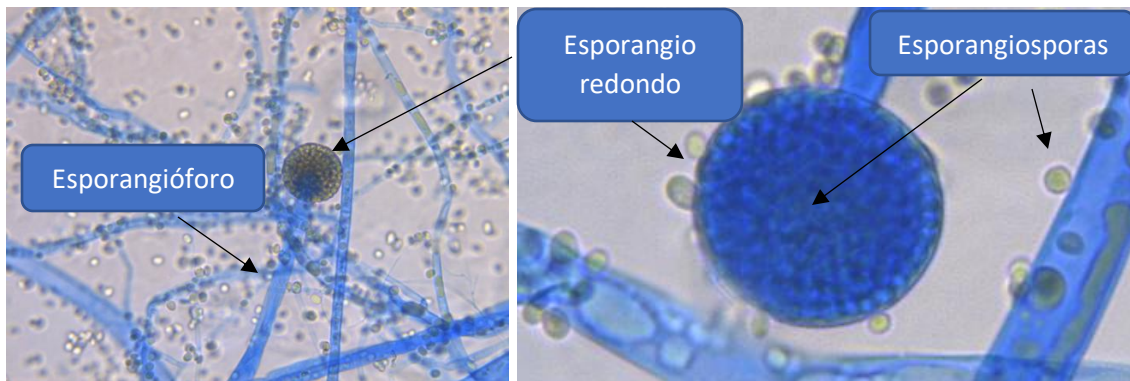


Figura 4. Características morfológicas de *Mucor* spp. En la fotografía se observa el esporangióforo de *Mucor* sp. en un montaje de azul de lactofenol en microscopía de luz a 10x y 40X. El esporangióforo, esporangio y las esporangiosporas son señalados por flechas. Fuente: Elaboración propia.

Las principales especies de *Mucor* implicadas en las mucormicosis son *Mucor circinelloides* y *Mucor ramosissimus* (13). Mientras que *Mucor irregularis* es una especie emergente (2,3), *Mucor rouxii* y *Mucor racemosus* presentan dimorfismo dependiente de la concentración de dióxido de carbono y algunas sustancias hormonales (13).

Las especies de *Mucor* se caracterizan por crecer rápidamente y llenar la placa de Petri en cinco días, el crecimiento es inhibido por cicloheximida y algunas especies no crecen bien a 37 °C. Las colonias son algodonosas, color blanco inicialmente, tornándose grises y marrón amarillento con el paso de los días; el reverso es color blanco. Así mismo, estos hongos pueden presentar clamidosporas y algunas veces se observa un collarete en la base del esporangio. El esporangióforo es largo, puede presentar ramificaciones con un esporangio redondo al final lleno de esporangiosporas de (4-8) μM de diámetro (34). Las hifas son anchas ([6-11] μM) y pauciseptadas (26).

2.1.3 *Lichtheimia*.

Este hongo posee hifas anchas sin septos ([6-15] μM de diámetro), escasos rizoides pequeños, columella piriforme en forma de “pera” y un esporangio pequeño de 10 a 70 μM de diámetro (28), con esporangiosporas redondas de (2-4) μM , los esporangióforos pueden ramificarse desarrollándose a cierta distancia de los rizoides, la apófisis es característica y se ubica al terminar el esporangióforo (figura 5) (13). Posee la característica de ser termotolerante y puede crecer a 37 °C, además, al poseer esporangios húmedos, éstos liberan sus esporas en pequeñas gotas, por lo que se cree que la vía de infección es por medio del contacto, sin embargo, también se puede transmitir vía aérea (29). La especie oportunista más común del género *Lichtheimia* es *Lichtheimia corymbifera* (*Absidia corymbifera*), que junto con *R. arrhizus* son las especies predominantes en *Europa* (3).

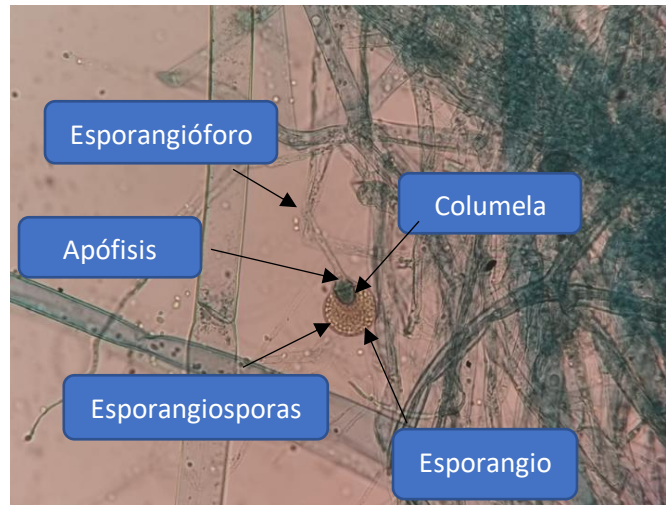


Figura 5. Características morfológicas de *Lichtheimia* spp. En la fotografía se observa el esporangiόforo de *Lichtheimia* sp. en un montaje de azul de lactofenol en microscopía de luz a 10x. El esporangiόforo, esporangio, la apόfisis, la columela y las esporangiosporas son señalados por flechas. Fuente: Elaboración propia.

El crecimiento de este hongo es rápido, es inhibido por la cicloheximida y la temperatura máxima de crecimiento es de (45-50) °C. Las colonias son algodonosas de color gris con el reverso de color blanco (26).

2.1.4 *Apophysomyces*.

El género *Apophysomyces* spp., se está reportando cada vez más como causa de mucormicosis en pacientes inmunocompetentes, ocupando el segundo lugar después de *Rhizopus* spp. entre los Mucorales causantes de mucormicosis en la India (35). El complejo *Apophysomyces* se compone de múltiples especies crípticas, de las cuales *Apophysomyces variabilis* es responsable de la mayoría de las infecciones humanas en la India (36). A diferencia de otros Mucorales que afectan huéspedes inmunodeprimidos, *A. variabilis* afecta predominantemente a individuos inmunocompetentes, sin comorbilidades subyacentes (37). Sin embargo, *Apophysomyces elegans* es la especie más reportada (13).

Este hongo presenta micelio delgado ([4-8] μM), sin septos, (13,26,28) con esporangiόforos largos (540 μM) (26). Presenta un esporangio piriforme con una columella semicircular (26,38) y apόfisis en forma de embudo (13), las esporangiosporas son lisas y ovaladas y los rizoides pueden ubicarse en el estolón (figura 6) (26).

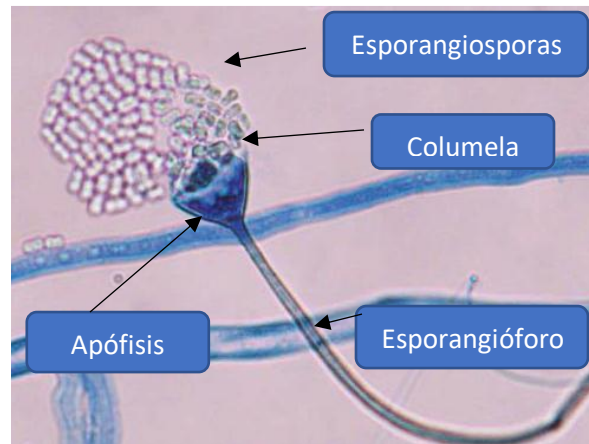


Figura 6. Características morfológicas de *Apophysomyces* spp. En la fotografía se observa el esporangióforo de *Apophysomyces* sp. en un montaje de azul de lactofenol en microscopía de luz a 10x. El esporangióforo, la columela, la apófisis y las esporangiosporas son señalados por flechas. Fuente: Imagen tomada y modificada de (13).

El crecimiento es rápido, llenando la placa de Petri en cuatro días, las colonias son algodonosas de color blanco al inicio, las cuales se tornan con de crema a amarillas o grisáceas con el tiempo (38). El reverso de la placa se observa blanco o amarillo pálido. Este hongo puede crecer a 42 °C y a diferencia de los otros Mucorales no se ve inhibido por la cicloheximida (26,38).

2.1.5 *Cunninghamella*.

Al día de hoy, 15 especies y tres variedades de *Cunninghamella* han sido descritas, de esas especies *Cunninghamella bertholletiae*, *Cunninghamella blakesleeana*, *C. equinulata* y *Cunninghamella elegans*, se han reportado en casos en seres humanos, principalmente en pacientes con malignidades hematológicas y trasplantados con células madre (39). Generalmente, las infecciones de este hongo afectan pacientes inmunosupresos (40), sin embargo, *C. bertholletiae* es la única especie de este género que se ha relacionado con pacientes inmunocompetentes y recientemente a *Cunninghamella arunaloeki* causando mucormicosis invasiva granulomatosa (39).

Las colonias de este hongo se caracterizan por ser de crecimiento rápido, de color blanco o gris por el anverso (38) y blanco por el reverso, pueden crecer a 40 – 45 °C (26). El tipo de micelio es cenocítico, hialino, entre (3-7) μ M de diámetro (13). Los esporangióforos son largos rectos y ramificados que terminan en esporangiolos (vesículas globosas) que pueden ser lisos o equinulados que contienen esporangiosporas redondas u ovoides (figura 7)

(13,26,38). Los rizoides pueden ser vistos y este género puede presentar clamidosporas y zigosporas (26,38).

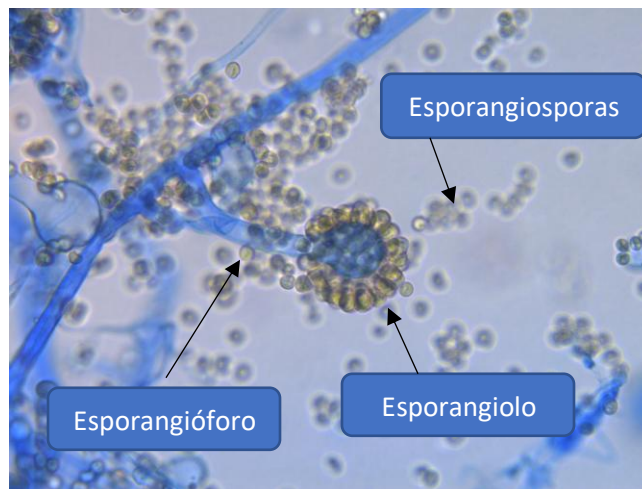


Figura 7. Características morfológicas de *Cunninghamella* spp. En la fotografía se observa el esporangioforo de *Cunninghamella* sp. en un montaje de azul de lactofenol en microscopía de luz a 40 X. El esporangioforo, esporangio y las esporangiosporas son señalados por flechas. Fuente: Elaboración propia.

2.1.6 *Saksenaea*.

Las especies de *Saksenaea* son causas poco comunes de mucormicosis, pero son patógenos emergentes asociados principalmente con traumatismos y contaminación del suelo, a menudo en huéspedes inmunocompetentes (22). *Saksenaea* se describió por primera vez en 1953 (como *Saksenaea vasiformis*) del suelo de la India y desde entonces se ha informado cada vez más en enfermedades humanas que causan un espectro diverso de enfermedades clínicas (41).

De este género se han descrito especies que incluyen *S. vasiformis*, *Saksenaea erythrospora*, *Saksenaea oblongispora*, *Saksenaea loutrophoriformis*, *Saksenaea trapezispora* y *Saksenaea dorisiae*. La falta de esporulación durante el crecimiento en el laboratorio ocasiona que se reporte raramente y que no se pueden realizar pruebas de sensibilidad a los antifúngicos (42).

Este hongo se caracteriza por producir colonias de color blanco, algodonosa y pigmento blanco en el reverso (26,38). La temperatura de máximo crecimiento es de 44 °C y no esporula bien en medios convencionales, observándose únicamente micelio hialino, cenocítico (26). El tallo del esporangioforo es corto ([26-64] μM), soportando un esporangio en forma de vasija de (50-150) μM (figura 8). Las esporangiosporas son elongadas de (3-

4) μM de largo (34). Los rizoides se forman cerca de la base del esporangióforo, oscureciéndose con el tiempo (26).

Como se mencionó anteriormente, la identificación es difícil ya que no esporula en medios convencionales como agar Sabouraud, el agar papa dextrosa o agar harina de maíz (38). La esporulación puede ocurrir después de siete días incubando el medio Czapek a 37°C (26), o agar agua (34).

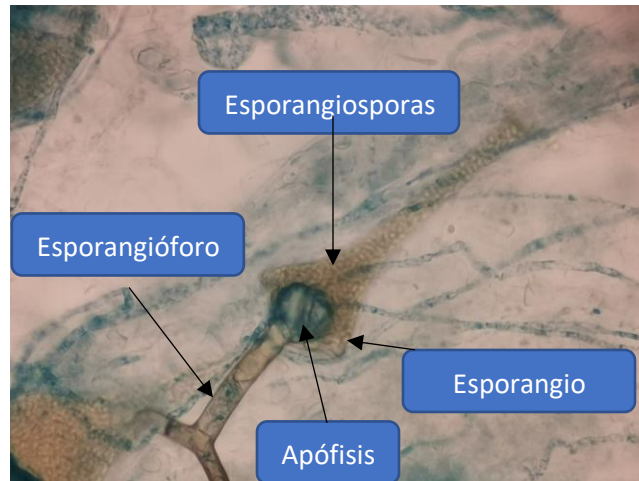


Figura 8. Características morfológicas de *Saksenaea* spp. En la fotografía se observa el esporangióforo de *Saksenaea* sp. en un montaje de azul de lactofenol en microscopía de luz a 10 X. El esporangióforo, esporangio, la apófisis y las esporangiosporas son señalados por flechas. Fuente: Elaboración propia.

2.1.7 *Rhizomucor*.

Rhizomucor spp. son Mucorales que pueden producir infecciones oportunistas mortales en pacientes inmunocomprometidos (43). Las infecciones por *Rhizomucor* spp. son raras en humanos, pero en su mayoría son causadas por *Rhizomucor pusillus* (44), con una mortalidad que puede llegar al 90 % (45). Otras especies como *Rhizomucor miehei* se ha descrito como un causante de casos de mucormicosis pulmonar (46) y endocarditis (47).

Este hongo presenta características similares a *Mucor* spp. (13), de ahí que originalmente se describió como *Mucor* (38). Sin embargo, *Rhizomucor* spp. presentan rizoides pequeños, poco desarrollados y un esporangio que mide entre (60-100) μM , diferenciándose de *Mucor* spp. el cual no presenta rizoides. La columella es oval o piriforme, con esporangiosporas hialinas y globosas, además, puede haber zigosporas (38). Se diferencia de *Rhizopus* spp. por tener esporangióforos ramificados y rizoides pobremente desarrollados que pueden estar en la base del esporangióforo o en puntos entre los esporangióforos (26,34).

El crecimiento es rápido, el cual es inhibido por la cicloheximida. Las especies *R. pusillus* y *R. miehei* son termófilos llegando a crecer a temperaturas de (54-58) °C, mientras que *Rhizomucor variabilis* tiene una temperatura máxima de 38 °C. Las colonias son algodonosas de color gris al inicio, tornándose café oscuro con el tiempo, con el reverso blanco (26).

2.1.8 *Syncephalastrum*.

Las especies de *Syncephalastrum* son hongos saprófitos ubicuos de baja patogenicidad (48), se han encontrado en el ambiente y suelos tropicales, considerándose colonizadores y raramente ocasionan infecciones en humanos (49). Este género tenía inicialmente dos especies: *Syncephalastrum racemosum*, *Syncephalastrum monosporum* (compuesto por tres variedades: *Syncephalastrum monosporum* var. *monosporum*, *S. monosporum* var. *cristatum*, *S. monosporum* var. *pluriproliferum*), sin embargo, recientemente, el género se ha actualizado con otras seis especies, a saber, *Syncephalastrum contaminatum*, *Syncephalastrum verruculosum*, *Syncephalastrum breviphorum*, *Syncephalastrum elongatum*, *S. simplex* y *Syncephalastrum sympodiale* (50,51), siendo *S. racemosum* la especie más reportada de este género como patógeno. Al igual que el resto de los mucormicetes los casos han sido reportados en pacientes inmunosupresos, con malignidades, diabéticos y con uso prolongado de esteroides (52).

Este hongo presenta colonias de color blanco o gris de rápido crecimiento madurando a los tres días, el reverso es de color blanco (26,38). El micelio es hialino, no septado, aunque puede haber septos con el paso del tiempo, los rizoides pueden estar presentes (13,26,34). Los esporangióforos son cortos los cuales terminan en una vesícula de (20-30) µM de diámetro de donde nacen los merosporangios y las merosporangiosporas en cadenas que dan apariencia de una cabeza aspergilar (figura 9) (13,26,34,38).

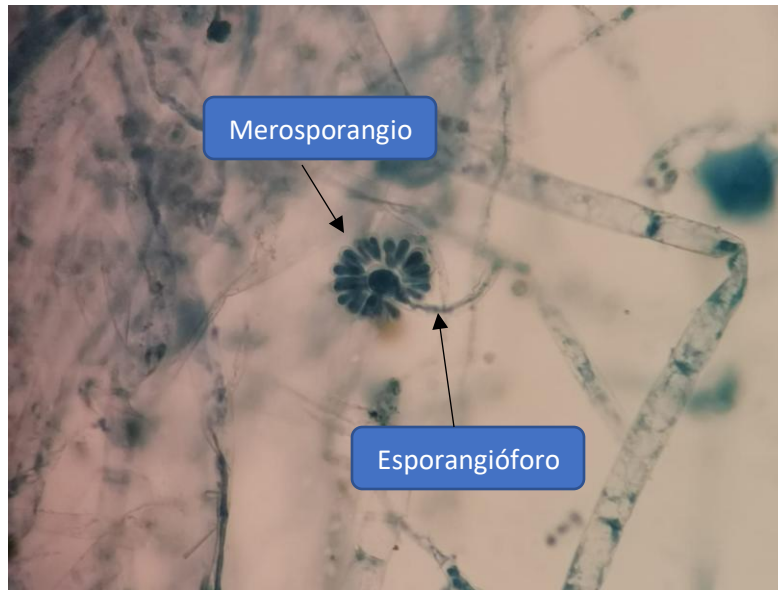


Figura 9. Características morfológicas de *Syncephalastrum sp.* En la fotografía se observa el esporangióforo de *Syncephalastrum sp.* en un montaje de azul de lactofenol en microscopía de luz a 20 X. El esporangióforo y el merosporangio son señalados por flechas. Fuente: Elaboración propia.

Los Mucorales comparten características comunes y únicas, sin embargo, también presentan diferencias en la virulencia, susceptibilidad de la inmunidad del hospedero y diferencias específicas en la patogénesis según la especie del hongo, lo que resulta en diferencias en la epidemiología, sitio de infección, severidad de la enfermedad y su desenlace (53). Aunque *C. bertholletiae*, presenta casos con menos frecuencia, se asocia a infecciones más severas; mientras que *L. corymbifera* presenta una menor virulencia (54).

CAPÍTULO 3. EPIDEMIOLOGÍA

3.1 Distribución geográfica y epidemiología

Actualmente, los Mucorales son los hongos más comunes después de *Aspergillus*, en causar enfermedades fúngicas invasivas en pacientes con neoplasias malignas o trasplantes (55). En los últimos años se ha observado un cambio en la epidemiología de las mucormicosis con el aumento de la incidencia (figura 10), los nuevos agentes causales y la población susceptible (3). Esta tendencia al alza puede deberse principalmente al incremento de los pacientes gravemente inmunocomprometidos y mayor sobrevivencia de los pacientes con neoplasias hematológicas o pacientes trasplantados, sin embargo, el mejor conocimiento de la infección y la optimización en el diagnóstico pueden contribuir a la explicación del incremento de la incidencia (56).

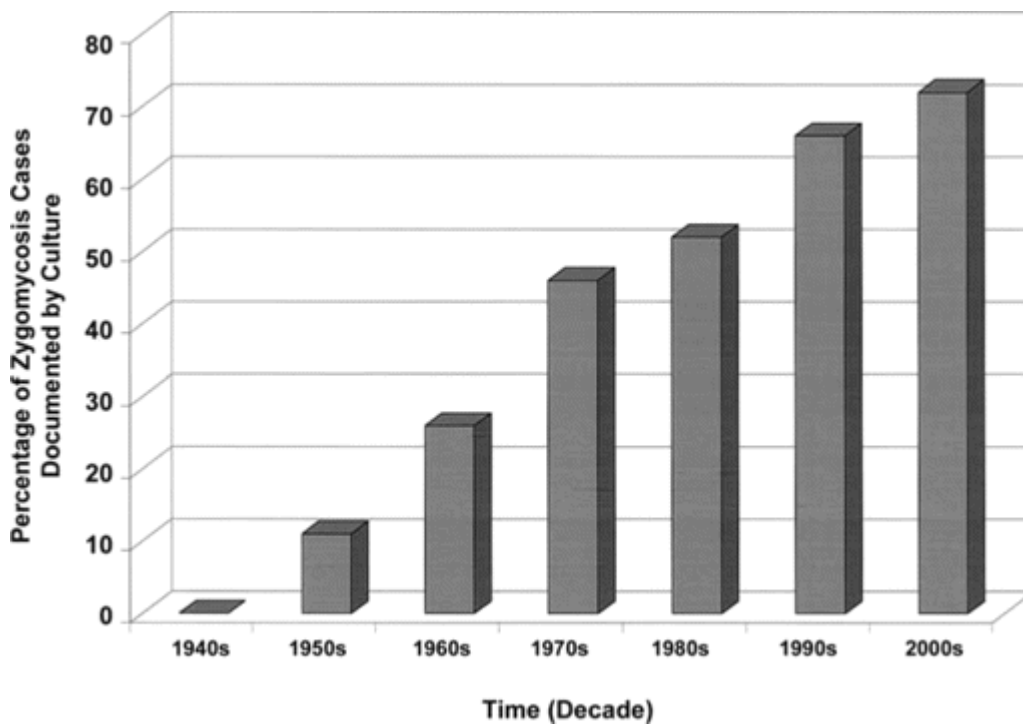


Figura 10. Porcentaje de casos de mucormicosis documentados por cultivo desde la década de los 40s. Fuente: Tomado de (55).

Si bien es cierto que el aumento de casos se ha percibido a nivel mundial, en el continente asiático es muy alto, sobre todo en pacientes de China e India con diabetes mellitus no controlada (57). Una revisión de 851 casos durante el período de enero de 2000 a enero de

2017, reveló que la enfermedad es mayor en Europa que en Asia, ya que informaron un 34 % de casos en Europa, seguida de Asia con un 31 %, América del Norte y del Sur con 28 % de casos, África con 3 % y Australia y Nueva Zelanda con un 3 % (58,59), sin embargo, en otro estudio de casos realizado en 2024 reveló que la mayoría de los pacientes procedían de Asia (66 %), seguido de América del Norte (17 %), Europa (11 %) y Medio Oriente (6 %) (60) (figura 11). Esta diferencia se debe probablemente a la falta de notificación de casos de los países asiáticos durante ese período.

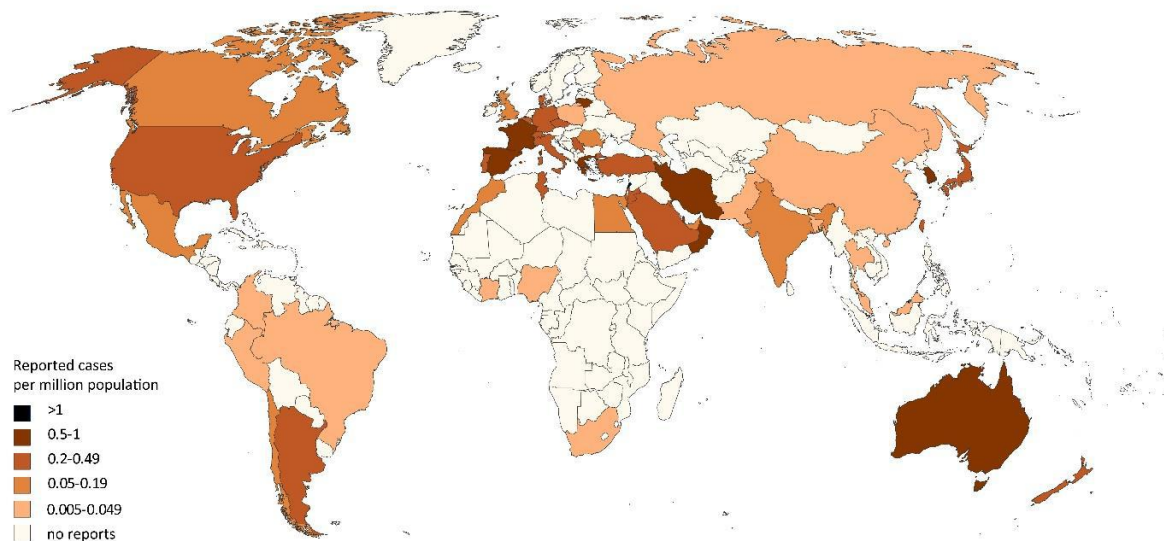


Figura 11. Distribución mundial de la mucormicosis (reporte de casos por millón de habitantes). Fuente: Tomado de (61).

En Francia, la incidencia de las mucormicosis aumentó de 0.07 a 0.12 por 100,000 habitantes entre los años 2001 y 2010 (62,63), otros países europeos como España, Suiza y Bélgica también reportaron tendencias similares en ese periodo (62). En Estados Unidos, entre 2005 y 2014 hubo un incremento en la tasa de 0.12 a 0.16 por 100,000 habitantes, mientras que en India la incidencia de las mucormicosis era 70 veces mayor que la tasa mundial total de mucormicosis, con alrededor de 0.14 casos en 1,000 habitantes, en el periodo comprendido entre enero de 2010 a diciembre de 2014 (24,62,63).

La etiología de las mucormicosis varía considerablemente en los diferentes países (figura 11). *R. arrhizus* es el agente causante más común de mucormicosis en todo el mundo, seguido de las especies *Lichtheimia*, *Apophysomyces*, *Rhizomucor*, *Mucor* y *Cunninghamella* (57,64). *Rhizopus* spp., *Mucor* spp. y *Lichtheimia* spp. representan el (70-80) % de los casos de mucormicosis. En Europa las especies identificadas más

comúnmente en pacientes con mucormicosis fueron, *Rhizopus* spp. (34 %), *Mucor* spp. (19 %) y *Lichtheimia* spp. (19 %) (65), mientras que en la India las especies de *Rhizopus* spp. son las más comunes, aunque *A. elegans*, *A. variabilis* y *R. homothallicus* son especies emergentes (66). En un estudio retrospectivo realizado en Francia que abarca datos del 2005 al 2007, *Rhizopus* spp. fue el agente causal en un 52 % de los casos de mucormicosis, mientras que *Lichtheimia* spp. causó el 29 %, siendo el segundo género más común (67). En África el género mayormente reportado fue *Rhizopus*, seguido de *Mucor* y *Lichtheimia* (68).

Algunas especies, como las del complejo *A. elegans* y el complejo *S. vasiformis*, tienen distribuciones geográficas únicas, ya que las infecciones se producen principalmente en regiones tropicales y subtropicales de la India, el sureste de los Estados Unidos y Australia; en contraste, las infecciones por *C. bertholletiae* y *R. pusillus* predominan en Estados Unidos y Europa y en Japón y Canadá, respectivamente (64).

En un análisis de casos de América del Sur, que abarca desde el primer caso reportado en abril de 1965 hasta octubre del 2018, se reportaron un total de 143 incidentes, la mayoría en Brasil con 59, seguido de Argentina con 36 y Colombia con 22 casos. Al igual que en otros países, el hongo más frecuente fue *Rhizopus* spp., (26.6 %), seguido de *Mucor* spp. (12 %), *Saksenaea* spp. (3.5 %), *Rhizomucor* spp. (2.1 %) y *Apophysomyces* spp. (2.1 %) (69).

La tasa de supervivencia global de los pacientes con mucormicosis es de aproximadamente el 50 %, y en algunos casos puede llegar hasta el 85 %. Esta variabilidad puede deberse a que la mucormicosis rinoencefálica se puede diagnosticar antes y se puede intervenir quirúrgicamente, teniendo una tasa de supervivencia más alta que la mucormicosis pulmonar o diseminada, entidades que son más difíciles de diagnosticar y rara vez se puede intervenir quirúrgicamente derivando en altas tasas de mortalidad (65 %) (70). El mejoramiento en el diagnóstico y el tratamiento han permitido que las tasas de mortalidad disminuyan conforme pasan los años (figura 12) (71).

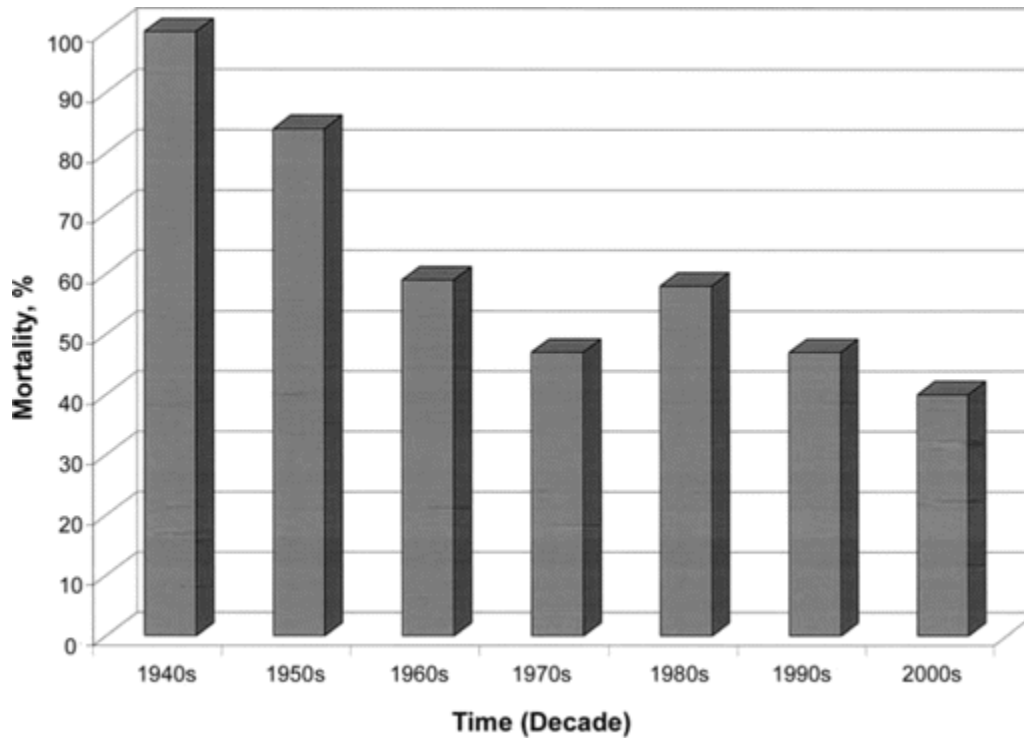


Figura 12. Mortalidad de la mucormicosis desde 1940. Fuente: Tomado de (71).

En ausencia de tratamiento, se ha informado que las tasas de supervivencia son tan bajas como el 3 % (68), así mismo, se han reportado tasas de mortalidad en el día 42 del 28 % al 39 % con la terapia antimicótica y el desbridamiento quirúrgico (72).

Un estudio realizado basado en la búsqueda sistemática de casos en un periodo comprendido desde enero 2000 a enero 2017, se incluyeron 851 casos de pacientes individuales, de los cuales el 63 % eran hombres, siendo el rango de edad más frecuente de 39-61 años. La diabetes mellitus fue la patología base más frecuente (40 %), seguido de la neoplasia hematológica maligna (32 %) y trasplante sólido (14 %). De los factores predisponentes el uso de corticoides fue el más frecuente con un 33 % de casos, mientras que la neutropenia y el traumatismo representan el 20 % cada uno, la quimioterapia un 18 % y el uso de la calcineurina se documentó en un 16 % de casos (58).

En la revisión de casos de mucormicosis en América del Sur, la edad media fue de 40 años, la mayoría de los pacientes eran hombres (61.5 %), la diabetes mellitus fue la afección subyacente más frecuente, seguida de traumatismos, quemaduras y neoplasias malignas (69).

3.2 Fuente de infección y vía de entrada

Los seres humanos adquieren la infección predominantemente por inhalación de esporangiosporas que se han liberado en el aire (2), éstas se depositan presumiblemente en los cornetes nasales y pueden llegar a los alvéolos pulmonares. Además, otras vías de entrada son la ingestión de alimentos contaminados y la inoculación directa del hongo en la piel alterada (73). Los traumatismos, las quemaduras y las cirugías se han identificado como factores de riesgo hasta en el 19 % de los casos (74). Una propiedad característica de los Mucorales es su tendencia a invadir los vasos sanguíneos y causar trombosis y necrosis de los tejidos infectados (75).

En huéspedes inmunocomprometidos, los que padecen diabetes mellitus o neoplasias hematológicas, estos hongos son responsables de infecciones rinocerebrales y pulmonares tras la inhalación de esporas mientras que, la adquisición a través de barreras cutáneas alteradas, que se produce después de una lesión traumática, es la principal vía de infección en huéspedes inmunocompetentes (76).

Los Mucorales se encuentran comúnmente en el suelo y la materia orgánica en descomposición (77). *Rhizopus* spp. han sido aislados de una gran variedad de alimentos, incluyendo maíz, cebada, sorgo, trigo, avena, arroz, cebollas, maní, batatas, nueces y tomates (78). *R. microsporus* se ha asociado con madera enmohecida en los aserraderos (79), el uso de aplicadores de madera para la preparación de productos farmacéuticos e incluso en depresores linguales de madera utilizados en la fijación de catéteres intravenosos en neonatos prematuros (80). Cheng et al. (81) en un estudio realizado en 2009 demostraron mediante análisis molecular la presencia de *R. microsporus* en las pastillas de alopurinol suministradas a pacientes con neoplasias hematológicas, las concentraciones eran mayores a las permitidas por la Farmacopea Europea, por lo que se cree que este hongo estuvo relacionado a un brote de mucormicosis gastrointestinal.

Aunque los Mucorales se consideran patógenos oportunistas, *A. elegans* y *S. vasiformis* pueden iniciar la enfermedad en huéspedes aparentemente normales, después de un traumatismo penetrante durante accidentes ocurridos en áreas tropicales y subtropicales (64) mientras que,

C. bertholletiae y *R. pusillus* afectan principalmente a huéspedes inmunocomprometidos, en su mayoría como resultado de la inhalación de esporas, causando infecciones

pulmonares y diseminadas con altas tasas de mortalidad. Las infecciones por *R. pusillus* están relacionadas con el cuidado de la salud en una gran proporción de casos (66).

Los desastres naturales también han sido una fuente de infección de mucormicosis, lo cual quedó evidenciado especialmente por el tsunami asiático ocurrido en el 2004. La mayoría de los supervivientes del tsunami que estuvieron a punto de ahogarse, permanecieron en condiciones sucias y traumáticas sin recibir atención médica inmediata, ocasionando la infección de heridas (82). Estas infecciones variaron desde mucormicosis cutánea multifocal hasta fascitis necrotizante mucormicótica (83).

En el 2011 ocurrió un tornado en Missouri, Estados Unidos, lo que resultó en 13 pacientes con mucormicosis cutánea necrotizante generada por *A. trapeziformis*, cinco de esos pacientes fallecieron (84). Los microorganismos se inocularon después de las lesiones penetrantes causadas por los desechos transportados por el viento o por el agua, lo que se introdujeron en los tejidos blandos profundos, incluidos los músculos, la fascia, los tendones y los huesos (83).

Las heridas de combate asociadas a infecciones fúngicas invasivas (IFI) se asocian a una mayor morbilidad y mortalidad, siendo más difíciles de manejar y con peor pronóstico que las lesiones no fúngicas relacionadas con el combate (85). En una investigación de 37 casos de IFI en heridas relacionadas a combate, los Mucorales se aislaron en 16 casos, siendo *Mucor* spp. el agente más común, seguido de *Saksenaea* spp. y *Rhizopus* spp. (86).

La mucormicosis de las heridas por quemaduras se asocia con una morbilidad grave y una alta mortalidad la cual oscila entre el 29 % y el 100 % (83). En los pacientes quemados, la flora bacteriana normal se suprime debido al período prolongado de tratamiento con antibióticos y esto, junto con la omnipresencia de hongos en el medio ambiente, promueve la infección fúngica (87).

Devauchelle et al. (88) realizaron un análisis bibliográfico desde 1991 hasta 2002 de pacientes quemados, que muestra las especies de Mucorales identificadas en pacientes infectados o colonizados de una serie de casos que incluyeron principalmente a *Mucor* spp. ($n= 11$), *Rhizopus* spp. ($n= 4$), *Lichtheimia* spp. ($n= 2$) y *Rhizomucor* spp. ($n= 2$). El contacto con el suelo o el agua fangosa fueron los focos de infección de las quemaduras. En otro análisis de casos realizado por Kyriopoulus et al. (89) mostró la presencia de *Rhizopus* spp. y *Rhizomucor* spp. en seis pacientes con quemaduras térmicas extensas, de los cuales dos fallecieron.

3.3 Condiciones predisponentes

Los principales factores de riesgo implicados en la mucormicosis son la DM no controlada y la cetoacidosis diabética, el tratamiento prolongado con esteroides, la neutropenia persistente, el tratamiento con desferoxamina, las neoplasias hematológicas, trasplantes de órganos sólidos, el uso ilícito de drogas intravenosas, los trastornos autoinmunes, la profilaxis con voriconazol o equinocandinas y la ruptura de la barrera cutánea o mucosa por traumatismos, quemaduras y heridas quirúrgicas (6,65,66,70,75).

Se ha reportado una diferencia en la prevalencia de factores de riesgo/enfermedad subyacente y agentes causales de mucormicosis entre el mundo occidental y los países asiáticos. La DM es el factor de riesgo más frecuente a nivel mundial, especialmente en países de ingresos medio-bajos como los del continente asiático, mientras que las neoplasias hematológicas y los trasplantes son los principales factores de riesgo en los países desarrollados como los europeos y Estados Unidos (3,6,65).

En los casos típicos, la infección progresa rápidamente y, a menos que los factores de riesgo subyacentes se reviertan adecuada y rápidamente, en asociación con una resección quirúrgica amplia de todas las áreas necróticas y la administración de terapia antimicótica a base de anfotericina, se produce la muerte (90).

3.3.1 Diabetes Mellitus

La DM es una enfermedad que tiene una serie de espectros clínicos como son la pérdida de peso y afectación de los órganos, además, se caracteriza por una triada de síntomas clásica: poliuria, polidipsia y polifagia (91). La DM está dada por una alteración metabólica crónica y progresiva que provoca hiperglicemia debido a defectos en la secreción, acción o ausencia de la insulina. Esta se presenta tanto por factores ambientales como genéticos y puede llegar a afectar todas las células del organismo, donde no solo se da un desbalance glicémico, sino también proteico y lipídico (92)

La DM es una enfermedad que aumenta el riesgo de padecer infecciones bacterianas y fúngicas, tanto sistémicas como cutáneas debido a la hiperglicemia, alteración de la inmunidad celular y a la deficiencia vascular (93). El número de infecciones no solo es mayor en este grupo de personas, sino que también son más graves con respecto a la población sana (94). La diabetes mellitus afecta entre el 36 % y el 88 % de todos los pacientes con mucormicosis (95)

La cetoacidosis diabética (CAD) es una de las principales consecuencias de la DM, en el cual se presenta un estado de hiperglicemia que supera los 250 mg/dL, generando una acidosis metabólica en el paciente, la cual es ocasionado por el incremento de cuerpos cetónicos, los que, a su vez, aumentan debido a la lipólisis estimulada por el glucagón, liberando ácidos grasos de los cuales se generan los cuerpos cetónicos provocando una disminución del pH del organismo (96).

Aunque un estado hiperglicémico en sí mismo puede ser un factor predisponente para el desarrollo de enfermedades, las infecciones por Mucorales son particularmente prevalentes y fulminantes en relación con la CAD u otras formas de acidosis (23). En pacientes con cetoacidosis se ha demostrado que se favorece el crecimiento del hongo debido a un sistema activo cetona-reductasa que posee el microorganismo, lo que le permite crecer en estado hiperglicémico, con baja tensión de oxígeno y en medio ácido (13).

En algunas cepas de *Rhizopus*, se ha demostrado la existencia del sistema enzimático cetona-reductasa que le permite metabolizar los cuerpos cetónicos (97), lo que a su vez le proporciona la capacidad crecer en estado hiperglicémico, con baja tensión de oxígeno y en medio ácido. La cetoacidosis disminuye la permeabilidad de la barrera hematoencefálica contribuyendo a la predilección por la enfermedad rinocerebral en estos pacientes (97,98).

Para el desarrollo de la mucormicosis, es esencial que se dé la germinación de esporas y la formación de hifas, sin embargo, el sistema inmunitario neutraliza los Mucorales por quimiotaxis, fagocitosis y destrucción intracelular a través de mecanismos oxidativos y no oxidativos. En un individuo sano inmunocompetente, todas estas funciones están intactas, pero los pacientes diabéticos están inmunodeprimidos y carecen del funcionamiento normal de las células inmunitarias (99).

Los pacientes con DM tipo 1 y 2 tienen alteraciones celulares y humorales que los predispone a procesos infecciosos de diversa índole. Entre los más importantes están la alteración de la inmunidad innata manifestada en una disminución de la actividad fagocítica de los neutrófilos e incapacidad para la opsonización, que representan la mayor defensa celular contra los Mucorales. Esta disfunción neutrofílica y el pH sérico bajo disminuyen el efecto fagocítico de los macrófagos y el efecto quimiotáctico y oxidativo de los neutrófilos (97). Otra alteración que manifiestan los neutrófilos es una alteración de la transmigración a través del endotelio vascular (100).

La diabetes o la intolerancia a la glucosa se notifican en la mayoría de los pacientes con mucormicosis con o sin COVID-19. La hiperglicemia inhibe la quimiotaxis de los neutrófilos, la fagocitosis por los macrófagos y la degranulación de las células NK. Además, promueve la expresión de proteínas reguladas por glucosa de superficie (GRP78) en el endotelio, que es esencial para la invasión de Mucorales (101).

3.3.2 Deferoxamina

Una característica clínica importante es el aumento de la susceptibilidad a la mucormicosis de los pacientes con niveles elevados de hierro sérico disponible. Desde hace algunas décadas se sabe que los pacientes tratados con el quelante del hierro deferoxamina tienen una incidencia marcadamente mayor de mucormicosis invasiva (102).

El hierro se une a proteínas transportadoras como la transferrina o lactoferrina para limitar los efectos tóxicos, al mismo tiempo funciona como un mecanismo de defensa del huésped por privación de hierro (90). La afinidad entre el hierro y la proteína transportadora se ve disminuida durante la acidosis, lo que conduce a la liberación de hierro en el torrente sanguíneo (91).

La acidificación o disminución del pH aumenta la disponibilidad de hierro libre, un factor de crecimiento esencial para Mucorales. Se ha visto que las especies de *Rhizopus* spp. exhiben un crecimiento pobre en suero normal privado de hierro, pero un crecimiento mejorado en niveles elevados de hierro *in vitro* (89). Mientras que la deferoxamina es un quelante del hierro desde la perspectiva del huésped humano, *Rhizopus* spp. en realidad, utiliza la deferoxamina como sideróforo para suministrar hierro previamente no disponible al hongo (103). Además, *Rhizopus* spp. puede acumular de 8 a 40 veces más hierro suministrado por la deferoxamina que *Aspergillus fumigatus* y *Candida albicans* respectivamente, lo que a su vez se correlaciona linealmente con el crecimiento de *Rhizopus* spp. en suero (104). El uso de nuevos quelantes de hierro por ejemplo deferasirox no se asocian con un mayor riesgo de mucormicosis (105). De hecho, se ha visto que el deferasirox presenta efectos fungicidas directos contra Mucorales *in vitro* y en modelos animales a través de la inanición de hierro (106).

3.3.3 Malignidades hematológicas

Las mucormicosis se han convertido en una infección con una alta mortalidad, cada vez más importante en los centros oncológicos, especialmente en pacientes gravemente inmunocomprometidos (107). Las especies de *Rhizopus*, *Mucor* y *Rhizomucor* representan hasta el 75 % de los casos de mucormicosis encontrados en pacientes con neoplasias malignas hematológicas (106). Estos hongos suelen causar infecciones agudas, agresivas y frecuentemente angioinvasivas, especialmente en huéspedes inmunodeprimidos con neoplasias hematológicas malignas y/o trasplante de células madre (108).

Los pacientes con neoplasias hematológicas malignas como las leucemias y linfomas tienen mayor riesgo de mucormicosis (109), aquellos con leucemia mielocítica aguda (LMA) tienen incidencias que oscilan entre el 1 % y el 8 % (110), y altas tasas de mortalidad que rondan el 70 % (109). Esto se debe al tratamiento prolongado de estos pacientes con esteroides, agentes inmunosupresores (111), neutropenia debido a la malignidad o a la quimioterapia (109). Además, estos pacientes presentan regularmente defectos en la inmunidad innata, particularmente de las funciones de las células efectoras fagocíticas. Cerca del 15 % de los pacientes de este grupo que desarrollan mucormicosis tienen neutropenia grave (112) y un deterioro de la función de los macrófagos o los neutrófilos debido a la terapia con corticosteroides, lo que podría aumentar significativamente la susceptibilidad a las infecciones por Mucorales (37).

Por lo general, en estos pacientes es frecuente la mucormicosis diseminada (109), con una alta tasa de mortalidad, sin embargo, hay estudios que muestran una mayor cantidad de casos de mucormicosis pulmonar (113,114). En un estudio retrospectivo de 74 pacientes con mucormicosis internados en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), 41 pacientes (52.7 %) tenían neoplasias hematológicas, de los cuales fallecieron 34 (64.2 %), y los 15 pacientes que presentaron mucormicosis diseminada fallecieron (113). En un estudio realizado por Lewis et al. (115), relacionaron recuentos de linfocitos inferiores a $100/\text{mm}^3$ al momento del diagnóstico y niveles elevados de deshidrogenasa láctica como marcadores independientes de rápida progresión de la enfermedad y de muerte en pacientes con neoplasias hematológicas malignas con mucormicosis pulmonar.

Algunos de los factores de riesgo predisponente a mucormicosis en pacientes con malignidades hematológicas son:

- Neutropenia prolongada (mayor a tres semanas) con recuentos menores a 200/mm³
- Monocitopenia < 100/mm³
- Uso prolongado de corticoesteroides > 3 semanas en dosis altas como por ejemplo prednisona > 1 mg/kg/día
- Sobrecarga de hierro
- Trasplante de células madre de riesgo alto
- Hiperglicemia prolongada (glucosa sérica en ayunas > 200 mg/dL, diabetes mellitus, hiperglicemia asociada a corticoesteroides)
- Leucemia recidivante
- Enfermedad de injerto contra huésped grave y su tratamiento con corticoesteroides (106).

La tasa de incidencia de mucormicosis invasiva (MI) en pacientes con neoplasias hematológicas malignas (HM) aumenta año con año, convirtiéndola en la enfermedad más común entre las infecciones invasivas por hongos no *Aspergillus* (116), mientras que los estudios multicéntricos y unicéntricos han reportado un aumento de casos a lo largo del tiempo (117). Algunos factores que contribuyen a la alta susceptibilidad a la MI en pacientes con neoplasias hematológicas malignas son la leucemia aguda, la neutropenia, el tratamiento con esteroides, el alo-trasplante de células madre hematopoyéticas y la enfermedad de injerto contra huésped (118).

En un estudio basado en autopsias de pacientes con neoplasias hematológicas malignas y MI, mostró un aumento de 0.006 casos por 100 autopsias realizadas de 1989 a 1993 a 0.018 casos por 100 autopsias realizadas en 2004 al 2008 (119). De igual manera, un estudio español mostró un incremento de MI en pacientes hospitalizados pasando de una prevalencia de 1.2 casos por 100 000 pacientes hospitalizados entre 1988 y 2006 a 3.3 casos por 100,000 pacientes hospitalizados entre 2007 y 2015 (117).

Aunque la mucormicosis invasiva es relativamente rara en pacientes con malignidades hematológicas, su tasa de mortalidad ronda del 50 % al 80 % (120) con medianas de supervivencia de tres meses desde su diagnóstico en el caso de pacientes con LMA (121). Además, puede afectar los resultados de la leucemia a largo plazo, al retrasar o modificar la quimioterapia curativa (121), por lo que el diagnóstico precoz de la infección por mucormicosis, con el inicio rápido de la terapia antifúngica adecuada y la intervención quirúrgica, siempre que sea posible, es la columna vertebral del tratamiento de la mucormicosis (122).

3.3.4 COVID-19

El SARS (síndrome respiratorio agudo grave) es el estadio grave del COVID-19, producido por un daño masivo alveolar y una falla respiratoria progresiva; ocasionado por el SARS-CoV-2 (coronavirus 2 del SARS). Este es un virus ARN de hebra simple, cuyo genoma es de aproximadamente 27-32 kb, que codifica proteínas no estructurales, como proteasas, helicasas y ARN polimerasas; además de proteínas estructurales como las de membrana, de envoltura, nucleocápside y la proteína espiga. Esta última proteína es utilizada por el virus para infectar a las células alveolares tipo II de pulmón e intestino a través de una proteína receptora de membrana, la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) (figura 13), la cual está presente en otros órganos como el miocardio, riñón, vejiga, esófago, e íleo (123).

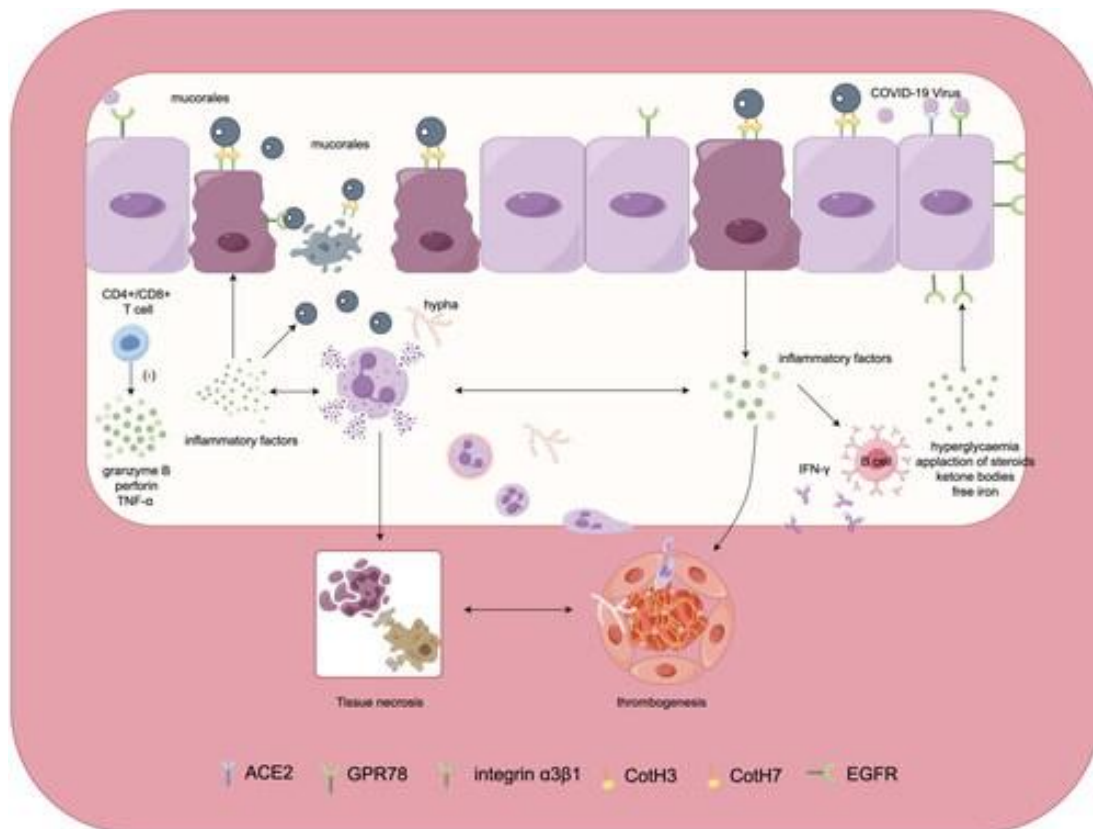


Figura 13. La patogénesis de la mucormicosis asociada a la COVID-19. El SARS-CoV-2 se une a los receptores ACE2 y GPR78 expresados en la superficie de las células epiteliales orofaríngeas. Esta unión induce la muerte celular y la liberación de mediadores inflamatorios, dañando las células epiteliales, lo cual conduce a la interrupción de las conexiones intercelulares y a la disfunción de las células epiteliales, estableciendo condiciones favorables para la invasión de las células de

mucormicosis. El virus, puede dañar el sistema de regulación de la glucosa en sangre humana, provocando hiperglucemia, que se ve exacerbada por los corticosteroides utilizados para tratar el COVID-19. La hiperglucemia induce la regulación positiva de la expresión de GPR78 en las células epiteliales, aumentando su susceptibilidad a la invasión de mucormicosis. Además, el deterioro del sistema inmunitario por el COVID-19, como la reducción de los recuentos de linfocitos T CD4+/CD8+ y la disfunción que provoca una disminución de la expresión de citocinas como el IFN- γ y el TNF- α , debilita la resistencia a los Mucorales y hace que las personas sean susceptibles a la infección. Fuente: Tomado de (124).

Desde su primera detección en Wuhan, China, en noviembre de 2019, el SARS-CoV-2 ha infectado a más de 230 millones de personas, causando más de 4.8 millones de muertes en todo el mundo hasta el 12 de octubre de 2021 (125). La dexametasona ha sido el tratamiento de elección en la neumonía por COVID-19 con hipoxia (126), desde entonces, el uso de esteroides ha aumentado enormemente, lo que prepara el terreno para la aparición de infecciones oportunistas (125).

La enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) se ha asociado con una amplia gama de infecciones bacterianas y fúngicas oportunistas. Tanto *Aspergillus* spp. como *Candida* spp. han sido reportados como los principales patógenos fúngicos para la coinfección en personas con COVID-19, sin embargo, recientemente, se han notificado cada vez más casos de mucormicosis en personas con COVID-19 en todo el mundo, en particular en la India (127).

El COVID-19 causa un estado inmunodeprimido con una desregulación inmunitaria (128). Los diabéticos con pobre control glicémico, el uso indiscriminado de esteroides y antibióticos de amplio espectro en pacientes con COVID-19, además, del debilitamiento del sistema inmunológico, favorece que estos pacientes sean más susceptibles a los Mucorales, lo que contribuye al aumento de los casos de mucormicosis asociada a la COVID-19 (118,129). En una revisión sistemática realizada por Nagalli y Shankar (125), se encontró que la diabetes mellitus es la comorbilidad predominante entre los pacientes con COVID-19 y mucormicosis. Durante la era prepandémica, la prevalencia de diabetes mellitus en pacientes con mucormicosis se encontró en un 40 % en una revisión sistemática de 851 pacientes (58), mientras que la prevalencia de diabetes mellitus entre los pacientes con COVID-19 con mucormicosis fue del 77.1 % (125).

La razón principal que parece facilitar la germinación de las esporas de Mucorales en personas con COVID-19, es un entorno ideal de bajo oxígeno (hipoxia), glucosa alta

(diabetes, hiperglicemia de nueva aparición, hiperglicemia inducida por esteroides), medio ácido (acidosis metabólica, cetoacidosis diabética), niveles altos de hierro (aumento de ferritinas) y disminución de la actividad fagocítica de los glóbulos blancos debido a la inmunosupresión ya sea por comorbilidades mediadas por SARS-CoV-2 o mediadas por esteroides o de fondo, junto con varios otros factores de riesgo compartidos, incluida la hospitalización prolongada con o sin ventiladores mecánicos (127).

Otro factor que parece precipitar la mucormicosis es el hecho de que el COVID-19 a menudo causa endotelitis, daño endotelial, trombosis, linfopenia y reducción en el nivel de células T CD4 y CD8, por lo tanto, predispone a una infección fúngica secundaria u oportunista (127).

Los pacientes con enfermedad grave por COVID-19 suelen mostrar una respuesta inmunitaria innata tardía en reconocimiento del virus, que culmina en una respuesta diferida pero intensificada contra el SARS-CoV-2. Estos pacientes exhiben una hipercitocinemia o tormenta de liberación de citoquinas como la IL-6, IL-1, IL-8, IL-12, TNF- α , IL-17, GM-CSF e INF- γ , las cuales dan lugar a linfopenia debido a varios mecanismos, incluido el fenotipo de agotamiento y la muerte celular programada en los linfocitos (130). Este fenómeno da como resultado una disminución de la población de linfocitos Th y Tc, células que son importantes para eliminar las células fúngicas, por lo que, un sistema inmunológico debilitado puede no ser suficiente, permitiendo que los Mucorales de rápido crecimiento se propaguen rápidamente en el cuerpo (131).

La ferritina es un marcador clínico de inflamación aguda (132), la gravedad de la enfermedad del COVID-19 se correlaciona con niveles elevados de ferritina, que reflejan el estado inflamatorio. Se encontró que los niveles de ferritina eran más altos en los casos de CAM en comparación con los controles. La absorción de hierro se correlaciona linealmente con el crecimiento de *Rhizopus* spp. en suero y es esencial para su patogenicidad en presencia de sideróforos (103–105,133–135).

En el momento de la infección activa, los receptores ACE2 y CD147 permiten que la partícula viral interactúe con las moléculas de hemoglobina y sufra endocitosis viral a través de la proteína de espiga en la superficie viral. Esto da como resultado hemoglobina defectuosa, hemólisis, acumulación de hemo y disminución del transporte de oxígeno. Se observa un alto nivel de hierro sérico libre después de la liberación de ferritina y, finalmente, le indica al hígado que produzca más ferritina. Por lo tanto, la enfermedad avanza a

'hiperferritinemia'. El virus SARS-COV-2 manifiesta el efecto mimético de la hepcidina que resulta en ferroptosis e hiperferritinemia (132).

El hierro disponible de forma gratuita es un recurso ideal para las mucormicosis. La hiperglicemia provoca la glicosilación de la transferrina y la ferritina, y reduce la fijación del hierro, lo que permite un aumento del hierro libre. Además, el aumento de citoquinas en pacientes con COVID-19, especialmente la interleucina-6, aumenta el hierro libre al aumentar los niveles de ferritina debido al aumento de la síntesis y la disminución del transporte de hierro. Además, la acidosis concomitante aumenta el hierro libre por el mismo mecanismo y, además, al reducir la capacidad de la transferrina para quelar el hierro (127).

Un estudio de cohorte multicéntrico de la India, informó de un aumento del doble en la prevalencia de mucormicosis entre septiembre y diciembre de 2020, en comparación con el mismo período de 2019 como consecuencia del aumento de la carga de CAM (136). Además, el número de casos aumentó aún más durante el período de abril a mayo de 2021 (101). En este mismo estudio se observó un mayor porcentaje de pacientes con CAM que presentaron hipoxemia, lo cuales requirieron ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) en comparación con los pacientes sin CAM (136).

Selarka, et al. (128) realizaron un estudio prospectivo, observacional de 2567 pacientes con COVID-19 en la India, de los cuales 47 desarrollaron mucormicosis. El 76.6 % de estos pacientes eran diabéticos, el 66 % no eran vacunados contra el COVID-19, el 91.5 % desarrolló neumonía moderada o severa y el 42.6 % requirió ventilación mecánica, el tiempo medio del diagnóstico de mucormicosis fue de 12 días. En otro estudio realizado por Singh et al. (127) 101 pacientes con COVID-19 desarrollaron mucormicosis, de los cuales el 78.9 % eran hombres, el 80 % eran diabéticos, cerca del 15 % presentaron CAD, mientras que, la ingesta de corticoides para el tratamiento del COVID-19 se registró en el 76.3 % de los casos.

Tras el aumento de la incidencia de candidemia y aspergilosis invasiva en pacientes con COVID-19, aumentó la concienciación sobre posibles coinfecciones fúngicas entre los médicos y microbiólogos (136). El aumento en la incidencia de la CAM a raíz de la pandemia de COVID-19 planteó la posibilidad de que la infección por COVID-19 pueda predisponer a las mucormicosis, lo cual, puede ocurrir directamente a través de su impacto en el sistema inmunológico o indirectamente debido a las intervenciones relacionadas con la prevención y el manejo de COVID-19 (101).

3.3.5 Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH)

La mucormicosis en la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es poco frecuente (137,138), ocurre principalmente en pacientes con recuentos bajos de linfocitos CD4 (139). En una revisión sistemática de 929 casos notificados de mucormicosis, la infección por VIH fue el factor de riesgo atribuido en solo el 2 %, pero se asoció con una tasa de mortalidad más alta (140). La desregulación progresiva de la inmunidad humoral, alteraciones en la producción de citoquinas y la disminución en la función de monocitos, además, los defectos en los neutrófilos, podrían estar implicados en la infección de estos pacientes. Por otro lado, los episodios transitorios de neutropenia en estos pacientes es un factor de riesgo para esta enfermedad (139).

En pacientes inmunocomprometidos, la mucormicosis es la IFI más relevante después de la aspergilosis y la candidiasis (141), además, la neumocistosis, la criptococosis y la histoplasmosis se observan típicamente en pacientes infectados por el VIH con inmunosupresión profunda ($CD4 < 200$ células/ mm^3) (140). Las mucormicosis causan un grado significativo de morbilidad y mortalidad, siendo potencialmente mortal en estos pacientes (141). La mayoría de los casos de IFI comienzan por inhalación de esporas de hongos o por la colonización de hongos. Con la destrucción de la inmunidad, los hongos filamentosos presentes en la superficie de las mucosas pueden atravesar la barrera de las mucosas y causar una infección invasiva (142).

La mucormicosis puede surgir en múltiples sitios, incluidos los ganglios basales, el tejido cutáneo, el riñón, el tracto respiratorio, y puede diseminarse. Ocurre con mayor frecuencia en los usuarios de drogas inyectables, pero no se limita a ellos, y se asocia significativamente con sitios distintos de los ganglios basales en aquellos pacientes con enfermedad avanzada por VIH o SIDA y puede desarrollarse de manera insidiosa o avanzar rápidamente a un curso fulminante (139)

Moreira et al. (141) realizaron un estudio de 67 casos en el que determinaron la tasa de mortalidad de pacientes con VIH y mucormicosis, la cual varió según el sitio de infección: 92.9 % para la enfermedad diseminada, 62.5 % para la enfermedad cerebral, 60 % para la infección pulmonar y 36.4 % para la infección cutánea; con una mortalidad neta del 52.2 %. Así mismo señalaron el uso de drogas intravenosas en el 50 % de los casos, la neutropenia en el 29.7 %, el uso de corticoides en el 25 %, como los factores asociados. Por otro lado, los pacientes presentaron una mediada de 47 células/ mm^3 en el recuento de células CD4.

Muchos pacientes que adquirieron la infección del VIH por el uso de drogas intravenosas también adquirieron hepatitis C por la misma vía, y cuando desarrollan una enfermedad hepática terminal a causa de la hepatitis C, el trasplante de hígado se convierte en una esperanza de supervivencia prolongada (143).

La inmunosupresión inducida por el VIH raramente predispone a la mucormicosis, sin embargo, en pacientes VIH positivos que utilizan drogas intravenosas tienen un riesgo aumentado para esta infección fúngica (144). En una revisión de 28 casos de pacientes con VIH y mucormicosis los cuales utilizaban drogas intravenosas, tuvieron principalmente presentaciones clínicas cerebrales, cutáneas y renales en el 88 % de los casos, mientras que estas presentaciones fueron menos frecuentes (18 %) en pacientes VIH negativos y sin uso de drogas intravenosas (145).

Chen et al. (142), realizaron un estudio para determinar la presencia de hongos filamentosos en pacientes VIH positivos, el propósito de dicha investigación era establecer la prevalencia de la portación de hongos filamentosos en esos pacientes. Los hongos se aislaron de hisopados orofaríngeos y nasofaríngeos con identificación morfológica y molecular. De los 716 pacientes infectados con VIH, 119 presentaron hongos filamentosos, de éstos, se encontraron solamente tres Mucorales, sin embargo, la tasa de mortalidad de estos hongos puede superar el 52 %. En dicho estudio se encontró que los individuos infectados con VIH son portadores de hongos filamentosos en el tracto respiratorio superior, siendo este sitio anatómico un portal importante para la invasión microbiana.

Debido a la dificultad de distinguir la mucormicosis de otras enfermedades angioinvasivas como las causadas por *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., y *Pseudallescheria* spp., los médicos deben considerar la mucormicosis en el diagnóstico diferencial en pacientes con SIDA avanzado (140). Por otro lado, las personas infectadas por el VIH corren el riesgo de ser colonizadas por los hongos, incluso si su función inmunológica está relativamente preservada. En particular, los pacientes con SIDA avanzado suelen tener comorbilidades con neutropenia, y la colonización de hongos filamentosos como los Mucorales pueden ser una amenaza potencial para estos pacientes (146).

3.3.6 Pacientes trasplantados

La terapia inmunosupresora está mejorando la supervivencia del injerto de los receptores de trasplante, lo que ha aportado beneficios a los pacientes trasplantados y contribuye a

prolongar la supervivencia del injerto (147), sin embargo, los agentes inmunosupresores también reducen drásticamente la inmunidad de los pacientes a virus, bacterias y otros patógenos, aumentando así el riesgo de infección perioperatoria (148). Se ha comprobado que la ingesta prolongada de corticoides es un factor de riesgo para el desarrollo de mucormicosis (149), ya que puede estar mediado por la inhibición de macrófagos y neutrófilos y la tendencia a causar hiperglicemia (101).

Aunque la mucormicosis tiene una incidencia estimada entre 0.4 y 16.0 % dependiendo del tipo de trasplante de órgano sólido y con un rango de 0.2 a 1.2 % en receptores de trasplante renal (150), la incidencia de mucormicosis está aumentando en general, en los pacientes inmunodeprimidos para trasplante (143). Dado que algunos países tienen tasas más altas de mucormicosis, la proporción de pacientes con trasplante sólido dentro de las cohortes recientes de pacientes con esta enfermedad varió del 3 % al 10 % (151) . En una revisión reciente el 24 % de 169 pacientes con mucormicosis asociada a la atención médica eran receptores de trasplante (152), estos pacientes son más susceptibles a su adquisición nosocomial, especialmente en países del Oriente Medio y Asia (153).

Aunque se pueden encontrar varios factores de riesgo en esta población, los potentes fármacos y/o anticuerpos que agotan las células T utilizados para la inmunosupresión en los receptores de trasplantes son responsables del alto riesgo de infección fúngica invasiva de estos pacientes (154).

En un estudio de 174 casos de mucormicosis en pacientes con trasplante renal entre 1970 y 2015 se observó que el reporte de dicha micosis fue en aumento durante el período de estudio, reportándose 134 casos después del año 2000, lo que representa un 77 % de los pacientes (155). La mucormicosis ocurre con mayor frecuencia tardíamente, hasta tres meses después del trasplante, aunque se han observado casos tempranos, especialmente entre los receptores de trasplante hepático y en casos de infección transmitida por injerto (154).

Se ha demostrado que la infección fúngica pulmonar es uno de los principales tipos de infección después del trasplante renal; asociado con episodios insidiosos, progresión rápida y enfermedad grave, siendo la aspergilosis el patógeno más común (156). Sin embargo, en estos pacientes, los agentes de mucormicosis también son causantes de infecciones (147), siendo la presentación rinocerebral la forma más común seguida de la pulmonar (155). En los pacientes trasplantados, la mucormicosis se desarrolla rápidamente, con un mal

pronóstico y rara vez se notifica en receptores renales (157). Por otro lado, esta micosis se asocia con la mayor duración de la hospitalización y la supervivencia más corta a dos años en pacientes con trasplante renal, aunque comprende solo el 2-6 % de la IFI (155).

Almyroudis et al. (158) informaron sobre 10 casos de mucormicosis asociada a trasplante sólido, además, revisaron otros 106 casos en la literatura en inglés desde 1970 hasta 2002. En este estudio, los órganos trasplantados fueron el riñón ($n = 73$), el hígado ($n = 19$), el corazón ($n = 16$), el pulmón ($n = 4$), el corazón y el pulmón ($n = 2$), y el riñón y el páncreas ($n = 2$). Los géneros aislados con mayor frecuencia fueron *Rhizopus*, (73 %) y *Mucor* (13 %). Así mismo, el 40 % de los pacientes reportados, habían recibido inmunosupresión aumentada para prevenir el rechazo dentro del mes antes del inicio de la mucormicosis, mientras que la mortalidad global fue del 49 %.

La insuficiencia renal, la DM y el uso previo de voriconazol y/o caspofungina se asociaron con un mayor riesgo de mucormicosis en receptores de trasplante sólido. En un estudio de casos y controles se encontró que el uso del inhibidor de calcineurina, tacrolimus, se asoció con una reducción de cuatro veces en el riesgo de mucormicosis entre los receptores de trasplante, a pesar de que los inhibidores de calcineurina son potentes agentes inmunosupresores (159). En el estudio RetroZygo realizado por Lanternier et al. (67), la mediana de tiempo desde los primeros síntomas hasta el diagnóstico de mucormicosis fue de seis semanas para los pacientes con trasplante sólido y de una semana para los receptores de células madre hematopoyéticas.

CAPÍTULO 4. PATOGÉNESIS

4.1 Historia natural de la enfermedad

Los Mucorales son un grupo heterogéneo de hongos filamentosos saprófitos o parásitos facultativos, que generalmente se encuentran en el suelo, el *compost*, las heces de animales, los vegetales en descomposición, los desechos agrícolas u otra materia orgánica (73). Estos hongos, además de estar presentes en el medio ambiente, también pueden estar en la mucosa de las regiones nasales y orales de un ser humano sano (132).

Los Mucorales patógenos son termotolerantes y pueden formar parte de la biota gastrointestinal y genitourinaria, los cuales pueden modificar su estructura produciendo blastosporas y clamidosporas como en el caso de las especies de *Mucor*. Estos hongos se consideran avirulentos o de baja virulencia que pueden actuar como patógenos oportunistas (38).

Al inhalar las esporas, los Mucorales pueden entrar en un huésped susceptible (160), ya que al ser muy pequeñas pueden evadir los mecanismos de defensa de las vías respiratorias superiores, pudiendo llegar hasta los espacios alveolares o instaurar una micosis rinocerebral (38). La infección también se puede dar a través de la ingestión de alimentos contaminados y a través de una piel desgastada. Estas vías dan lugar a infecciones rino-orbitarias-cerebrales, pulmonares, gastrointestinales o cutáneas (160).

Una vez que las esporas penetran el organismo, se desarrollan en tejidos profundos, invaden vasos sanguíneos por medio de la adhesión a proteínas como la laminina y el colágeno tipo IV, perforan paredes y causan trombosis. Debido a la afectación vascular, la diseminación por vía hematógena se facilita (38).

El sitio inicial de infección de la mucormicosis rino-orbitaria-cerebral son los cornetes nasales, que proliferan de forma agresiva hasta comprometer los senos paranasales, el paladar, la órbita y el encéfalo. El hongo tiene una fuerte afinidad por los vasos sanguíneos lo que genera invasión, daño en las células endoteliales vasculares, isquemia y necrosis tisular (161). La necrosis isquémica de los tejidos infectados puede impedir la llegada de leucocitos y la entrega de agentes antifúngicos en los focos de infección. Por lo tanto, la angioinvasión es un factor clave en la patogénesis de la mucormicosis (162).

La infección se disemina directamente desde la nariz y los senos paranasales o a través de la angioinvasión. Comienza a multiplicarse junto con los tejidos elásticos que forman la

parte más externa de los vasos sanguíneos, dando como resultado la obstrucción del suministro de sangre a los órganos (163). Las principales vías de extensión intracraneal son los vasos oftálmicos, las arterias carótidas a través de los espacios entre los nervios, el hueso, el cartílago y las meninges (164).

La infección se puede propagar desde los senos paranasales hasta las estructuras orbitarias y al cerebro siguiendo la ruta orbitaria. La parálisis de los nervios craneales es el resultado de una infección que se propaga a través de los senos esfenoidales y el seno cavernoso. Otra ruta de propagación se da a través de los senos etmoidales a los lóbulos frontales. En esta etapa, puede observarse tromboembolismo en la arteria carótida, las venas yugulares y el seno cavernoso (163).

Rhizopus spp. crecen rápidamente en el ambiente hiperglicémico, porque la fagocitosis se ve afectada significativamente en un estado de azúcar alto en la sangre. El sistema de cetonas reductasas en el hongo ayuda a sobrevivir con éxito al ambiente ácido en la cetoacidosis diabética. Además, la acidosis provoca la disociación del hierro de las proteínas secuestrantes en el suero, lo que podría promover la virulencia y la supervivencia. La fagocitosis también se ve notoriamente afectada en la neutropenia y la terapia con esteroides. La hiperglicemia en sí misma favorece el crecimiento de hongos por al menos tres mecanismos, que incluyen la hiperglicación de las proteínas secuestradoras de hierro con deterioro del secuestro de hierro, una mayor expresión de GRP78, un receptor de proteínas de mamíferos, que incrementa la unión de Mucorales y la disminución de la fagocitosis asociada a altos niveles de azúcar en sangre (163).

Los Mucorales pueden causar los siguientes tipos de enfermedad: (1) mucormicosis rinocerebral que puede infectar los senos paranasales y el cerebro y provocar fiebre, hinchazón de un lado del órgano facial, lesiones negras dentro de la boca / fuera de la cara, dolor de cabeza y congestión de los senos paranasales; (2) mucormicosis pulmonar que infecta principalmente el pulmón y provoca dolor torácico, alteración de la respiración, fiebre y tos; (3) mucormicosis cutánea que causa infecciones locales de la piel que conducen a úlceras o ampollas, enrojecimiento e hinchazón de la región de la piel infectada; (4) mucormicosis gastrointestinal que es poco común en adultos, pero más frecuente en neonatos prematuros que provoca náuseas, vómitos, hemorragia gastrointestinal y dolor abdominal; (5) mucormicosis diseminada, que ocurre en pacientes que sufren de múltiples complicaciones médicas que impiden la discriminación sintomática de la mucormicosis de otras enfermedades infecciosas; (6) presentación poco frecuente como infección renal. La

tasa de mortalidad y morbilidad de la mucormicosis varía según el órgano afectado por la infección, la especie fúngica causante y el estado médico del paciente (24).

Independientemente de la manifestación de la enfermedad, una característica distintiva de la mucormicosis es la capacidad del organismo causante para invadir agresiva y rápidamente los vasos sanguíneos, lo que resulta en diseminación hematógena, trombosis de los vasos y posterior necrosis tisular (13). Por lo que, las interacciones entre los hongos invasores y las células endoteliales que recubren los vasos sanguíneos representan un paso importante en la patogénesis de las mucormicosis (160).

4.2 Factores de virulencia

Para un hongo patógeno, como para cualquier otro patógeno humano, el cuerpo humano presenta un entorno en el que necesita sobrevivir y, en última instancia, crecer. Los rasgos necesarios para la supervivencia y el crecimiento en este entorno específico suelen considerarse factores de virulencia (165). Los factores de virulencia de los patógenos fúngicos de los seres humanos pueden surgir en el medio ambiente y en interacciones comensales, pero también evolucionan durante la colonización y las infecciones del huésped (166).

Se considera como un factor de virulencia al componente del patógeno que lo habilita para adaptarse y sobrevivir dentro del hospedero, pudiéndole causar un daño dependiendo de su susceptibilidad (167,168), en términos generales, cualquier factor que brinde la capacidad de crecimiento en condiciones similares a las del huésped que pueda ser necesario para la patogénesis (165).

Los patógenos humanos causan enfermedades en el huésped debido a su capacidad de infección, evasión del sistema inmune, supervivencia dentro del huésped, perturbación del sistema inmunológico y al potencial de causar daño a las células del huésped, por lo que, los factores de virulencia juegan un papel clave en el proceso de daño al organismo (24).

Algunos factores incluyen la capacidad de adherirse a los tejidos del huésped, la producción de enzimas que causan daño tisular y la interferencia directa con las defensas del huésped, la capacidad de obtener hierro de las formas de almacenamiento o transporte, además, de la capacidad de sobrevivir a 37 °C (termotolerancia) la cual es fundamental para la supervivencia en el huésped y contribuye a la diseminación (169).

Durante el proceso de adaptación a una forma más resistente al nuevo microambiente, con frecuencia resulta en agresión a los tejidos del huésped. Algunos hongos, como los hongos dimórficos, tienen una mayor capacidad para crecer en condiciones adversas proporcionadas por el huésped y producir enfermedades. Este proceso de patogenicidad, se considera el resultado de la interacción directa entre el patógeno y el huésped (170).

4.2.1 Absorción de hierro

El mecanismo de absorción de hierro de alta afinidad ha sido ampliamente estudiado en Mucorales. Este sistema está compuesto por tres proteínas: una reductasa de hierro (Fre), una ferroxidasa (Fet3) y una permeasa de hierro (FTR1). En esta tríada, la permeasa y la ferroxidasa son las proteínas clave para el correcto funcionamiento del sistema. Los niveles de hierro en el medio regulan estrictamente estos tres genes (171). El agotamiento de este mecanismo de captación de hierro de alta afinidad da como resultado una disminución de la virulencia de los Mucorales, lo que indica que es un factor de virulencia clave de las mucormicosis. Por ejemplo, la delección del gen FTR1 en *Rhizopus delemar* provocó defectos en el crecimiento en condiciones de baja disponibilidad de hierro y redujo la virulencia en ratones que sufrieron CAD (172).

En *M. circinelloides*, se han caracterizado tres genes de ferroxidasas, fet3a, fet3b y fet3c, que son cruciales para la absorción de hierro. El fet3c es el más relevante para la infección; sin embargo, estudios murinos revelaron una redundancia parcial de las otras dos ferroxidasas en ausencia de Fet3c. Los genes de las ferroxidasas en *M. circinelloides* no solo tienen funciones especializadas en la absorción de hierro, sino que también están implicados en el dimorfismo. El gen fet3a se sobreexpresa durante el estado de blastospora, mientras que fet3b y fet3c están involucrados en la absorción de hierro durante el crecimiento de las hifas (171).

La permeasa de hierro de alta afinidad (FTR1) es una proteína que tiene un papel en la absorción y el transporte de hierro en los Mucorales, especialmente durante la falta de hierro en el medio ambiente (24). Los pacientes con altos niveles de hierro sérico disponible son más susceptibles a la infección por *R. arrhizus*, destacando el papel central del metabolismo del hierro en la virulencia del microorganismo. La cetoacidosis diabética causa la disociación mediada por protones del hierro de las proteínas secuestradoras de hierro, este aumento de los niveles de hierro disponible permite un mayor crecimiento de estos hongos en el suero de los pacientes con mucormicosis (172).

El gen FTR1 se expresa en gran medida durante la infección de ratones inmunodeficientes con *R. arrhizus* (24). En un estudio realizado en ratones por Ibrahim et al. (172), se determinó que el gen FTR1 se expresa in vivo en condiciones en las que las concentraciones de hierro son bajas (0 y 50 μM), mientras que se suprime en medios repletos de hierro (concentraciones $>350 \mu\text{M}$). Por otro lado, los investigadores lograron demostrar que el silenciamiento o inhibición génica de TFR1 reduce la virulencia y la absorción de hierro de este hongo. Por otro lado, realizaron una inmunización pasiva de anticuerpos anti-FTR1 a ratones con CAD, los cuales fueron infectados por vía intranasal con *R. arrhizus*, obteniendo una disminución de la tasa de mortalidad y un aumento de la tasa de supervivencia en comparación con los ratones no tratados.

Como se expuso anteriormente, la deferoxamina es un quelante de hierro el cual puede ser utilizado como un xenosideróforo para suministrar hierro al hongo (103), mientras que otros quelantes de hierro como deferiprona o deferasirox no actúan como quelantes de hierro para *Rhizopus* spp. (160).

El uso de sideróforos es crucial para competir con el huésped por el hierro disponible en el medio ambiente. Los sideróforos son pequeñas moléculas que secuestran hierro con alta afinidad. Los hongos sintetizan diferentes sideróforos y pueden apropiarse indebidamente de sideróforos sintetizados por otros microorganismos como xenosideróforos (173). Los Mucorales pueden utilizar ambas estrategias para quelar y obtener hierro del medio. La rizoferrina es el sideróforo endógeno más caracterizado producido por varias especies de Mucorales (174).

Rhizopus spp. secretan rizoferrina, un sideróforo que pertenece a la familia de los policarboxilatos, sin embargo, es ineficiente en la obtención de hierro a partir del suero. La falta de capacidad de la rizoferrina para absorber el hierro del suero también se pone de manifiesto por la adaptación del organismo para utilizar xenosideróforos como la deferoxamina que son más eficientes en la obtención de hierro del huésped. Mientras que, el FTR1 en *R. arrhizus* es un factor de virulencia que actúa como una permeasa de membrana citoplasmática que facilita la captación intracelular del grupo hemo, seguida de la liberación de Fe^{3+} hierro a través de la degradación con hemo oxigenasas intracelularmente (172).

Las proteínas Fob1 y Fob2 son receptores para la absorción de hierro en la superficie de los Mucorales y se expresan en presencia de ferrioxamina (deferoxamina + Fe^{3+}) que media

la transferencia de hierro a través del sistema reductasa/permeasa, sin interferir en el complejo sideróforo-hierro en las células fúngicas (figura 14) (175). La ferrioxamina es utilizada por *Rhizopus* spp. como un xenosideróforo para obtener hierro previamente no disponible. Además, este hongo tiene la capacidad de obtener hierro de la ferrioxamina por transporte intracelular del hierro reducido sin la internalización de la deferoxamina (103). En un estudio realizado por Liu et al. (175), se efectuó el silenciamiento génico de FOB1 y FOB2, traduciéndose en un retraso severo en la germinación de *R. arrhizus* y más del (40-50) % de inhibición en el crecimiento en medio suplementado con ferrioxamina, en comparación con una cepa salvaje. Ese retraso en la germinación y la inhibición del crecimiento se acompañó de hasta un 85 % de inhibición de la absorción de hierro de la ferrioxamina. Estos resultados implican a las proteínas Fob1 y Fob 2 en la absorción de hierro de la ferrioxamina.

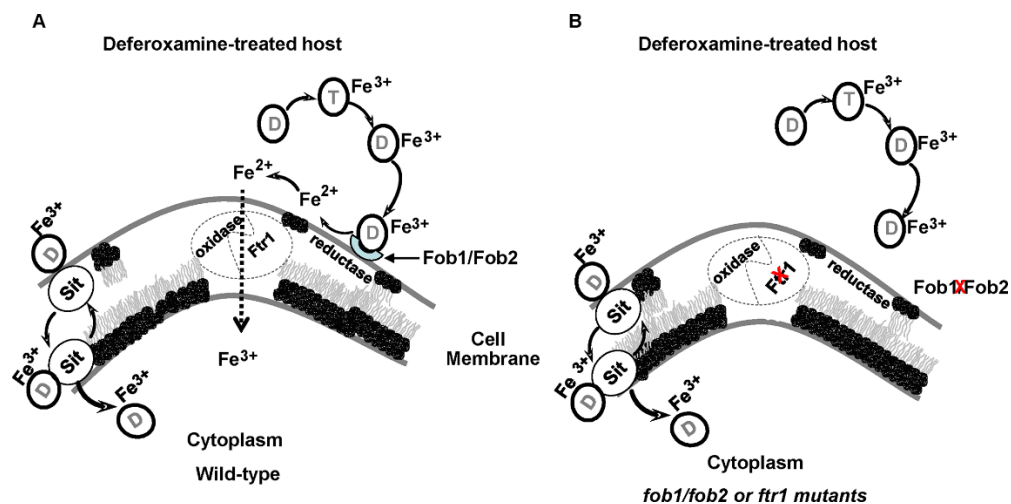


Figura 14. Mecanismo propuesto de *R. arrhizus* para la absorción de hierro de ferrioxamina. (A) La deferoxamina (D) quela directamente el hierro de la transferrina (T), lo que da lugar a ferrioxamina que se une a las proteínas Fob1 y/o Fob2 en la superficie celular. *R. arrhizus* libera Fe^{2+} por la acción de las reductasas de la superficie celular y luego es transportado (Fe^{2+}) al interior de la célula por el complejo oxidasa/Ftr1. (B) En ausencia de las proteínas Fob1/Fob2 o Ftr1, la capacidad de *R. arrhizus* para obtención de hierro a partir de ferrioxamina se ve comprometida y la virulencia se anula en el modelo de ratón tratado con deferoxamina. El transporte de ferrioxamina mediado por el mecanismo Transportadores de Hierro-Sideróforo (SIT), probablemente actúa como un mecanismo secundario de absorción de hierro de la ferrioxamina. Fuente: Tomado de (175).

Estos mismos autores formularon una hipótesis de que esos dos genes (FOB1 y FOB2) son factores de virulencia en modelos de ratones tratados con deferoxamina. Para probar dicha hipótesis, compararon la virulencia de *R. arrhizus* que contiene un plásmido vacío y otra cepa de *R. arrhizus* que contiene plásmidos de ARN-i dirigidos tanto a FOB1 como a FOB2. Las cepas que tenían el plásmido vacío fueron tan virulentas como las de tipo salvaje, mientras que los ratones que tenían la cepa de *R. arrhizus* con el plásmido de ARN-i tenían una virulencia atenuada, con un 100 % de supervivencia, mientras que las cepas con el plásmido vacío tuvieron una mortalidad del 80 %. Para comparar la gravedad de la infección, realizaron un examen histopatológico del cerebro y el riñón de los ratones infectados con las cepas de *R. arrhizus* con el plásmido vacío y los ratones infectados con las cepas de *R. arrhizus* con el plásmido de ARN-i dirigido a FOB1 y a FOB2. Los órganos tomados de los ratones infectados con las cepas de *R. arrhizus* con el plásmido vacío presentaron gran cantidad de abscesos fúngicos caracterizados por infiltración de fagocitos y edema sustancial, mientras que los ratones infectados con las cepas de *R. arrhizus* con el plásmido de ARN-i tenían una inflamación y edema mínimos (175).

4.2.2 Adhesión

En individuos susceptibles, la mucormicosis generalmente comienza en los senos paranasales, donde los microorganismos se adhieren y proliferan en las células epiteliales nasales. Eventualmente, los Mucorales adheridos invaden áreas adyacentes como el paladar, la órbita y el cerebro, causando necrosis extensa, destrucción de cornetes nasales, parálisis de los nervios craneales y desfiguración facial, todo en un corto lapso de días a semanas (176).

R. delemar interactúa con la proteína 78 regulada por glucosa (GRP78) en las células epiteliales nasales a través de su proteína CotH3 de la cubierta de esporas, para invadir y dañar las células epiteliales nasales (176). Mientras que en las células epiteliales alveolares reconoce la integrina $\beta 1$ ($\alpha 3\beta 1$) como un receptor, lo que provoca la activación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y conduce a la invasión de la célula huésped (figura 15) (177).

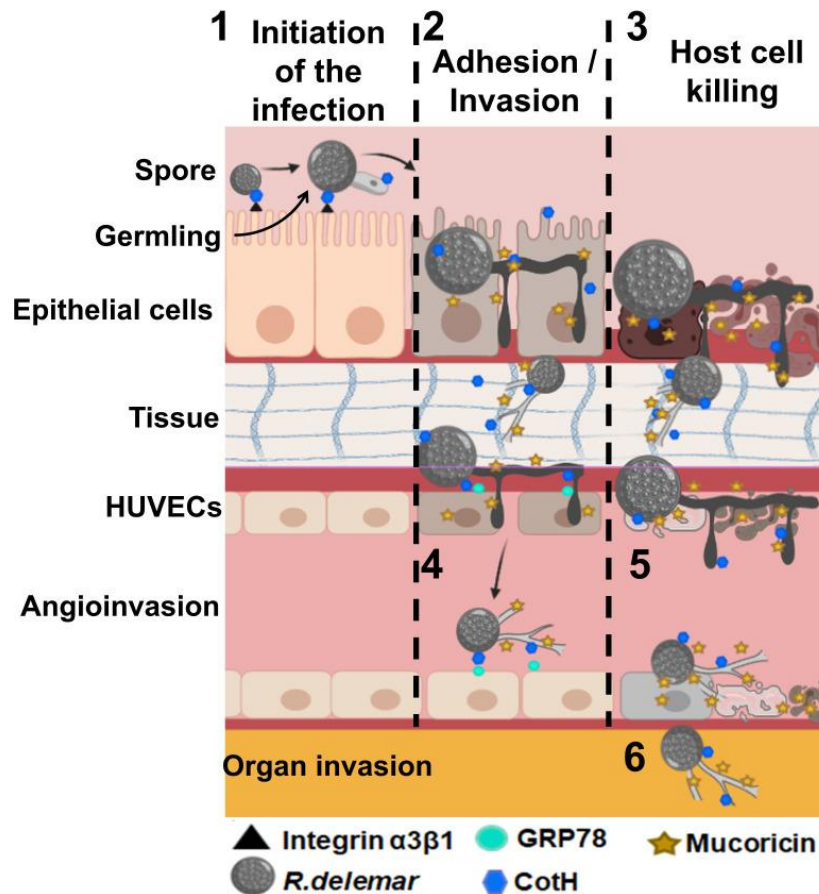


Figura 15. Eventos postulados que conducen a la adhesión e invasión y a la muerte de la célula huésped durante una mucormicosis. 1) Las esporas inhaladas se unen al epitelio a través de CotH/integrina $\alpha 3 \beta 1$ seguida de germinación. Los hongos producen mucoricina. 2) Alteración considerable del epitelio debido a la invasión de las esporas a las pocas horas de la infección. 3) La mucoricina causa la muerte de la célula huésped dentro de las 48 h posteriores a la infección. 4) La angioinvasión de las hifas y esporas ocurre a través de las interacciones CotH y GRP78 de células endoteliales, 5) La lesión de las células endoteliales se produce después de la infección con esporas de *R. deleamar*, lo que da lugar a la necrosis tisular. 6) La diseminación hematógica da lugar a la invasión de órganos. El edema tisular y la insuficiencia orgánica son el resultado de una fuga vascular excesiva. Fuente: Tomado de (178).

4.2.3 Homólogos de proteínas de la cubierta de esporas (CotH)

Este es un factor de virulencia que se encuentra en la superficie de las esporas de todos los Mucorales. El bloqueo de la función de las proteínas CotH, ya sea bioquímicamente mediante el uso de anticuerpos anti-CotH o genéticamente mediante la atenuación de la

expresión de CotH, reduce la capacidad de *R. delemar* para invadir y dañar las células endoteliales in vitro y reduce la gravedad de la enfermedad en ratones (160).

Esta proteína (CotH) desempeña un papel como invasina en la patogénesis de las mucormicosis, alterando y dañando las células inmunitarias, siendo la angi invasión una característica distintiva de dicha micosis(179). *Rhizopus* spp. se adhieren e invaden las células endoteliales mediante el reconocimiento específico de GRP78, este reconocimiento provoca la muerte celular del huésped por inducción de la endocitosis fúngica mediada por células endoteliales (figuras 15 y 16) (162).

El GRP78 actúa como receptor que media la invasión de la célula huésped por parte de los Mucorales, mientras que el CotH actúan como ligandos fúngicos para GRP78 (180).

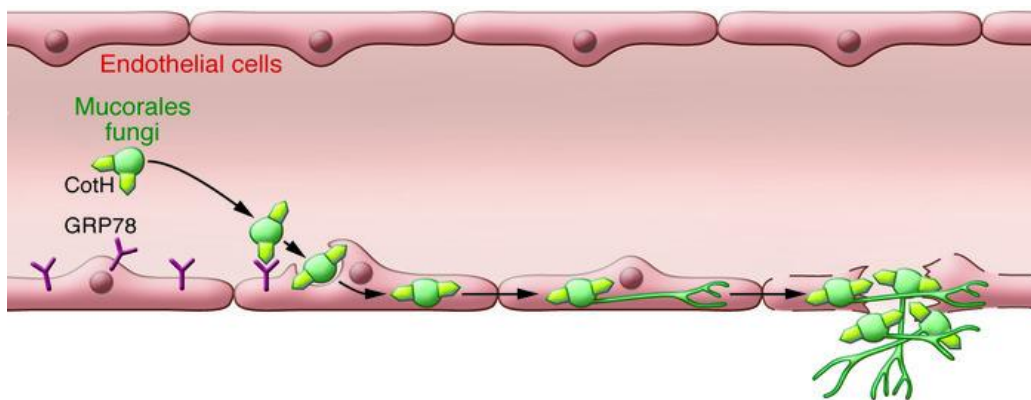


Figura 16. Las proteínas CotH en la superficie fúngica promueve la angi invasión de los Mucorales. Las proteínas CotH en la superficie de los Mucorales se unen específicamente a GRP78 en la superficie de las células endoteliales del huésped. Esta interacción facilita la invasión fúngica de la célula. El daño a las células endoteliales promueve la angi invasión y diseminación. Fuente: Tomado de (179).

En un estudio realizado por Liu et al. (162) mostraron que las concentraciones elevadas de glucosa y hierro (inductores de GRP78), consistentes con las observadas durante la cetoacidosis diabética, aumentaron la expresión de GRP78 y la consiguiente invasión de *R. arrhizus* y el daño de las células endoteliales de una manera dependiente del receptor. Por otro lado, los ratones con CAD, que tienen una mayor susceptibilidad a las mucormicosis, mostraron una mayor expresión de GRP78 en los senos paranasales, los pulmones y el cerebro en comparación con los ratones normales, aumentando la susceptibilidad de las células endoteliales a la invasión y el daño inducido por *R. arrhizus* (figura 17).

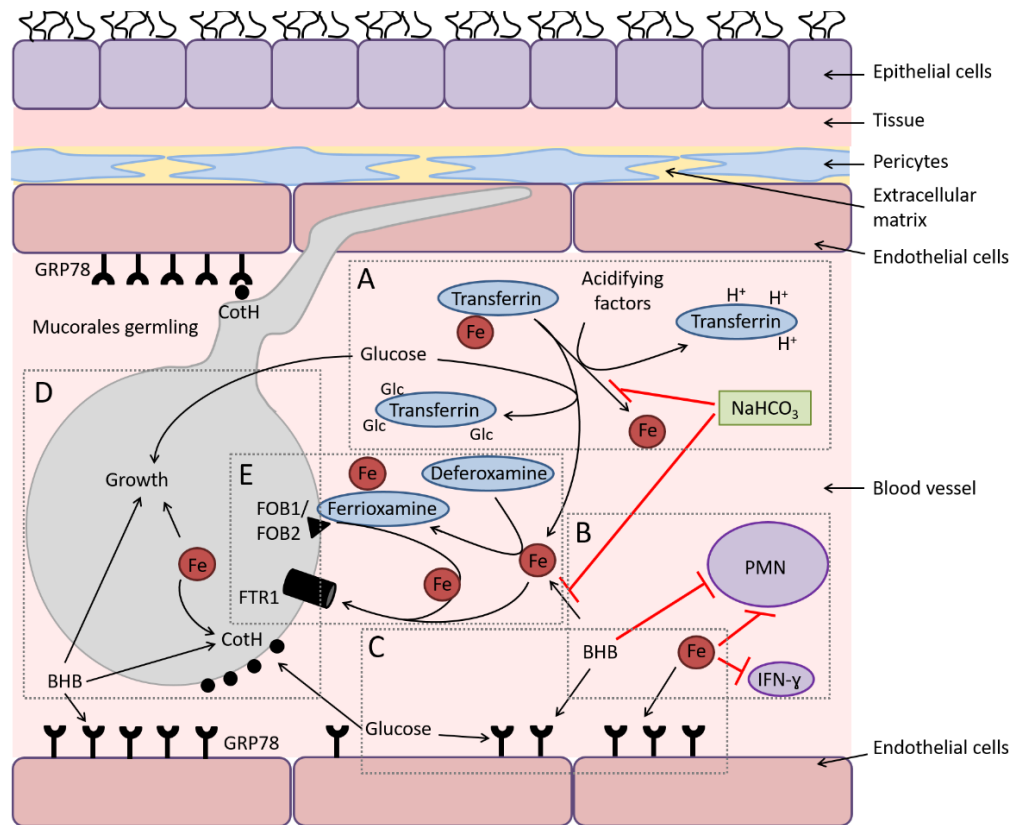


Figura 17. Interacción de los Mucorales con las células endoteliales durante la diseminación. (A) La hiperglucemia y la cetoacidosis dan lugar a la liberación de hierro de las proteínas secuestradoras de suero como la transferrina a través de la glicosilación y la protonación, respectivamente. (B) Los cuerpos cetónicos (por ejemplo, β-hidroxibutirato [BHB]) y el hierro libre afectan negativamente la respuesta inmunitaria a la infección, mientras que el bicarbonato de sodio (NaHCO₃) revierte este efecto negativo impidiendo la liberación de hierro de la transferrina y neutralizando la acidez. (C) La expresión superficial de GRP78 en las células endoteliales se mejora para hacer frente al estrés provocado por la hiperglucemia, el hierro libre y los cuerpos cetónicos. (D) La glucosa, el hierro libre (transportado por la permeasa de hierro de alta afinidad [Ftr1p]) y el BHB también mejoran la expresión de la superficie celular fúngica CotH, lo que resulta en la invasión del endotelio y el aumento del crecimiento de hongos. (E) En los huéspedes tratados con deferoxamina, la ferrioxamina rica en hierro se une a su receptor fúngico (proteínas de unión a ferrioxamina [Fob1/Fob2]) y luego libera hierro a través de un paso reductor antes de alimentar a los Mucorales invasores a través del transporte Ftr1p. Fuente: Tomado de (160).

Los Mucorales más comúnmente aislados de los pacientes son especies de *Rhizopus* spp., los cuales contienen de seis a siete copias del gen CotH; *Rhizomucor* spp., *Mucor* spp. y

Lichtheimia spp. contienen de tres a siete copias de CotH, mientras que aquellos que ocasionalmente son la causa de la enfermedad como *Apophysomyces* spp., *Cunninghamella* spp., *Saksenaia* spp. y *Syncephalastrum* spp. solo contienen de una a dos copias. Lo que podría indicar que los Mucorales que albergan más copias de CotH pueden causar enfermedades más frecuentes (181).

4.2.4 Dimorfismo

El dimorfismo es la capacidad de algunos hongos para modificar su arquitectura entre blastospora y micelio durante su crecimiento vegetativo. Varias especies de Mucorales muestran este tipo de cambio de crecimiento mediado por las condiciones ambientales, sin embargo, no todas las especies dimórficas de *Mucor* responden de la misma manera a los factores ambientales (182). Este cambio altera las interacciones huésped-microbio y es fundamental para la patogenicidad (183). Los cambios de temperatura, pH, y nutrientes son elementos que promueven el dimorfismo en los hongos. En el caso de las especies de *Mucor*, la anaerobiosis, ausencia o baja cantidad de oxígeno, la presencia de CO₂ o N₂ activa el desarrollo de blastosporas esféricas y multipolares, mientras que, en presencia de oxígeno, se propagan como hifas cenocíticas ramificadas (184).

M. circinelloides presenta crecimiento de hifas en condiciones aeróbicas, pero cambia a crecimiento de blastosporas con múltiples brotes bajo condiciones anaeróbicas o con alto contenido de CO₂ (185). Esta transición dimórfica está orquestada por la calcineurina, la cual es una serina/treonina fosfatasa dependiente de Ca²⁺/calmodulina formada por un complejo de dos subunidades, la subunidad catalítica A con actividad fosfatasa y la subunidad reguladora B, que une la calmodulina unida al calcio y activa el complejo enzimático (182).

La calcineurina desempeña un papel esencial en la virulencia y el crecimiento de hongos patógenos; por ejemplo, en *Cryptococcus neoformans* es necesaria para el crecimiento a 37 °C, la virulencia y la reproducción sexual; en *Candida* spp. la calcineurina ejerce un papel fundamental en la resistencia/tolerancia a los antifúngicos, la integridad de la pared celular y la supervivencia en suero y, por lo tanto, en la virulencia. En *Aspergillus fumigatus*, la calcineurina es esencial para el crecimiento y la virulencia de las hifas (186).

El análisis de la vía de la calcineurina en *M. circinelloides* reveló que regula la transición blastospora-micelio y la virulencia (figura 18) (182). En *M. circinelloides* y *R. delemar*, se

han reportado tres genes de subunidades A catalíticas de calcineurina (CnaA, CnaB y CnaC) mientras que otros hongos solo codifican por un gen, además, *M. circinelloides* y *R. delemar* codifican una subunidad B reguladora de calcineurina (CnbR), (183,186). La inhibición o delección de la subunidad reguladora de la calcineurina (CnbR) en *Mucor* da como resultado un cambio del crecimiento de hifas a blastosporas (185), siendo la etapa de blastospora menos virulenta (186).

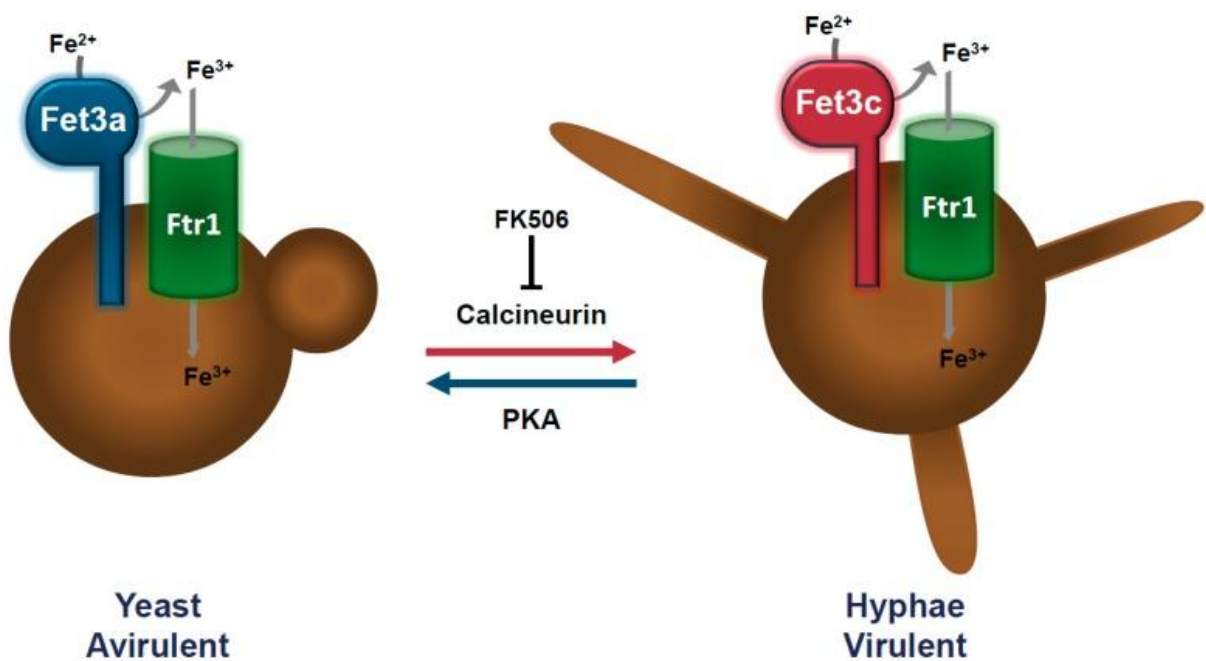


Figura 18. La interacción de la calcineurina, la proteína quinasa A (PKA) y los sistemas de captación de hierro en el dimorfismo y la virulencia de *Mucor circinelloides*. La calcineurina es necesaria para el crecimiento de las hifas y regula negativamente la actividad de la PKA y el tamaño de las blastosporas. El AMPc activa la PKA lo cual induce la morfología de blastospora. El FK506 (tacrolimus) se une a la interfaz hidrofóbica de las subunidades A y B de la calcineurina inhibiendo la actividad fosfatasa de la subunidad A, por lo que actúa inhibiendo el crecimiento de las hifas, e impulsa el crecimiento de blastosporas con múltiples brotes en *Mucor*. La PKA está más elevada durante el estado de blastospora y cuando la calcineurina es inhibida por el FK506. El gen *fet3a* se sobreexpresa en estado blastospora, mientras que, *fet3b* y *fet3c* están involucrados en la absorción de hierro durante el crecimiento de las hifas. Fuente: Tomado de (182).

El AMP cíclico (AMPc) y su enzima diana, la proteína quinasa A (PKA) dependiente del AMPc, es otra vía que controla el dimorfismo en *M. circinelloides* (184,187). La PKA es una holoenzima tetrámera con dos subunidades reguladoras (PKAR) y dos catalíticas (PKAC). Tres de los cuatro genes *pkaR* de *M. circinelloides* están implicados en la transición

dimórfica. La sobreexpresión de *pkaR1* promueve el crecimiento micelial, mientras que su delección da lugar a defectos en la transición blastospora-micelio. La ausencia de *pkaR2* promueve la transición de levadura a hifas, lo que indica que PKR2 funciona como un represor de este proceso celular. PKAR4 es esencial para la viabilidad de este hongo, pero el mutante heterocariota en *pkaR4* muestra un defecto en la emergencia del tubo germinativo cuando cambia de condiciones anaeróbicas a aeróbicas, lo que sugiere que PKAR4 también está involucrado en el dimorfismo (187).

El dimorfismo de *Mucor* spp. determina no solo su morfología, sino también el tipo de metabolismo y el potencial de virulencia, siendo el crecimiento de las hifas un fenotipo más virulento en parte debido a una mayor invasión tisular (figura 19) (188). Otro tipo de dimorfismo descrito en *Mucor lusitanicus* es el que afecta el tamaño de las esporas, mostrando una correlación positiva entre el tamaño de la espora y el potencial de virulencia (189). Un estudio realizado en polillas de cera por los investigadores Li et al. (189), mostraron como las esporangiosporas más grandes fueron más virulentas en la polilla de la cera, en comparación con los aislados que producen esporangiosporas más pequeñas y menos virulentas. Además, las esporangiosporas más grandes germinaron en el interior de los macrófagos lisándolos, mientras que las esporangiosporas más pequeñas no lo hicieron.

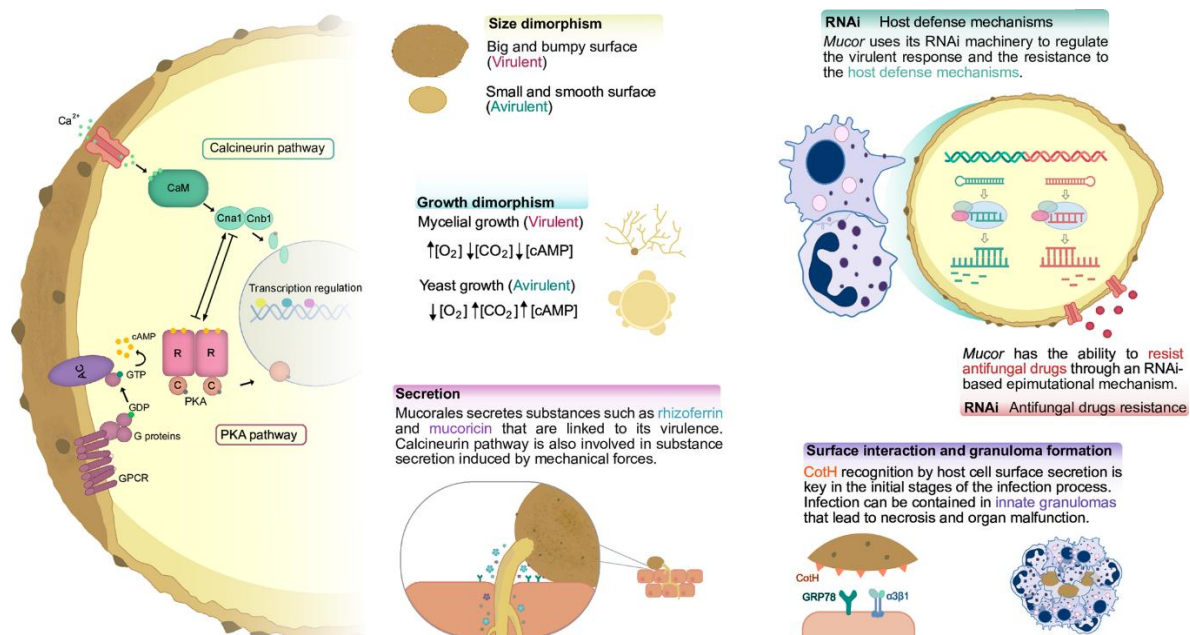


Figura 19. Mecanismos de patógenesis implicados en la mucormicosis. Tanto las vías de la calcineurina como las de la PKA son intrincadas y regulan determinantes clave de la virulencia, como

el tamaño de las esporas, el crecimiento, la detención de la maduración del fagosoma y la secreción de sustancias como la rhizoferrina y la mucoromicina a través de la regulación transcripcional. La regulación génica postranscripcional orquestada por el ARNi también es decisiva en la defensa contra los mecanismos del huésped y la resistencia adquirida a los fármacos antifúngicos. Durante el proceso de infección, las proteínas CotH de superficie y su interacción con los receptores de la célula huésped facilitan la infección. Las esporas pueden estar contenidas en estructuras constituidas por células de inmunidad innata (granulomas innatos), aunque los mecanismos que conducen a este proceso aún no se han dilucidado. AC: adenilil ciclasa; CaM: calmodulina; AMPc: monofosfato de adenosina cíclico; GDP: difosfato de guanosina; GPCR: receptor acoplado a proteína G; GTP: trifosfato de guanosina; PKA: proteína quinasa A; ARNi, ARN de interferencia. Fuente: Tomado de (188).

En el laboratorio los hongos mutantes que carecen de calcineurina exhiben morfología levaduriforme y son menos virulentos, lo que hace que la calcineurina sea una diana atractiva para el tratamiento de las mucormicosis. La calcineurina, independientemente de su papel en la morfología de *Mucor*, es necesaria para la inhibición de la maduración de los fagosomas en los macrófagos, el daño al endotelio y la inducción de la expresión (en el huésped) del Factor de Crecimiento de Fibroblastos-2 (FGF-2), la cual es una proteína que promueve la angiogénesis (190).

4.2.5 Evasión de la respuesta inmune

Como se expuso en apartados anteriores, la invasión tisular por Mucorales está mediada por CotH, las cuales son proteínas de la superficie celular similares a las proteínas bacterianas del mismo nombre que están involucradas en la formación de la cubierta de esporas (180). Las proteínas fúngicas funcionan como invasinas que interactúan con receptores específicos del tipo de célula huésped, dependiendo del sitio de infección (176).

En el caso de sujetos con CAD, la mucormicosis rino-orbital-cerebral se debe probablemente a la interacción específica entre el receptor de la célula epitelial nasal (GRP78) y el hongo (CotH3), cuya expresión aumenta en presencia de factores del huésped presentes en la CAD. Por el contrario, la mucormicosis pulmonar se inicia a través de la interacción de esporas inhaladas que expresan CotH7 con el receptor de integrina $\beta 1$, que activa el EGFR para inducir la invasión fúngica de las células huésped (176).

Las esporas fúngicas deben superar el sistema inmunitario innato para germinar y desarrollar la forma angioinvasiva de infección (191). Una vez que las esporas superan las barreras físicas, los macrófagos y neutrófilos se reclutan rápidamente en el sitio de la infección, siendo la respuesta inmunitaria innata la primera barrera (192). La fagocitosis impide la germinación de las esporas en modelos animales, y el fracaso de esta respuesta inmunitaria temprana conduce a infecciones diseminadas, lo que indica la presencia de mecanismos asociados a las esporas para resistir el ataque (188,192).

Como respuesta a la fagocitosis, se da la remodelación de genes fúngicos relevantes enriqueciéndose en funciones cruciales, de modo que las esporas logren sobrevivir y germinar dentro del fagosoma, como la adaptación nutricional y la respuesta al estrés oxidativo. Se propone que *Mucor* spp. prosperan dentro de los macrófagos, aprovechando el pH ácido para inducir la germinación y el crecimiento de hifas (figura 20) (192).

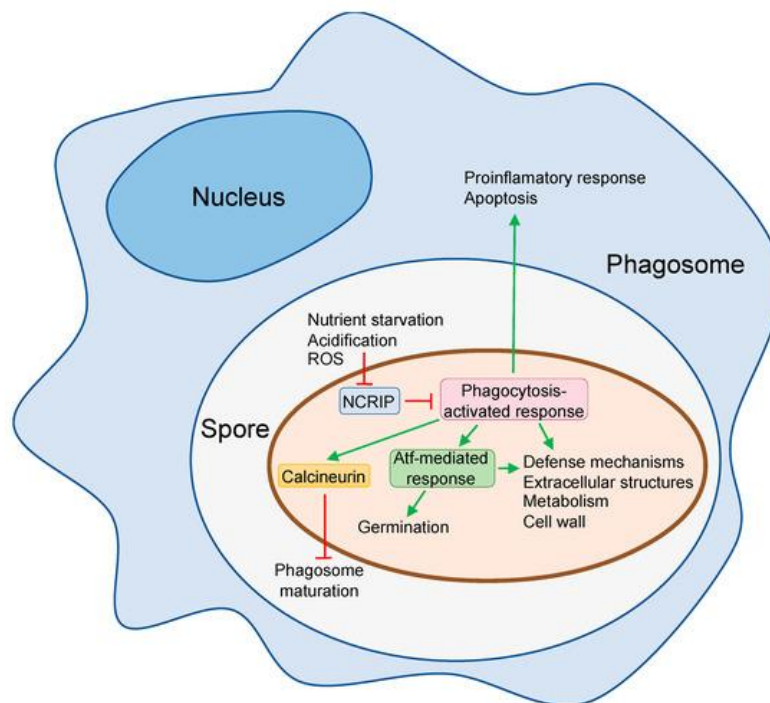


Figura 20. Mecanismos de *Mucor circinelloides* para escapar de la actividad fungistática de los macrófagos. Cuando las esporas de *M. circinelloides* son fagocitadas, se activa una respuesta génica compleja para sobrevivir al ataque de los macrófagos que abarca la expresión diferencial de genes involucrados en los mecanismos de defensa, las estructuras extracelulares, el metabolismo y la pared celular. Esta respuesta también regula al alza los factores de transcripción *atf1* y *atf2* que regulan la germinación a pH bajo y otros procesos involucrados en la respuesta a la fagocitosis. La vía de la calcineurina también se activa y promueve la detención de la maduración del fagosoma. La

respuesta de las esporas a la fagocitosis también comprende la activación de los genes de los macrófagos implicados en la apoptosis y la respuesta proinflamatoria. El NCRIP reprime la mayoría de los genes de la respuesta activada por fagocitosis en ausencia de macrófagos, lo que sugiere que algunas de las señales presentes en el fagosoma reprimen esta vía relacionada con el ARNi para permitir la activación de la respuesta de las esporas a la fagocitosis. Flecha verde, activación; T roja, represión. Fuente: Tomado de (29).

En un estudio de Pérez et al. (192), demostraron como la delección de genes fúngicos que codifican factores de transcripción putativos (*atf1*, *atf2* y *gcn4*), proteínas extracelulares (*chi1* y *pps1*) y una acuaporina (*aqp1*) desempeñan un papel importante en la supervivencia después de la fagocitosis, la germinación dentro del fagosoma y la virulencia en ratones. ATF1 y ATF2 juegan un papel importante en estos procesos patogénicos, ya que sus mutantes mostraron los fenotipos más fuertes y ambos genes controlan una compleja red de genes regulados secundariamente, incluidos Chi1 y AQP1. Tanto *atf1* como *atf2* son necesarios para germinar y desarrollar hifas cuando las esporas son engullidas por macrófagos, y la falta de cualquiera de ellos da como resultado una disminución crítica de la aptitud después de la fagocitosis, además, están implicados en la respuesta al estrés oxidativo y participan en el metabolismo de los macronutrientes (192).

En estudios realizados en ratones y en peces cebra, las cepas virulentas de *M. circinelloides* indujeron vías proapoptóticas en los macrófagos, lo que sugiere que la inducción de la apoptosis podría representar un mecanismo de virulencia clave en *Mucor* spp., además, en estudios en peces cebra, se ha visto que las esporas de *Mucor* spp. pueden causar una depleción robusta tanto de macrófagos como de neutrófilos del compartimiento hematopoyético (193). Por el contrario, *Rhizopus* spp. induce una respuesta de restricción de hierro en los macrófagos humanos, y su melanina detiene la maduración del fagosoma e inhibe las vías apoptóticas mediante la activación constitutiva de la señalización Akt/PI3K (194). Estas diferencias podrían explicar por qué las esporas virulentas de *Mucor* spp. pueden germinar y matar macrófagos sanos, mientras que las de *Rhizopus* spp. permanecen latentes y persisten dentro del fagosoma (182).

Las vías metabólicas de los macronutrientes están reguladas en gran medida en las esporas fagocitadas, lo que sugiere que *M. circinelloides* es capaz de cambiar hacia fuentes alternativas de nutrientes como consecuencia de la escasez de nutrientes dentro del fagosoma (195). Las esporas de *Mucor* spp. fagocitadas regulan al alza el gen GCN4, el cual es un homólogo putativo del gen de *Saccharomyces cerevisiae* que codifica el

activador transcripcional esencial de la biosíntesis de aminoácidos GCN4, lo que indica, que este gen podría estar orquestando este cambio metabólico que permite que las esporas de *Mucor* spp. germinen completamente dentro del fagosoma y escapen de la fagocitosis. De hecho, la delección de *gcn4* causa graves defectos de germinación y crecimiento en las esporas después de la fagocitosis, lo que tiene un impacto significativo en el desarrollo de mucormicosis en ratones (192).

Las esporas de *Mucor* spp. pueden germinar dentro del fagosoma, primero aumentando el diámetro de las esporas, seguida de una rápida elongación del tubo germinativo que da como resultado el crecimiento polar de hifas (189). Durante las etapas de crecimiento dentro del fagosoma, las funciones relacionadas con la pared celular y la biogénesis de la membrana se regulan al alza, lo que indica un papel crucial en la remodelación de la superficie celular para un rápido crecimiento polar dentro del fagosoma. Una delección del gen *aqp1* genera defectos en la germinación y desarrollo de las esporas dentro del fagosoma, lo que sugiere que el transporte de agua o pequeñas moléculas a través de la célula es esencial para que las esporas comiencen a hincharse en la etapa isométrica antes del crecimiento de las hifas (figura 20) (192).

En un modelo de pez cebra realizado por López et al. (193), se evidenció el reclutamiento de manera similar de macrófagos y neutrófilos independientemente de la virulencia y viabilidad de las esporangiosporas, lo que resultó en un agotamiento robusto de ambos tipos de células en el compartimento hematopoyético. Dicho modelo también reveló por primera vez la capacidad de la mucormicosis para inducir la apoptosis de los macrófagos reclutados, pero no de los neutrófilos.

4.2.6 Resistencia a azoles

Los azoles son compuestos heterocíclicos ampliamente utilizados para el tratamiento de infecciones fúngicas. Los azoles que contienen tres átomos de nitrógeno en su estructura cíclica se clasifican como triazoles. Este grupo incluye antifúngicos de uso frecuente como fluconazol, itraconazol, voriconazol, ravuconazol o posaconazol. El mecanismo de acción de los triazoles consiste en la inhibición de la lanosterol 14 α -desmetilasa dependiente del citocromo P450 (CYP), una enzima que cataliza la transformación del lanosterol en 4,4-dimetilcolesta-8,14,24-trienol en la vía para la producción de ergosterol (196).

La disminución del ergosterol es la causa de la actividad fungistática de estos fármacos por lo que se han convertido en medicamentos de primera línea para el tratamiento y la profilaxis de muchas micosis sistémicas (197). Sin embargo, a lo largo de los años se han reportado resistencia a los azoles, generando un problema de salud mundial debido a las altas tasas de mortalidad y morbilidad asociadas y a las crecientes dificultades en el tratamiento de las infecciones fúngicas, sobre todo en los casos de pacientes inmunocomprometidos (112)

Los Mucorales se caracterizan por un alto nivel de resistencia a la mayoría de los antifúngicos disponibles en la actualidad (198). La plasticidad genética de muchos de estos patógenos permite una adaptación relativamente rápida a los desafíos planteados por el sistema inmunitario del huésped y la terapia antifúngica, mientras que otros patógenos parecen tener resistencia innata a algunas clases de antifúngicos (199)

Las pruebas de susceptibilidad *in vitro* e *in vivo* contra Mucorales como *Lichtheimia* spp., *Rhizopus* spp. y *Mucor* spp. muestran una resistencia intrínseca al fluconazol y al voriconazol, ambos carentes de actividad *in vitro* significativa (200). Esta resistencia antifúngica en Mucorales puede deberse a una sustitución de aminoácidos conservada evolutivamente en lanosterol 14 α -desmetilasa, la enzima a la que se dirigen los fármacos azoles de cola corta como el voriconazol y el fluconazol (201).

Los Mucorales también poseen un mecanismo de resistencia basado en ARN de interferencia (ARNi), que silencia específicamente la expresión del gen al que se dirige el compuesto antifúngico, evitando la formación de un complejo diana-antifúngico que inhibe el crecimiento de las hifas (202).

En los Mucorales, las membranas celulares contienen ergosterol y tanto los azoles de cola media (por ejemplo, isavuconazol), como los de cola larga (pozaconazol) suelen ser tratamientos eficaces. Los Mucorales parecen tener un par de genes lanosterol 14 α -desmetilasa (LDM) codificados en genes CYP51 separados, lo que parece probable que uno o ambos genes LDM puedan conferir resistencia a los azoles de cola corta. Los mecanismos comunes de resistencia adquirida a los azoles involucran mutaciones puntuales de un solo nucleótido (nsSNP) que modifican la LDM y reducen su afinidad por uno o más tipos de triazoles. Por otro lado, el patrón de resistencia de Mucorales podría considerarse innato debido a una o más sustituciones de aminoácidos antiguos (199).

La resistencia innata a los azoles de cola corta, pero no de cola larga, en al menos seis especies de Mucorales parece estar mediada por la sustitución Y129F en el bucle entre las hélices B' y C', junto con una sustitución de una valina por una alanina en Helix I del sitio activo de LDM F5, pero no de LDM F1. Como ambas isoformas de LDM se expresan en presencia o ausencia de voriconazol, Caramalho et al. (199) propusieron que una sustitución Y129F de LDM F5 es la principal responsable de la resistencia innata a los azoles de cola corta observada en Mucorales.

CAPÍTULO 5. FORMAS CLÍNICAS DE LA MUCORMICOSIS

La mucormicosis se clasifica según el sitio anatómico de afectación, por lo que se cataloga en rino-orbito-cerebral (ROCM), pulmonar, gastrointestinal, cutánea/tejidos blandos, diseminada y otras formas misceláneas o raras, que incluyen infección renal, de huesos, corazón, oído, glándula parótida, útero, y ganglios linfáticos (3,118). El sitio primario de infección varía de acuerdo con la enfermedad subyacente de los pacientes y el género implicado (1).

En la figura 21 se ilustran los casos de mucormicosis descritos en diferentes estudios. En la misma se observa un predominio de casos de ROCM, seguido de mucormicosis pulmonar, diseminada y cutánea. En menor medida se observan manifestaciones gastrointestinales, renales y en otros sitios anatómicos. Sin embargo, hay que considerar la enfermedad subyacente de los pacientes (1), ya que por ejemplo, en una revisión realizada por Roden et al. (71) basada en 929 casos reportados de mucormicosis, la mucormicosis pulmonar fue la forma más frecuente de mucormicosis en pacientes con neoplasia hematológica maligna y trasplante de células madre hematopoyéticas, seguida de la infección de los senos paranasales; mientras que, la afectación de los senos paranasales en casos rinocerebrales, sinusales y sinoorbitarias constituyó la mayoría de las infecciones en pacientes con diabetes. En el caso de los pacientes que recibieron tratamiento con deferoxamina presentaron con mayor frecuencia mucormicosis generalizada diseminada, en comparación con otras categorías de huéspedes. La mucormicosis cerebral fue la presentación más frecuente en los consumidores de drogas vía parenteral.

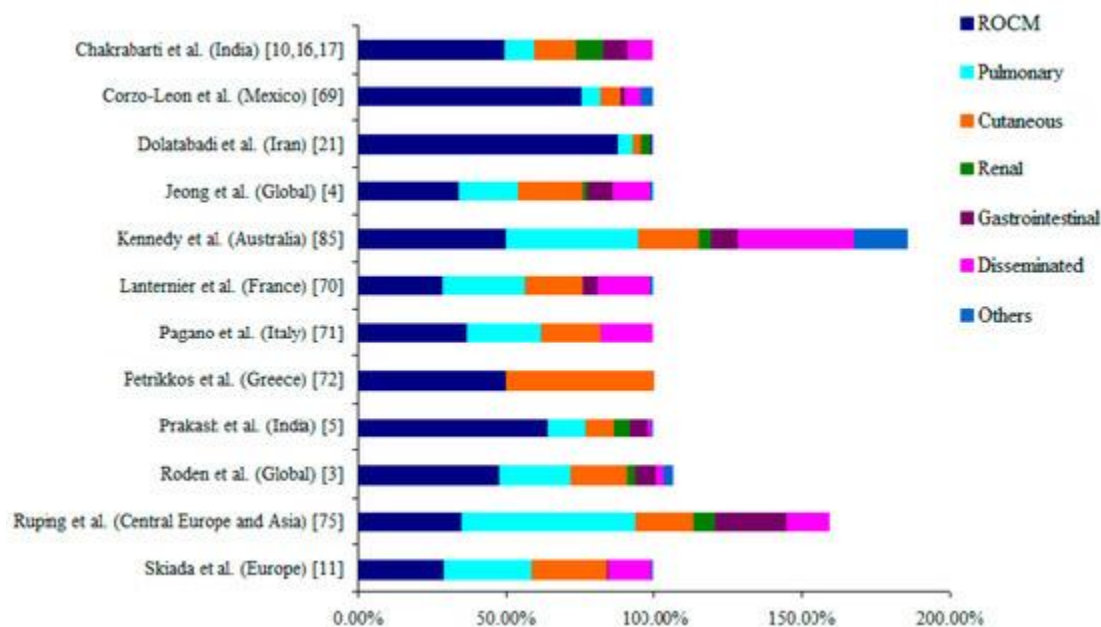


Figura 21. Formas clínicas de la mucormicosis reportadas en diferentes estudios. Fuente: Tomado de (3).

5.1 Mucormicosis rino-orbito-cerebral (ROCM)

La mucormicosis rinocerebral es la forma más común de mucormicosis (1,3,110) representando entre un tercio y la mitad de todos los casos (102). Afecta principalmente a los pacientes con diabetes mellitus (DM) no controlada o con cetoacidosis diabética (3,110). En varios estudios realizados se ha informado que el 88 % de los casos de ROCM en India tenían DM (203), mientras que un dato similar fue reportado en los Estados Unidos con un 83 % de los pacientes con DM (204). Sin embargo, el trasplante de órgano sólido, la terapia con corticoides, la enfermedad renal crónica, el uso de drogas intravenosas y las neoplasias hematológicas también se encontraron como factores de riesgo (1,3).

Esta infección se origina en los senos paranasales, tras la inhalación de esporas (1). Después de la germinación, el hongo puede extenderse rápidamente a los tejidos adyacentes como el paladar, los senos esfenoides, las órbitas y los senos cavernosos y, finalmente, al cerebro (1,205) a través del ápice orbitario y la placa cribiforme del hueso etmoides (206). La invasión del cerebro podría conducir a la incursión del vaso sanguíneo cerebral que acarrea la diseminación hematogena. Además, la enfermedad ocasionalmente puede convertirse en aneurismas micóticos cerebrales que conducen a la muerte del huésped (206).

La presentación clínica de la enfermedad se podría clasificar en varias etapas: fase inicial, progresión a fase avanzada, complicaciones oftalmológicas, invasión a estructuras adyacentes, manifestaciones neurológicas en fases avanzadas y otros signos y síntomas (1,37,102,207,208):

Fase inicial:

- Síntomas nasales inespecíficos.
- Congestión nasal unilateral persistente.
- Rinorrea inicialmente serosa que puede volverse purulenta y sanguinolenta.
- Dolor facial intenso y progresivo, localizado sobre todo en la región nasal y paranasal afectada.

Síntomas generales:

- Fiebre, que puede estar ausente en las primeras etapas, pero puede desarrollarse conforme avanza la infección.
- Malestar general, astenia y pérdida de apetito, atribuibles a la respuesta inflamatoria sistémica y a la toxicidad del hongo.

Progresión a fase avanzada:

- Hallazgos locales en la cavidad nasal y senos paranasales.
- Necrosis y esfacelación de la mucosa nasal, visible como costras negras debido a la invasión y destrucción tisular.
- Edema y eritema severo de la mucosa nasal.
- Ulceración y erosión de los tejidos nasales con posible exposición de estructuras óseas.

Complicaciones oftalmológicas:

- Dolor ocular severo y persistente.
- Proptosis (protrusión del globo ocular) secundaria a la invasión del hongo en la órbita.
- Diplopía (visión doble) y pérdida visual, indicativos de afectación del nervio óptico y de los músculos extraoculares.

Invasión a estructuras adyacentes:

- Extensión a los senos paranasales vecinos y al paladar duro.
- Posible invasión de la base del cráneo con riesgo de compromiso del sistema nervioso central.

Manifestaciones Neurológicas en Fases Avanzadas con Signos de Compromiso Neurológico:

- Cambios en el nivel de conciencia.
- Convulsiones.
- Déficits neurológicos focales como hemiparesia, afasia u otros síntomas dependiendo de la localización de la infección cerebral.

Otros Signos y Síntomas:

- Complicaciones sistémicas.
- Insuficiencia respiratoria en casos de extensión al sistema nervioso central y a la base del cráneo.
- Sepsis y shock séptico en situaciones de diseminación hematológica.

Petrikos et al. (209), mediante un análisis retrospectivo de todas las mucormicosis en un hospital de Grecia durante un período de 10 años, determinaron que, tras una inspección visual, el tejido infectado puede parecer normal durante las primeras etapas de propagación del hongo. Luego, el tejido infectado progresa a través de una fase eritematosa, con o sin edema, antes de la aparición de una apariencia violácea y, finalmente, el desarrollo de una escara negra y necrótica a medida que los vasos sanguíneos se trombosan y se produce un infarto tisular (figura 22) (209), signo preocupante de extensión local (1). La escara necrótica de color negro es característica de las mucormicosis, sin embargo, la ausencia de este hallazgo no es excluyente (110).



Figura 22. Mucormicosis cutánea y rinocerebral. (A) Mucormicosis cutánea primaria extensa de la pierna izquierda debido a *Apophysomyces variabilis*, después de un accidente automovilístico. (B) Piel eritematosa, ptosis, edema palpebral, motilidad ocular limitada y dolor maxilar derecho, seis días después del inicio de los síntomas en diabetes no controlada. (C) Proptosis, eritema palpebral y síndrome del seno cavernoso, 7 días después del inicio de los síntomas en diabetes no controlada. (D) Úlcera palatina necrótica, purulenta y síndrome del seno cavernoso, 8 días después del inicio de los síntomas en diabetes no controlada. (E) Mucormicosis rinoencefálica en una niña de dos años con leucemia linfoblástica aguda y desenlace letal. (F) Hombre de 52 años con neutropenia persistente después de quimioterapia, sinusitis y necrosis cutánea. (G) Escara negra como lesión cutánea típica en la mucormicosis. Fuente: Tomado de (61).

Hasta un 50 % de los casos de mucormicosis rinocerebral se diagnostican post mortem, motivo por el cual se requiere un alto grado de sospecha clínica para diagnosticar esta patología (102). Los síntomas oculares de la mucormicosis, como el edema facial, el dolor y la blefaroptosis, son similares a los de la celulitis orbitaria bacteriana (COB) poco después de la aparición de la infección. La COB se produce con más frecuencia que la ROCM, pero sus síntomas tempranos son similares, dificultando a los médicos identificar esta manifestación fúngica en un paciente con estos síntomas oculares, por lo que, el diagnóstico diferencial rápido es crucial para la prevención de la extensión a los tejidos orbitarios y cerebrales (210).

En un estudio retrospectivo de 14 casos de ROCM y 14 de COB, los autores encontraron que la limitación del músculo extraocular era más frecuente en los pacientes con ROCM, mientras que la hinchazón de los párpados ocurría con más frecuencia en los pacientes con

COB, por lo que, los investigadores concluyen que se debe considerar la ROCM cuando un paciente con sospecha de celulitis orbitaria presenta limitación del músculo extraocular sin párpados hinchados o engrosamiento de la mucosa sinusal en una tomografía computarizada (210). De igual manera, la destrucción ósea, la extensión a tejidos periorbitarios, intraorbitarios o intracraneales, así como la invasión vascular deben ser especialmente estudiadas, ya que pueden ser altamente sugestivos del diagnóstico en el contexto clínico apropiado (1,102).

Las técnicas de imagen como la tomografía computadorizada pueden ser sugestivas de mucormicosis, pero rara vez son diagnósticas, incluso la resonancia magnética puede aparecer normal en los pacientes con mucormicosis rinocerebral temprana. Dadas las limitaciones de la imagenología, el diagnóstico de la mucormicosis casi siempre requiere evidencia histopatológica de invasión fúngica de los tejidos. La biopsia debe mostrar los característicos elementos hifales anchos, en forma de cinta, aseptados que se ramifican en ángulo recto (102). Los agentes causales al ser ubicuos, se consideran contaminantes de laboratorio con mucha frecuencia, por lo que el cultivo rara vez es suficiente para establecer el diagnóstico de mucormicosis (211), además, la espera de los resultados del cultivo fúngico puede retrasar la instauración de la terapia adecuada (102).

5.2 Mucormicosis pulmonar

La mucormicosis pulmonar (MP) puede desarrollarse como resultado de la inhalación o por diseminación hematogena o linfática (102). El tipo pulmonar es el segundo sitio más común de afectación, se presenta con mayor frecuencia en pacientes con trastornos hematológicos (3) como los pacientes leucémicos que reciben quimioterapia o en pacientes sometidos a trasplantes de células madre hematopoyéticas y en pacientes neutropénicos (3,102). Entre los pacientes con neoplasias hematológicas malignas, se han identificado factores de riesgo clave como la neutropenia (80 %), seguida del uso de corticosteroides (26 %), trasplante de células madre hematopoyéticas (24 %), diabetes (18 %) y enfermedad de injerto contra huésped (1).

Las tasas de mortalidad global pueden llegar hasta un 76 % en pacientes con MP, siendo aún mayor en pacientes gravemente inmunodeprimidos (110), no obstante, en estudios recientes se han reportado tasas de mortalidad del 29 al 38 % (212).

Algunos síntomas de la presentación pulmonar son (1,3,102,207,208,212):

Síntomas Generales:

- Fiebre: Es frecuente y puede ser uno de los primeros signos de infección.
- Tos: Puede ser seca o productiva, a menudo con expectoración sanguinolenta debido a la invasión y destrucción del tejido pulmonar.
- Dolor torácico: Puede estar presente, especialmente si hay invasión pleural o formación de áreas necróticas dolorosas en el tejido pulmonar.

Síntomas Respiratorios:

- Disnea: Dificultad respiratoria progresiva, que puede ser leve al principio y luego aumentar a medida que la infección y la necrosis pulmonar avanzan.
- Sibilancias o crepitaciones: Pueden estar presentes en la auscultación pulmonar, dependiendo de la localización y extensión de las lesiones.

Manifestaciones Físicas y Hallazgos Clínicos:

- Hemoptisis: Tos con expectoración de sangre, que puede variar desde pequeñas cantidades hasta hemorragias masivas en casos graves. La hemoptisis puede ser causada por la invasión de las arterias pulmonares.
- Síntomas sistémicos: Incluyen fatiga intensa, pérdida de peso involuntaria, anorexia y malestar generalizado, reflejando la severidad de la infección y la respuesta inflamatoria sistémica.

Hallazgos Diagnósticos:

- Radiología: Los hallazgos en la radiografía de tórax pueden incluir infiltrados pulmonares que no responden a tratamientos antibióticos convencionales, lesiones nodulares, áreas de consolidación y cavidades (figura 23).
- Broncoscopia: Es útil para la visualización directa de lesiones mucorales en las vías respiratorias, como ulceraciones necróticas y tejido inflamatorio.

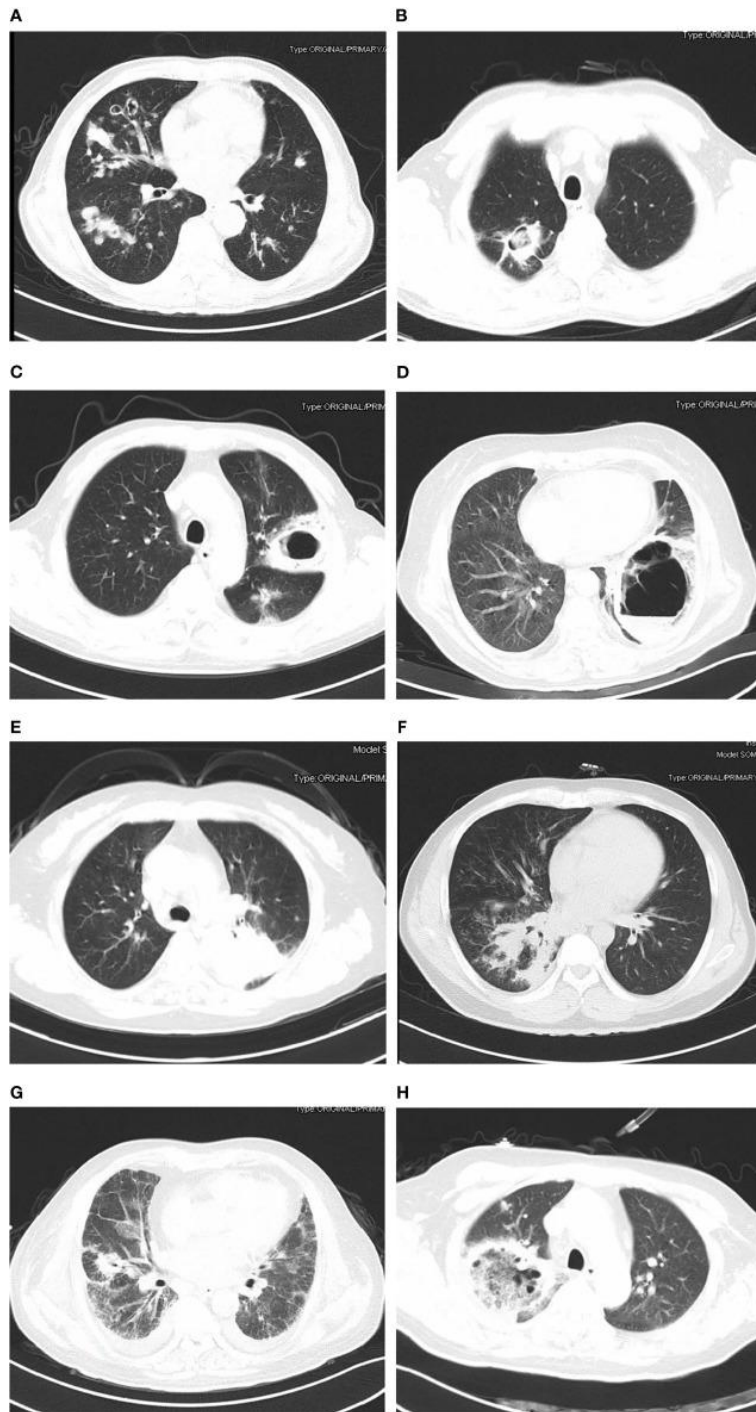


Figura 23. Hallazgos de la tomografía computarizada de tórax de la mucormicosis pulmonar. Pacientes con buena evolución: A, B; pacientes con peor evolución: C-H). (A) Múltiples lesiones pleomórficas en ambos pulmones; (B) cavidad con nódulo (*Mucor* coinfectado con *Aspergillus*); (C) cavidad en el pulmón izquierdo; (D) sombra de cavidad de paredes gruesas con nivel de gas-líquido (*Mucor* co-infectado con *Klebsiella pneumoniae*); (E) sombra de masa en el lóbulo superior del

pulmón izquierdo; (F) sombra irregular, nódulos y consolidación en el pulmón derecho; (G) opacidad de la cavidad y del vidrio esmerilado; (H) signo de halo invertido. Fuente: Tomado de (213).

El diagnóstico de la mucormicosis pulmonar sigue siendo un desafío (3), los estudios de imagen como la tomografía computarizada pueden ser inespecíficos (1,3,110,214). Por ejemplo, las primeras imágenes pueden mostrar la opacidad peribronquial en vidrio esmerilado. Más tarde, la enfermedad progresa a consolidación, nódulos o masas (214), enfermedad nodular y cavitación (102). Debido a que los pacientes suelen estar inmunocomprometidos, el diagnóstico diferencial a menudo incluye aspergilosis pulmonar invasiva (110,214), ya que comparten presentaciones clínicas y radiológicas similares, así como factores de riesgo del huésped (1).

Qu et al. (213) realizaron un estudio retrospectivo durante un período de 10 años (2010-2019) de los pacientes con mucormicosis en el oeste de China. La MP fue la manifestación clínica más frecuente con características diversas en la tomografía computarizada de tórax. Treinta pacientes (62.5 %) presentaron agrandamiento de los ganglios linfáticos, 28 pacientes (60.9 %) sombras irregulares, 25 (53.3 %) presentaron cavitación y 24 pacientes (52.2 %) nódulos. El agrandamiento de los ganglios linfáticos fue más frecuente en los pacientes con peor desenlace, ambos pulmones se vieron afectados en el 84.8 % de los pacientes, sin embargo, la MP generalmente es unilateral en el 62-75 % de los casos (3). Según los hallazgos basados en las imágenes, se sospechó que 12 pacientes tenían un tumor y que dos pacientes tenían aspergilosis en ausencia de *Aspergillus* spp. (213).

Se han identificado varios hallazgos radiológicos sugestivos de mucormicosis pulmonar para ayudar a diferenciarla de la aspergilosis pulmonar invasiva (API). Por ejemplo, el signo del halo inverso está más estrechamente asociado con MP que con API. El signo de halo inverso es un área de opacidad de vidrio esmerilado rodeada por un borde de consolidación. Además, la presencia de derrames pleurales y más de 10 nódulos es más sugestiva de MP que de API (1,214). En un estudio retrospectivo realizado por Jung et al. (215) en el que se compararon las tomografías computarizadas de 24 pacientes con MP y de 96 pacientes con API, se encontró que el signo de halo inverso era más frecuente en pacientes con MP (54 %) que en aquellos con aspergilosis (6 %), por lo que estos hallazgos pueden ayudar a los médicos a iniciar antes el tratamiento antifúngico.

5.3 Mucormicosis cutánea

Los pacientes que tienen un alto riesgo de desarrollar mucormicosis cutánea (MC) son aquellos con alteración de la barrera cutánea protectora normal, ya que los agentes de esta micosis suelen ser incapaces de penetrar en la piel intacta (102). Sin embargo, después de un traumatismo, quemadura o ruptura de la piel las esporas pueden penetrar en los tejidos más profundos (3,102,110,206).

Al ser una infección muy invasiva localmente puede penetrar desde los tejidos cutáneos y subcutáneos hacia la grasa, el músculo, la fascia e incluso el hueso adyacente. La invasión vascular secundaria también puede conducir a una infección hematógena diseminada de los órganos profundos (102). Por lo que, dependiendo de la extensión de la infección, la MC se clasifica como localizada cuando afecta solo a la piel o al tejido subcutáneo, extensión profunda cuando invade músculos, tendones o huesos y diseminada cuando afecta a otros órganos no contiguos (110,206,216).

En una revisión de 929 casos, la afectación cutánea fue la presentación clínica en 176 (19 %) pacientes. Se reportó traumatismo penetrante en 60 (34 %) de estos pacientes, vendajes en 26 (15 %), cirugía en 26 (15 %), quemaduras en 11 (6 %), accidente automovilístico en 5 (3 %) y caídas en 5 (3 %) (71). La mayoría de los casos se localizaron en el tegumento. Sin embargo, en 42 (24 %) pacientes se produjo una extensión profunda al hueso, un tendón o un músculo, y en 35 (20 %) se produjo diseminación hematógena de la piel a otros órganos no contiguos. La diseminación hematógena de otros órganos a la piel ocurrió raramente, solo en 6 casos (3 %). La mayoría de los pacientes con infección cutánea no eran neutropénicos o no tenían ninguna afección subyacente (71).

Skiada et al. (217) realizaron una revisión de casos de MC en 78 pacientes, en ésta se observó que el (43-67) % de pacientes eran aparentemente inmunocompetentes, mientras que los pacientes con diabetes mellitus (10-15 %) y trasplantados con órgano sólido (5-16 %) pueden adquirir ocasionalmente mucormicosis cutánea. En la mayoría de estos pacientes se reportaron antecedentes de rotura de la barrera cutánea como traumatismos (40 %), cirugía (15 %), uso de apósitos (15 %) o quemaduras (6 %) (1,35,36,152,218–220). Se describen casos de mucormicosis cutánea después de desastres naturales (tornado, tsunami, erupción volcánica) y lesiones por explosiones durante el combate (1,221,222). Una gran proporción de los traumatismos penetrantes son nosocomiales, en las que se ha

implicado el uso de agujas y catéteres intravenosos, así como el uso de cintas adhesivas e incluso moldes de yeso (217).

En el estudio retrospectivo RetroZygo, realizado por Lanternier et al. (67) en el cual se analizaron 101 casos de mucormicosis obtenidos en Francia entre 2005 y 2007, se observó que 20 pacientes presentaron manifestaciones cutáneas, con un tiempo transcurrido de una semana entre los primeros síntomas y el diagnóstico, el cual es significativamente más corto comparado con la localización rinocerebral (tres semanas), pulmonar (dos semanas) o diseminada (2.5 semanas). En dicho estudio, la proporción de pacientes en los que el cultivo fue positivo fue del 48 %, 68 % y 95 % para localización rinocerebral, pulmonar y cutánea, respectivamente, además, el traumatismo fue la tercera causa de mucormicosis.

En otro estudio de 230 casos de mucormicosis en Europa entre 2005 y 2007, las manifestaciones cutáneas se presentaron en 59 casos (26 %), 36 con presentación localizada y 23 con extensión profunda. El traumatismo estuvo presente en 39 pacientes, de los cuales 18 tenían traumatismos quirúrgicos y cuatro tenían diversas enfermedades subyacentes (linfoma no Hodgkin, sarcoma de Ewing, trasplante de órgano sólido y diabetes). Los 16 pacientes restantes eran inmunocompetentes y el traumatismo fue el único factor predisponente para la mucormicosis. Trece de estos pacientes fallecieron (223).

En una revisión de 693 casos de MC publicados desde 1958 hasta 2021, se determinó que la mayoría de las publicaciones procedían de América del Norte con 256 casos (36.9 %) y Asia con 216 casos (31.2 %). Los factores de riesgo más frecuentes fueron la diabetes mellitus (20 %) y las neoplasias hematológicas (15.7 %). Sin embargo, cerca del 40 % de los casos publicados no tenían ninguna enfermedad subyacente identificada. El modo de transmisión más frecuente fue el traumatismo con un total de 235 casos, de los cuales 104 fueron por accidentes automovilísticos, 47 por cirugía, 33 por quemaduras, 22 por desastres naturales y 117 casos por traumas menores; mientras que el 15,6 % de los incidentes fueron asociados a la asistencia sanitaria. En dicha revisión, 291 (42.5 %) pacientes tenían infección localizada y 90 (13 %) tenían mucormicosis diseminada. *Rhizopus* spp., fue el género más común en Europa, América del Norte y América del Sur, mientras que en Asia fue *Apophysomyces* spp. (34.7 %) (figura 24) (217).

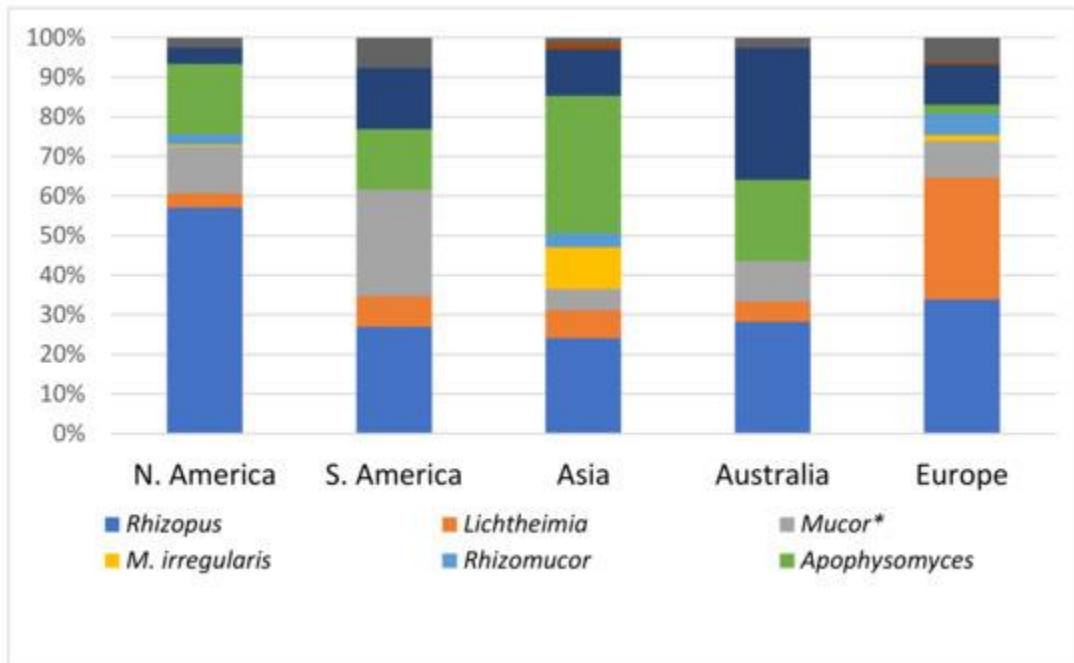


Figura 24. Distribución geográfica de los Mucorales causantes de mucormicosis cutánea. Fuente: Tomado de (217).

En la misma revisión, el 42.5 % de los pacientes tenían infecciones localizadas, el 44.5 % tenían extensión profunda de la enfermedad y el 13 % presentaron mucormicosis diseminada. En 67 casos de la enfermedad diseminada se consideró que el portal de entrada del hongo era la piel, mientras que, en 16 casos, la micosis se diseminó a la piel desde un órgano interno, principalmente desde el pulmón (217).

Las manifestaciones clínicas de la presentación cutánea pueden ser las siguientes (1,3,21,53,58,102,149,206,216,217,223):

Lesiones Cutáneas Necróticas:

- Inicialmente: La infección suele comenzar como una lesión cutánea que puede aparecer como una úlcera o vesícula.
- Progresión Rápida: Las lesiones tienden a progresar rápidamente a áreas de necrosis tisular, caracterizadas por tejido muerto y oscurecido (escaras necróticas).
- Localización: Las áreas más comúnmente afectadas incluyen la cara, particularmente alrededor de la nariz y los ojos, así como en extremidades y el tronco, especialmente donde puede haber trauma, heridas o cirugía reciente.

Edema y Eritema:

- **Inflamación:** Hay un marcado edema (hinchazón) en el área afectada debido a la respuesta inflamatoria del cuerpo a la infección.
- **Enrojecimiento:** El tejido alrededor de la lesión puede volverse rojo e inflamado (eritema) debido a la dilatación de los vasos sanguíneos y la infiltración de células inflamatorias.

Dolor Intenso:

- **Características:** Los pacientes suelen experimentar dolor severo y persistente en el sitio de la infección que no se alivia con analgésicos habituales.
- **Causas:** El dolor puede ser causado por la invasión del hongo en los tejidos, la inflamación local y la necrosis tisular.

Aspectos Clínicos Específicos:

- **Pústulas y vesículas:** En algunos casos, la infección puede comenzar como pústulas o vesículas que luego se transforman en úlceras necróticas.
- **Crecimiento rápido:** La rapidez con la que progresa la lesión es notable y puede ser alarmante para los pacientes y los médicos.
- **Olor fétido:** En casos avanzados, las lesiones pueden tener un olor desagradable debido a la descomposición del tejido necrótico.

En la revisión realizada por Skiada et al. (217) sobre mucormicosis cutánea global, se determinó que el 26 % de los casos se presentaron en las extremidades inferiores, el 23 % en extremidades superiores, 11 % en el abdomen, el 10 % en la cara y el resto de los casos se presentaron en otros sitios del cuerpo (figura 25).

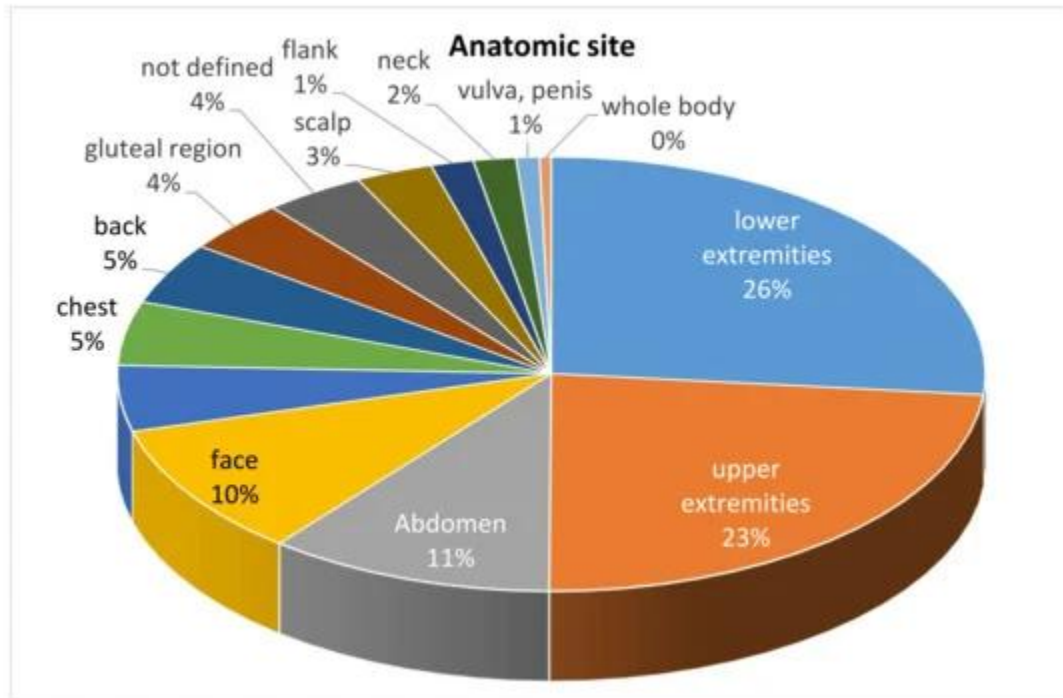


Figura 25. Sitio anatómico de la infección en mucormicosis cutánea. Fuente: Tomado de (217).

Algunas complicaciones de la MC pueden ser:

Complicaciones Potenciales:

- **Infección Sistémica:** En individuos inmunocomprometidos, la infección puede extenderse a estructuras más profundas como músculos, huesos y órganos internos.
- **Sepsis:** La diseminación sistémica del hongo puede llevar a una infección generalizada en la sangre (sepsis), que es potencialmente mortal si no se trata rápidamente.
- **Compromiso de Órganos:** Dependiendo de la localización y la extensión de la infección, puede haber implicaciones severas para la función de órganos como los pulmones, el corazón y el cerebro (1,3,21,53,58,102,149,206,216,217,223).

Es crucial diferenciar la mucormicosis cutánea de otras infecciones cutáneas y condiciones como la necrosis cutánea bacteriana, el herpes zóster necrotizante y otras micosis profundas (206).

5.4 Mucormicosis gastrointestinal

Durante muchos años, la mucormicosis gastrointestinal (MGI) fue bastante rara, especialmente en los países industrializados. Sin embargo, ha habido un aumento sustancial en el número de casos de mucormicosis gástrica y gastrointestinal (224). La MGI es una manifestación relativamente poco frecuente de la infección, representa entre el 4 % y el 7 % de todos los casos de mucormicosis (225), con una tasa de mortalidad de entre el 40 % y el 85 % (71), se observa con mayor frecuencia en el estómago (57.5 %), seguida del intestino delgado (10.3 %) y el colon (32.2 %) (224), con la presentación de hemorragia gastrointestinal y dolor abdominal con úlceras gástricas(226).

Los Mucorales ingresan principalmente al tracto gastrointestinal a través de la intubación nasogástrica, los depresores de la lengua de madera infectados y los alimentos contaminados, como la leche fermentada, los productos de pan deshidratado y las bebidas alcohólicas derivadas del maíz infectado (227). La MGI puede ser una infección primaria o una infección secundaria. La infección primaria está relacionada con la ingestión de alimentos contaminados o el uso de instrumentos contaminados, mientras que la infección secundaria es a través de la propagación de los hongos en formas diseminadas (225).

La MGI se observa principalmente en neonatos prematuros, a menudo en asociación con una enfermedad diseminada generalizada (3). Por ejemplo, la enterocolitis necrotizante se ha descrito en gran medida en neonatos prematuros y, más raramente, en adultos neutropénicos (228). El nacimiento prematuro es el principal factor de riesgo, aunque también se han implicado la desnutrición, la hiperglicemia, la acidosis, la asfixia, el uso de corticosteroides, la cirugía reciente, la instrumentación con sondas orogástricas o nasogástricas y la exposición a productos contaminados. Es probable que una combinación de deterioro de la integridad de la mucosa y un sistema inmunitario inmaduro contribuya al desarrollo de la infección (228).

Otros casos raros de mucormicosis gastrointestinal se describieron previamente en asociación con afecciones inmunosupresoras como el SIDA, el lupus eritematoso sistémico y el trasplante de órganos (1,3). Los casos de mucormicosis hepática también se han asociado con la ingestión de medicamentos a base de hierbas (53).

Los factores de riesgo comunes para la mucormicosis gastrointestinal en adultos incluyen diabetes, hemodiálisis/diálisis peritoneal, desnutrición, consumo de alcohol, terapia con corticosteroides y pacientes que se han sometido a trasplante de órganos (es decir, hígado,

riñón) o cirugía (226). Otro factor de riesgo potencial en pacientes inmunocompetentes son las infecciones por mucormicosis asociadas a la asistencia sanitaria secundarias al ingreso en la unidad de cuidados intensivos (UCI) o a la cirugía digestiva intestinal (152,226).

La MGI tiene un amplio espectro de manifestaciones clínicas, debido a que esta infección es aguda y rápidamente mortal, a menudo se diagnostica post mortem (102). Los síntomas son variados y dependen del sitio afectado:

- **Síntomas Gastrointestinales:** Los pacientes a menudo presentan dolor abdominal intenso y persistente, que puede ser localizado o difuso. Este dolor puede ser el resultado de la invasión del hongo en la pared intestinal, causando inflamación y necrosis localizada. Además del dolor, los pacientes pueden experimentar náuseas, vómitos y diarrea acuosa o sanguinolenta (1,3,58,71,110,205,206,223–228).
- **Hemorragia Gastrointestinal:** La mucormicosis gastrointestinal puede provocar erosión de los vasos sanguíneos en la mucosa intestinal, resultando en hemorragia. La presencia de sangre en las heces es un signo alarmante que indica una posible complicación grave y requiere evaluación y manejo inmediato (1,3,58,71,110,205,206,223–228).
- **Perforación Intestinal:** La invasión del hongo puede llevar a la perforación de la pared intestinal. Esto puede provocar peritonitis, un cuadro clínico que se manifiesta con dolor abdominal agudo, rigidez abdominal y signos de shock séptico. La perforación intestinal es una complicación grave que puede requerir intervención quirúrgica urgente (1,3,58,71,110,205,206,223–228).
- **Obstrucción Intestinal:** La formación de tejido inflamatorio y necrótico puede llevar a la obstrucción intestinal, caracterizada por distensión abdominal, ausencia de movimientos intestinales y dolor cólico. La obstrucción intestinal es una complicación seria que puede requerir manejo quirúrgico para aliviar la obstrucción y tratar la infección subyacente (1,3,58,71,110,205,206,223–228).
- **Fiebre y Sepsis:** La mucormicosis gastrointestinal puede desencadenar una respuesta inflamatoria sistémica severa, con fiebre alta, taquicardia y signos de sepsis. Los pacientes pueden desarrollar disfunción orgánica múltiple como resultado de la infección y la respuesta inmunitaria exacerbada (1,3,58,71,110,205,206,223–228).
- **Complicaciones Sistémicas:** Además de las complicaciones directas en el tracto gastrointestinal, la mucormicosis puede diseminarse a otros órganos como el

hígado, bazo y cerebro. Esto puede provocar abscesos y afectación multiorgánica, complicando aún más el manejo y el pronóstico del paciente (1,58,110,223–228)

En un estudio retrospectivo realizado por Jeong et al. (58) de 851 casos de mucormicosis, 72 pacientes tuvieron manifestaciones gastrointestinales principalmente en estómago, intestino/colon y hígado, con una mortalidad del 54 %. El trasplante de órganos sólidos, el trauma mayor y el trasplante de células madres hematopoyéticas fueron los factores predisponentes que tuvieron mayor significancia en la MGI. Los principales géneros de Mucorales causantes fueron *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., y *Rhizomucor* spp. (figura 26).

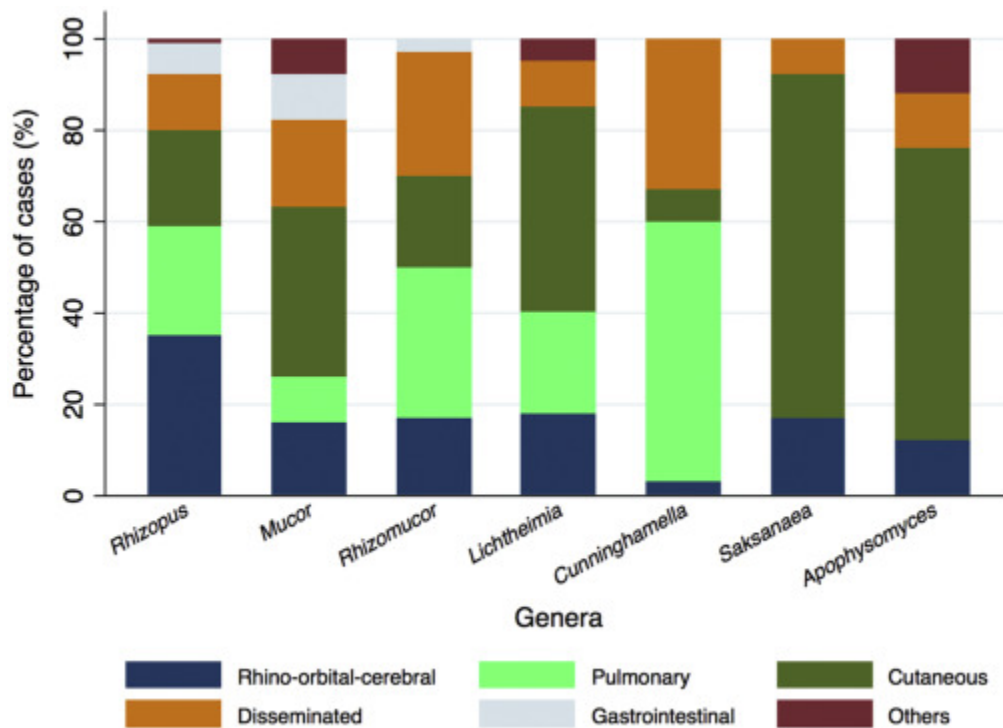


Figura 26. Género mucoral causante de las distintas manifestaciones de la mucormicosis. Fuente: Tomado de (58).

Roden et al. (71) realizaron otro estudio retrospectivo de 929 casos de mucormicosis, de los cuales 66 pacientes presentaron MGI con una mortalidad del 85 %, debido principalmente a la perforación intestinal. La tasa de diseminación a otros órganos no contiguos fue del 38 %, mientras que la infección se presentó predominantemente en lactantes de bajo peso al nacer, pacientes con diarrea y desnutrición, y pacientes que recibían diálisis peritoneal.

En otro estudio de casos realizado por Didehdar et al. (227) el cual se realizó con casos reportados desde el 2015 hasta el 2021, se observó que Asia es el continente con una mayor cantidad de casos reportados (57.6 %), seguido de América (30 %) y Europa (10 %). En total se identificaron 80 casos, diez fueron neonatos con una mortalidad del 70 % y 70 adultos con una mortalidad del 44 %. Ocho pacientes eran inmunocompetentes sin condiciones predisponentes y solamente un paciente de este grupo falleció. Las malignidades hematológicas se reportaron en el 21 % de los pacientes, mientras que la diabetes y el trasplante de órganos estuvo presente en el 24 % y 13 % de los pacientes respectivamente. Los pacientes que se sometieron a trasplante de órganos, desarrollaron síntomas de MGI a los 18.3 días en promedio. El 23 % de los pacientes presentaron afecciones adicionales como traumatismos (accidentes vehiculares, heridas en el abdomen por arma de fuego), abuso de alcohol y drogas, desnutrición, neutropenia transitoria inducida por penicilina, VIH e insuficiencia renal (227).

En los casos neonatales, solo se notificó un paciente neutropénico con leucemia linfoblástica aguda (LLA). Los recién nacidos prematuros y de bajo peso al nacer (tres casos), el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, el shock y la acidosis metabólica (tres casos), la desnutrición (un caso) y el ingreso en la UCI (un caso), se han identificado como factores de riesgo de mucormicosis gastrointestinal en pacientes neonatales. Por último, uno de los casos involucró a un neonato sano que carecía de factores de riesgo (227).

En dicho estudio la identificación a nivel de especie se logró solamente en el 31 % de todos los casos, siendo *Rhizopus* spp. los patógenos que se aislaron con mayor frecuencia (15 casos). En 49 casos el examen histopatológico (EH) fue suficiente para diagnosticar la MGI, en ocho casos se realizó cultivo y EH, y en cinco casos se realizó PCR y EH, mientras que otros cinco casos requirieron tres métodos diagnósticos (227).

El diagnóstico de la mucormicosis gastrointestinal suele ser tardío, ya que su presentación inespecífica requiere un alto grado de sospecha, lo que lleva al uso precoz del análisis de biopsia endoscópica (110,224). El diagnóstico definitivo de la mucormicosis gastrointestinal se realiza mediante EH, el estándar de oro para confirmar o descartar el diagnóstico. Las hifas Mucorales se utilizan para realizar diagnósticos citológicos de mucormicosis gastrointestinal (227).

5.5 Mucormicosis diseminada

La infección diseminada se define como una infección que afecta al menos a dos sitios no contiguos (1). Los Mucorales son hongos angioinvasivos que pueden diseminarse por vía hematológica, siendo el pulmón (91.2 %) el órgano más comúnmente asociado con la diseminación, seguido del sistema nervioso central (53 %) (3). La diseminación también se produce desde el tracto digestivo, quemaduras y lesiones cutáneas extensas, también se pueden encontrar lesiones metastásicas en el hígado, el bazo, el corazón y otros órganos (110).

En un estudio se notificó infección diseminada en 111/851 pacientes (13 %), con una mortalidad del 68 %. Sin embargo, no se describieron claramente los principales sitios desde los que se produjo la diseminación (58). En otro estudio prospectivo de 230 casos realizado en 13 países europeos entre 2005 y 2007, el 15 % de los pacientes presentaron enfermedad diseminada, con una mortalidad del 58 %. En este estudio, los sitios más comunes de infección fueron los pulmones, los senos paranasales, los tejidos blandos, el sistema nervioso central, el hígado y el riñón (223). Roden et al. (71) analizaron 929 de mucormicosis, de los cuales 25 casos presentaron diseminación, con un 100 % de mortalidad, sin embargo, este estudio abarcó casos desde 1895, período en el que no se contaba con los antifúngicos, tratamientos y diagnósticos como los de hoy en día.

Los receptores de trasplantes de órganos sólidos y los pacientes con neoplasias hematológicas malignas tienen un mayor riesgo de mucormicosis diseminada (58). Sin embargo, los pacientes con sobrecarga de hierro (especialmente aquellos que reciben deferoxamina) e inmunosupresión profunda (como los receptores de trasplante alogénico de células madre con enfermedad de injerto contra huésped tratada con corticosteroides o neutropenia prolongada) también son grupos de riesgo de mucormicosis diseminada (1). En los pacientes sometidos a trasplante de células madre hematopoyéticas, la mortalidad a un año es mayor al 95 % debido a una combinación de enfermedad subyacente, enfermedad de injerto contra huésped y la infección (229).

Se ha descrito una diseminación frecuente en el contexto de la profilaxis con voriconazol de pacientes trasplantados. En cinco series de casos recientes, se han presentado un total de 18 casos de mucormicosis diseminada en pacientes después de un trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas que recibían voriconazol de forma profiláctica o terapéutica para otras infecciones (102). El uso de voriconazol es común en el tratamiento

de la neutropenia y la fiebre persistente, en el tratamiento de pacientes de alto riesgo con neumonía y como profilaxis en pacientes que corren el riesgo de desarrollar infecciones fúngicas invasivas. El uso del voriconazol es atribuible a su menor toxicidad general, su facilidad de administración oral y su amplio espectro antifúngico, especialmente contra las especies de *Aspergillus* (230).

En un análisis llevado a cabo por Imhof et al. (231) 139 pacientes receptores de trasplantes de células madres recibieron voriconazol, de éstos, 13 pacientes desarrollaron infecciones fúngicas post-tratamiento, en los que, se encontraron Mucorales en seis pacientes como coinfección. Los pacientes recibían voriconazol por aspergilosis comprobada ($n=6$), probable ($n=2$), fusariosis ($n=1$) y profilaxis ($n=4$).

En otro estudio de casos realizado por Marty et al. (230) durante el período del 2002 al 2003, 124 pacientes se sometieron a trasplante de células madre hematopoyéticas. Durante este período, se diagnosticó mucormicosis en cuatro pacientes. El diagnóstico se realizó con una media de 125 días después del trasplante. Todos los pacientes habían recibido un diagnóstico de enfermedad de injerto contra huésped y estaban recibiendo tratamiento para la misma. El voriconazol se administró como profilaxis antimicótica y como tratamiento empírico. Con el diagnóstico de mucormicosis, se realizó el cambio a anfotericina B liposomal en dos casos, sin embargo, los cuatro pacientes fallecieron al cabo del tiempo.

Siwet *et al*, presentaron cuatro casos de pacientes receptores de trasplante de células madre hematopoyéticas, todos ellos recibieron esteroides para la presunta enfermedad injerto contra huésped y voriconazol como profilaxis, sin embargo, los cuatro pacientes fallecieron por mucormicosis pulmonar o diseminada (232).

Los Mucorales son resistentes al voriconazol *in vitro*, por lo tanto, la presión selectiva del uso prolongado de voriconazol o el aumento de la supervivencia entre los pacientes profundamente inmunodeprimidos, pueden explicar el aumento de la frecuencia de mucormicosis entre los pacientes que siguen teniendo un alto riesgo de infecciones fúngicas invasivas (230). El voriconazol tiene una amplia actividad contra *Aspergillus*, *Candida* y *Scedosporium* spp. y los hongos dematiáceos, pero no tiene actividad clínicamente relevante contra los agentes de la mucormicosis. Por lo que, es posible que la predisposición a las mucormicosis se deba a la inhibición selectiva de otros hongos, lo que permite que los agentes de la mucormicosis colonicen al paciente. Además, también es posible que el voriconazol esté previniendo las infecciones mortales de aparición temprana

causadas por otras especies de hongos (es decir, *Candida* y *Aspergillus*), lo que permite que los pacientes altamente inmunocomprometidos, que en el pasado habrían muerto antes después del trasplante, vivan lo suficiente como para infectarse con los agentes de la mucormicosis (102).

Los síntomas y la evolución de la mucormicosis diseminada varían ampliamente, así como la localización y el grado de invasión vascular e infarto tisular en los órganos afectados. Por lo que, la presentación variable de la mucormicosis diseminada requiere un alto índice de sospecha que permita un diagnóstico precoz (110).

Síntomas Sistémicos y Generales

- Fiebre: Común en la mayoría de los pacientes, a menudo resistente a los antitérmicos.
- Malestar general: Los pacientes pueden experimentar fatiga severa y debilidad (1,3,58,71,110,205,206,223–228).

Manifestaciones Cutáneas

- Lesiones cutáneas: Pueden presentarse como úlceras necróticas, pápulas o nódulos. Estas lesiones suelen ser dolorosas y pueden tener una coloración negra o violácea.
- Eritema y edema: En áreas periféricas, puede haber enrojecimiento e hinchazón que progresan rápidamente (1,3,58,71,110,205,206,223–228).

Síntomas Respiratorios

- Tos persistente: Puede ser seca o productiva.
- Dificultad para respirar: La disnea puede desarrollarse a medida que la infección se disemina a los pulmones.
- Hemoptisis: En casos graves, puede haber tos con sangre (1,3,58,71,110,205,206,223–228).

Manifestaciones Neurológicas

- Dolores de cabeza: Severos y persistentes, a menudo resistentes a tratamiento.
- Cambios en el estado mental: Pueden incluir confusión, somnolencia o alteraciones del nivel de conciencia.

- Déficit neurológicos focales: Tales como debilidad en extremidades o déficit sensoriales (1,3,58,71,110,205,206,223–228).

Síntomas Gastrointestinales

- Dolor abdominal: Puede ser difuso o localizado.
- Náuseas y vómitos: No infrecuente en el contexto de la infección diseminada.
- Diarrea: En algunos casos, puede estar presente (1,3,58,71,110,205,206,223–228).

Manifestaciones Oculares

- Exoftalmos: Protrusión de los ojos debido a la invasión de los tejidos orbitales.
- Diplopía: Visión doble resultante de la afectación de los músculos o nervios oculares.
- Pérdida de visión: Puede ser parcial o total dependiendo del grado de afectación (1,3,58,71,110,205,206,223–228).

Afecciones Cardiovasculares

- Endocarditis: Aunque menos común, puede haber afectación del revestimiento del corazón.
- Insuficiencia cardíaca: Puede ser secundaria a la diseminación sistémica y el compromiso orgánico (1,3,58,71,110,205,206,223–228).

El diagnóstico de esta manifestación es difícil, porque los pacientes suelen estar gravemente enfermos por múltiples enfermedades y casi siempre tienen hemocultivos negativos. Si hay evidencia de infarto en múltiples órganos, se debe considerar el diagnóstico de mucormicosis, no obstante, la aspergilosis se asocia comúnmente con un cuadro clínico idéntico. Cuando se sospecha de mucormicosis diseminada, se debe realizar una búsqueda cuidadosa de lesiones cutáneas que puedan ser biopsiadas con fines diagnósticos (102), ya que una lesión cutánea metastásica es un sello distintivo importante en el diagnóstico precoz (110). Por su parte Serris et al. (1) recomiendan realizar una estadificación sistemática de la infección con resonancia magnética cerebral y tomografía computarizada de senos paranasales-toracoabdominales para diagnosticar mucormicosis diseminada.

5.6 Presentaciones poco comunes

Algunas presentaciones menos comunes o inusuales de mucormicosis incluyen endocarditis, osteomielitis, peritonitis y pielonefritis (1,53,118). La mucormicosis es una causa rara de endocarditis, cuyos factores de riesgo son el uso de drogas intravenosas, inmunosupresión, de factores asociados a la asistencia sanitaria como la contaminación de instrumentación o prótesis implantadas, enfermedades hematológicas, entre otros (1,110,233–236) . Esta presentación ocurre principalmente en o alrededor de las válvulas protésicas y puede causar trombosis aórtica (110).

Las manifestaciones de la endocarditis incluyen insuficiencia cardiaca, infarto de miocardio, congestión cardiaca, enfermedad del sistema de conducción, insuficiencia valvular y pericarditis. El desarrollo de tales fenómenos en presencia de síndrome febril y presencia de factores predisponentes se deberá considerar esta enfermedad e iniciar rápidamente estrategias de tratamiento. La ruptura de cuerdas tendinosas puede llevar a choque cardiogénico y endocarditis valvular pulmonar, además, el aneurisma micótico con extensión al árbol pulmonar ha sido reportado en pacientes adultos (235,237).

Los Mucorales tienen la capacidad de ocasionar trombosis en las pequeñas arterias y venas miocárdicas con múltiples sitios de infarto; así como trombosis fúngica mural. La miocarditis puede ser ordinaria o de tipo fulminante y esta última se caracteriza por una notable inflamación de inicio súbito de insuficiencia cardiaca y gran compromiso hemodinámico (235)

La osteomielitis fúngica se considera una enfermedad rara y a menudo se pasa por alto a la hora de elaborar el diagnóstico diferencial, los síntomas suelen ser subagudos e imitan a los de otras etiologías, lo que puede provocar retrasos sustanciales en el tratamiento (238). La osteomielitis generalmente ocurre después de una inoculación traumática o una intervención quirúrgica como la colocación de un clavo tibial y reparación del ligamento cruzado anterior (1,110). El hongo puede diseminarse de manera progresiva y agresiva, con compromiso de los tejidos blandos, ocasionando destrucción ósea que puede dar lugar a la amputación de extremidades (239).

El compromiso osteoarticular es una rara forma de presentación de esta enfermedad, que puede involucrar huesos y articulaciones; el sitio comprometido está estrechamente relacionado con el mecanismo de la infección. Los huesos largos pueden estar afectados

luego de un traumatismo o cirugía o puede afectar a muchos huesos después de una diseminación hematológica (240).

En una revisión sistemática realizada por Taj-Aldeen et al. (241) que incluyó trabajos desde 1978 al 2014, sólo 34 casos fueron publicados, 14 (41 %) de esos casos habían sido operados previamente, 12 (35 %) eran pacientes inmunocomprometidos y 7 (21 %) sufrieron traumatismo. El principal mecanismo de infección fue la inoculación directa con 19 (56 %) casos, mientras que en el caso de los pacientes inmunocomprometidos la diseminación fue hematológica, especialmente en pacientes con neoplasias hematológicas malignas o inmunocomprometidas de otro modo.

Los Mucorales más comunes causantes de infecciones óseas y articulares fueron las especies de *Rhizopus* (15 casos), seguido de *A. elegans* (cuatro casos), *Mucor* (tres casos), *C. bertholletiae* (dos casos) y un caso para *L. corymbifera* y *S. vasiformis*. Los padecimientos subyacentes identificadas para la mayoría de los pacientes incluyeron cirugía previa (41 %), traumatismo (21 %), corticosteroides (21 %) y diabetes mellitus (18 %). Las manifestaciones clínicas más frecuentemente reportadas fueron restricción de movimientos (62 %), dolor local, dolor a la palpación y/o hinchazón (59 %) y celulitis/absceso (24 %). El diagnóstico definitivo de mucormicosis osteoarticular presentó una mediana de 60 días desde el inicio de los síntomas y signos, lo que se pudo deber a la escasez de fiebre en la mayoría de los casos (241).

En el 2023, Asperges et al. (238) realizaron una revisión sistemática de casos de pacientes diagnosticados con osteomielitis fúngica. Se incluyeron 678 estudios, en su mayoría informes de casos, con un análisis descriptivo de 1072 pacientes. El agente etiológico más frecuente fue *Aspergillus* spp. (26.5 %), seguido de *Candida* spp. (20.7 %) y *Mucor* spp. (16.8 %). Los cuatro factores de riesgo más frecuentes en el caso de los Mucorales fueron la cirugía/lesión local con 63 casos, la diabetes mellitus (142 casos), inmunosupresión (40 casos) y enfermedades oncohematológicas (36 casos). Los principales huesos afectados fueron el esplanocráneo en 190 casos, seguido de las extremidades (no pie) con 23 casos, basicráneo (22 casos) y otros huesos del cráneo (22 casos).

El éxito terapéutico de la mucormicosis osteoarticular depende del diagnóstico precoz, el agente etiológico, la gravedad de la infección, los factores subyacentes del huésped, las comorbilidades, así como el tipo y la localización del hueso infectado (241). La resonancia magnética es la técnica de imagen de referencia. Las muestras de tejido obtenidas como

aspirados, biopsia guiada por imágenes o cirugía abierta necesitan estudios micológicos e histopatológicos para la identificación de géneros y especies (242). Las estrategias de tratamiento multimodal combinan el desbridamiento quirúrgico, el drenaje de articulaciones o abscesos, la extirpación de articulaciones protésicas infectadas y antifúngicos sistémicos (239–242)

Otras formas menos comunes de mucormicosis incluyen la pielonefritis (1), la cual se ha descrito en usuarios de drogas intravenosas, así como en receptores de trasplantes renales en países en desarrollo con climas cálidos como India, Egipto, Arabia Saudita, Kuwait y Singapur (110). Varios estudios realizados en la India documentaron el aumento de pacientes con mucormicosis renal aislada del 5.4 % al 14 % entre todos los casos de mucormicosis (3). La afectación renal, se ha descrito hasta en el 20 – 22 % de los casos con formas diseminadas (243,244).

El mecanismo exacto de la mucormicosis renal aún no está claro; sin embargo, se ha sugerido una diseminación retrógrada desde la infección del tracto urinario inferior y la diseminación de la sangre a los riñones (245). La capacidad angioinvasiva de estos hongos provoca trombosis vascular y necrosis isquémica del riñón relacionada. Además, estos agentes fúngicos también podrían invadir los túbulos, los glomérulos y el parénquima, además, de los vasos renales (244), a veces con reacción de células gigantes asociada y formación de granulomas (246). En conjunto, la necrosis medular y cortical conduce a insuficiencia renal y daño renal irreversible (244).

Prakash et al. (247) realizaron un estudio entre enero 2013 y diciembre 2015 en varias regiones de la India. Los pacientes tenían mucormicosis comprobada y probable. Durante el período de estudio se registraron 388 casos, de los cuales 21 (5.4 %) casos presentaron infección renal. En este estudio se observó un número significativo de mucormicosis renal aislada en huéspedes aparentemente inmunocompetentes.

En una revisión de Didehdar et al. (244) se analizaron datos a través de PubMed desde el 1 de enero del 2010 hasta el 29 de abril de 2022. Se incluyeron 60 casos en el estudio, la mayoría de estuvo en India (30 casos), seguido de Estados Unidos (9 casos), China (4 casos), Japón (3 casos). El continente asiático presentó el 70 % de los casos, el continente americano el 15 % y Europa el 10 %. En dicho estudio se determinó que el 18 % de los pacientes presentaron trastornos sanguíneos, el 27 % tuvo terapia inmunosupresora, el 20

% fue trasplantado de riñón o hígado, el 18 % eran diabéticos y el 14 % había recibido quimioterapia.

Las manifestaciones clínicas de los pacientes fueron: fiebre (73 %, 44/60), dolor en el flanco (puede ser unilateral o bilateral dependiendo de la extensión de la enfermedad) (57 %, 34/60), oliguria 17 % (10/60), hematuria (12 %, 7/60), piuria 10 % (6/60), anuria 8 % (5/60) y disuria 5 % (3/60). Los agentes causales que se lograron identificar fueron en su mayoría *Rhizopus* spp. (nueve casos), seguido de *A. elegans* (cinco casos). El análisis realizado por los investigadores mostró una tasa de mortalidad del 44 % (244).

En otro análisis retrospectivo de casos de mucormicosis renal bilateral en un hospital de la India, se analizaron 10 casos identificados durante el 2009 al 2016. Se excluyeron los pacientes con condiciones predisponentes subyacentes para la infección por Mucorales, como diabetes mellitus, infección por el virus de la inmunodeficiencia humana, uso de esteroides o inmunosupresores y enfermedad de inmunodeficiencia conocida. La mayoría de casos fueron tratados inicialmente como pielonefritis bacteriana con lesión renal aguda. Los pacientes presentaron fiebre, dolor en el flanco, sepsis y lesión renal aguda. Seis pacientes eran oligúricos y dependientes de diálisis, mientras que los cuatro restantes presentaban insuficiencia renal no oligúrica. Los agentes fúngicos se identificaron en tres pacientes como *A. elegans* y en tres como *Rhizopus* spp., la mortalidad fue del 40 % (248).

En una revisión realizada en 13 niños menores de 14 años que presentaron mucormicosis renal, la mayoría (11/13; 85 %) presentó fiebre, dolor en el costado o abdominal (13/9; 69 %), masa en el flanco (2/13; 15 %) y síntomas urinarios como hematuria y piuria (7/13; 54 %). Cuatro niños presentaron características de insuficiencia renal aguda y cinco niños fallecieron. Los posibles factores de riesgo de mortalidad incluyen la enfermedad bilateral (presente en cuatro niños), la presencia de un estado inmunocomprometido subyacente y el tratamiento con modalidades no quirúrgicas (243).

En pacientes con antecedentes sugestivos de infección del tracto urinario, con síntomas como dolor en el flanco, hematuria macroscópica o piuria, lesión renal aguda (anuria) y riñones agrandados en la ecografía, se debe sospechar de mucormicosis (249).

La tomografía computarizada (TC) y la ecografía son útiles en el diagnóstico temprano de la mucormicosis renal. La tomografía computarizada de abdomen muestra riñones agrandados bilateralmente con engrosamiento de la pelvis renal, infarto en el parénquima (3,243), otros hallazgos son múltiples atenuaciones bajas y áreas sin realce en el

parénquima, excreción de contraste reducida/ausente y colecciones perinefricas. Varios autores han descrito estos hallazgos en la TC como "nefrograma parcheado difuso". Ante la presencia de hallazgos radiológicos sospechosos, se indica una biopsia para confirmar el diagnóstico (248). La evidencia histopatológica de invasión fúngica de los tejidos se logra mediante nefrectomía, ecografía y/o biopsia/aspiración con aguja guiada por TC y citología del líquido perirrenal (245). El tratamiento incluye drenaje quirúrgico completo o nefrectomía y terapia antimicótica sistémica (243–246,248).

CAPÍTULO 6. INMUNOLOGÍA DE LA MUCORMICOSIS

El sistema inmune ha evolucionado para proteger al cuerpo de microorganismos patógenos como virus, bacterias, hongos y parásitos capaces de generar enfermedad. Para hacerlo, ha desarrollado varios mecanismos de defensa que reconocen y protegen al anfitrión frente a posibles invasores (250). El sistema inmune es la herramienta fisiológica formada por un conjunto de moléculas, células y tejidos que nos defienden de las agresiones causadas por los patógenos o los tumores (251). Las respuestas inmunitarias varían en función del microorganismo patógeno, ya que estos se presentan de maneras muy diversas con diferentes rutas de transmisión y ciclos reproductivos (250).

Las esporas de hongos viajan como aerosoles fácilmente y pueden entrar en el organismo humano a través de la inhalación, la inoculación local o la ingestión a través del tracto gastrointestinal. Independientemente del punto de entrada, el establecimiento de los hongos y el desarrollo de las mucormicosis requieren ciertos pasos críticos (252), como:

1. Inoculación de esporas en el tejido del huésped (piel, alveolos, según sitio de entrada).
2. Evasión de la fagocitosis por macrófagos y neutrófilos.
3. Germinación en forma de hifas (forma angioinvasiva).
4. Incremento de crecimiento y virulencia tomando ventaja de las condiciones individuales del hospedero (como diabetes, CAD, sobrecarga de hierro, neutropenia funcional o cuantitativa).
5. Adhesión al endotelio por medio de receptores específicos, con inducción de endocitosis y daño endotelial.
6. Aparición de enfermedad clínicamente aparente a través de hemorragia, trombosis y necrosis tisular.
7. Entrada en circulación con diseminación hematógena lo que conduce a enfermedad sistémica y afectación multiorgánica (253).

6.1 Sistema Inmune Innato

Las primeras defensas con las que se enfrentan los agentes externos al intentar penetrar en el organismo son totalmente inespecíficas y están constituidas por las barreras anatómicas, de índole física, química o biológica características de cada localización, mientras que algunas, como la temperatura, son sistémicas. Entre todas conforman la

inmunidad innata, y aunque se la denomina inespecífica, algunos de sus elementos son capaces de discriminar lo propio de lo ajeno y actuar de forma rápida frente a los segundos (254), sin embargo, posee una especificidad limitada, es decir, distingue estructuras comunes a grupos de microorganismos pudiendo no distinguir diferencias finas entre ellos (255).

El sistema inmune innato representa la primera línea de defensa y es el encargado de realizar respuestas rápidas y eficientes frente a los patógenos. Proporciona al sistema adaptativo el tiempo necesario para activarse, expandirse y seleccionar la mejor defensa para terminar con ellos (251).

Para realizar su función defensiva, el sistema inmune innato se ayuda de un conjunto de células especializadas como los granulocitos que incluyen a los neutrófilos, principales defensores frente a patógenos como bacterias y hongos, incluye además a los eosinófilos y basófilos, que nos protegen de parásitos no fagocitables y helmintos. Los monocitos, macrófagos y células dendríticas destruyen microorganismos y los procesan presentándoselos al sistema adaptativo, mientras que las células *natural killer* (NK) son las encargadas de eliminar células tumorales o infectadas por virus (251).

Hay otros mecanismos y elementos que componen la inmunidad innata:

1. Barreras físicas, químicas y biológicas: tales como, la piel, las mucosas, la microbiota autóctona (intestinal, vaginal, etc.) y diferentes enzimas presentes en las secreciones corporales como la lisozima y la lactoperoxidasa, entre otros (256).
2. Factores solubles: cuyos principales componentes son el complemento, las proteínas de inflamación y las citoquinas (254).

Los Mucorales tienen la capacidad de penetrar en las barreras físicas y su habilidad para establecer la enfermedad en el hospedero humano empieza con el fallo del sistema inmune innato para matar las esporas fúngicas y detener la germinación del hongo, limitando la expansión de la enfermedad (257).

6.1.1 Barreras primarias: Mucosas y piel

La piel intacta funciona como barrera mecánica que impide la entrada de las esporas de los Mucorales constituyendo un importante mecanismo de defensa contra las infecciones de estos y otros microorganismos. La ruptura de la barrera cutánea por quemaduras o lesiones

traumáticas locales se ha reconocido como un factor de riesgo común para el desarrollo de mucormicosis (23).

Hay varias publicaciones que implican agentes Mucorales causantes de infecciones cutáneas, como las ocasionadas en el tornado de Joplin, Missouri en 2011. En este desastre natural se identificaron 13 casos de pacientes con lesiones necrotizantes ocasionadas por *A. trapeziformis* (221). Así mismo, dichos hongos se han identificado en lesiones de combate (222), pacientes con quemaduras (258) y accidentes automovilísticos (218). En estos entornos, las lesiones a menudo ocurren como resultado de fuerzas naturales extremas o explosiones que resultan en implantación tisular de esporas de hongos a partir de fuentes ambientales (23).

La inoculación traumática del patógeno del suelo es el modo más común de adquisición de la infección. Otros modos de entrada incluyen quemaduras, cirugía, catéteres arteriales, inyecciones y biopsias, tatuajes y picaduras de insectos (219). Otro tipo de infecciones se han atribuido a apósitos de heridas, vendajes, dispositivos médicos contaminados, procedimientos como la inyección intramuscular o debido a la contaminación del quirófano (220,259).

La primera línea de defensa contra los Mucorales son las células epiteliales que se encuentran en los sitios iniciales de infección, como los epitelios de la piel y los alvéolos (162,260). Las células epiteliales pulmonares se encuentran entre las primeras células del huésped que interactúan con las esporas de los Mucorales durante la infección pulmonar (177) siendo el tracto respiratorio el sitio de entrada más frecuente (261).

Los seres humanos respiramos de 10 a 15 m³ de aire por día, el cual pasa a través del tracto respiratorio superior donde se da el atrapamiento mecánico de las partículas (262). Las esporangiosporas con diámetros de 3 a 11 µm se aerosolizan y se dispersan fácilmente por todo el medio ambiente, sin embargo, estas se inhalan y se eliminan continuamente por transporte mucociliar (73).

El epitelio de la vía respiratoria funge como barrera anatómica, pero además contribuye con el equilibrio inmunológico necesario para controlar la invasividad de los hongos al tiempo que previenen la hipersensibilidad, la hiperinflamación y el daño tisular excesivo (263).

Los pacientes que presentan daño epitelial que se extiende a la membrana basal y expone proteínas de la matriz extracelular tienen mayor riesgo de mucormicosis invasiva. Se ha demostrado que las esporas en reposo de *R. arrhizus* se adhieren a las proteínas de la

membrana basal como la laminina y el colágeno tipo IV (260). Tras la adhesión a estas proteínas, las esporas germinan e invaden las células del huésped (264).

Las células epiteliales de las vías respiratorias infectadas liberan una amplia gama de péptidos, enzimas y citocinas antimicrobianas y, por lo tanto, contribuyen tanto a la eliminación de hongos como a la orquestación de su microambiente a través de la señalización de citocinas (263).

La proteína 78 regulada por glucosa (GRP78) es un receptor del huésped que media la invasión y el daño de las células endoteliales humanas por *R. arrhizus*, que es la especie etiológica más común de los Mucorales. En un estudio realizado por Liu et al. (162) se observó que las concentraciones elevadas de glucosa y hierro, consistentes con las observadas durante la CAD, aumentaron o mejoraron la expresión de GRP78, lo que resultó en un aumento de la endocitosis de *R. arrhizus* con la consiguiente invasión de este hongo y el daño de las células endoteliales de una manera dependiente del receptor.

Esta proteína de 78kDa, es una chaperona del retículo endoplásmico de varios tejidos, incluidas las células epiteliales bronquiales y el endotelio (265) y tiene como principal función asegurar el ensamblaje adecuado y organizar la estructura terciaria de las proteínas, regular la homeostasis del Ca²⁺ y evitar la agregación de proteínas no plegadas o mal plegadas por medio del marcaje para la degradación en el proteasoma. Las chaperonas tienen relación con el síndrome metabólico, ya que disminuyen el estrés del retículo endoplásmico y aumentan la sensibilidad a la insulina (176).

La susceptibilidad única de los sujetos con CAD a la mucormicosis rino-orbital-cerebral se debe probablemente a la interacción específica entre el receptor de la célula epitelial nasal (GRP78) y el CotH3 del hongo, cuya expresión aumenta en presencia de factores del huésped presentes en la CAD (176).

En un estudio murino realizado por Gebremariam et al. (266) se observó que la acidosis debida al β -hidroxibutirato (un representante de los cuerpos cetónicos) y los niveles elevados de hierro sérico fueron los principales factores que mejoraron la expresión tanto de CotH como de GRP78, mientras que la acidosis láctica no afectó a su expresión. Además, el bicarbonato de sodio revirtió el efecto de la acidosis y protegió de la mucormicosis a los ratones tratados con β -hidroxibutirato, lo que implica la importancia de corregir la acidosis como medida de tratamiento en pacientes con CAD y mucormicosis (figura 27).

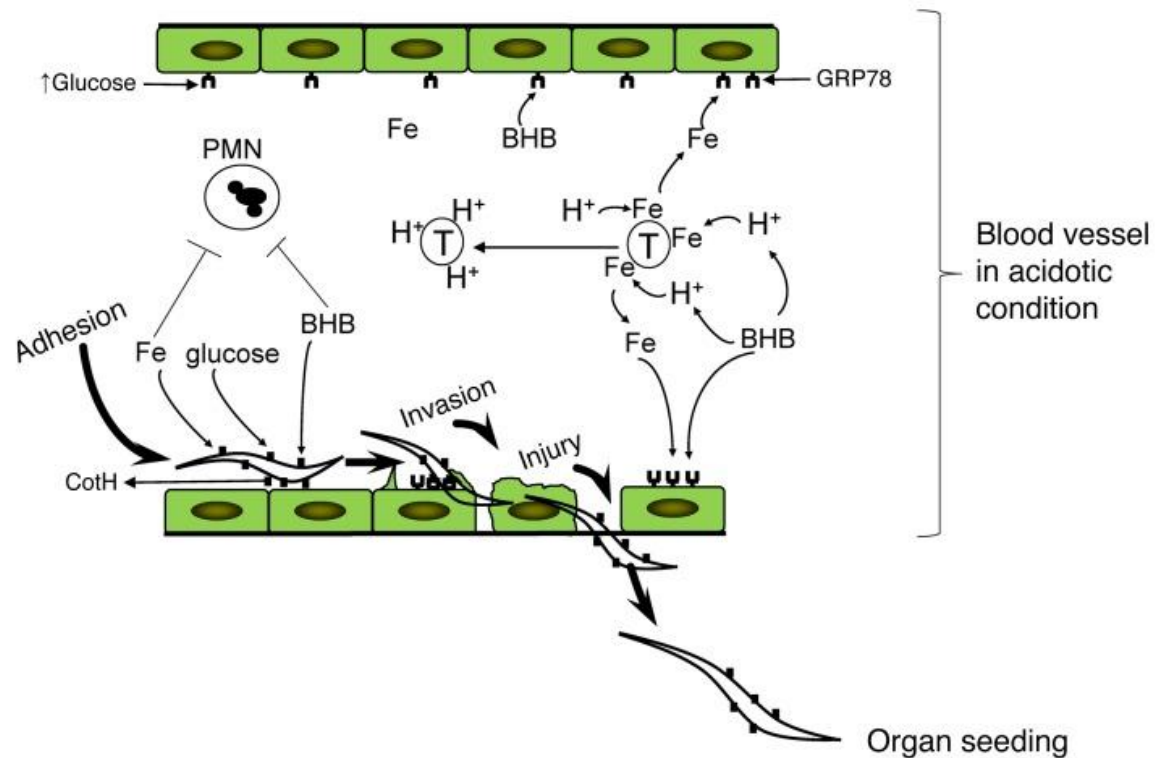


Figura 27. Mecanismo propuesto de susceptibilidad del huésped cetoacidótico a la mucormicosis. La acidosis promueve la liberación de hierro de la transferrina (T) por protonación del medio. El hierro liberado, la glucosa elevada y los cuerpos cetónicos (p. ej., BHB) mejoran el crecimiento del hongo invasor, así como la expresión superficial de la célula endotelial GRP78 y las proteínas fúngicas CothH. El aumento de la expresión del receptor GRP78 y su ligando fúngico conduce a un aumento de la invasión y la posterior lesión de las células endoteliales, especialmente en ausencia de los neutrófilos (PMN) debido a un efecto perjudicial ejercido por el hierro y el BHB. Este aumento de la invasión da lugar a la diseminación hematogena y a la invasión de órganos. El NaHCO_3 puede revertir el efecto de la acidosis, pero no el efecto directo de la glucosa, el hierro libre y el BHB. Fuente: Tomado de (266)

En individuos susceptibles, la mucormicosis generalmente comienza en los senos paranasales, donde los microorganismos se adhieren y proliferan en las células epiteliales nasales. Una vez adheridos invaden áreas adyacentes como el paladar, la órbita y el cerebro, causando necrosis extensa, destrucción de cornetes nasales, parálisis de los nervios craneales y desfiguración facial, todo en un corto lapso de días a semanas. Debido a la naturaleza angioinvasiva de la enfermedad, la infección a menudo se disemina hematógicamente para infectar órganos distantes (176).

Recientemente, se ha demostrado que el GRP78 es un receptor potencial para el SARS-CoV-2, el agente causal de la enfermedad COVID-19 (267). Por otro lado, en un estudio realizado por Muthu et al. (265) se encontró que los niveles séricos de GRP78 eran significativamente mayores en pacientes con mucormicosis asociada a COVID-19 que en pacientes infectados solamente con COVID-19. El GRP78 ha sido descrito también como un correceptor para la entrada del SARS-CoV2 (268), y se cree que los niveles de este receptor en COVID-19 se dan por una retroalimentación positiva entre la infección del virus y la expresión del GRP78. Alternativamente, se piensa este aumento podría estar relacionado con diabetes mellitus, ya que esta condición fue notada más frecuentemente en los casos que en los controles (265).

Por otro lado, se cree que la unión del GRP78 y el CotH no constituye el único mecanismo de daño al endotelio, ya que al bloquear estos ligandos se disminuye su patogénesis mas no se bloquea por completo (160). Una posible vía es a través del factor de crecimiento derivado de plaquetas, que además puede facilitar la angiogénesis y la posterior diseminación hematológica (253).

El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) pertenece a la familia de receptores tirosina quinasa, cuyos ligandos son un grupo de factores de crecimiento en especial el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y factor de crecimiento transformante alfa (TGF α). El EGFR es activado por dimerización, la cual depende de la unión del ligando, aunque también puede ocurrir cuando hay sobreexpresión y alteraciones estructurales del receptor (214).

En un estudio murino realizado por Watkins et al. (177) se observó la activación de la señalización de EGFR como respuesta del huésped a la etapa temprana de infección del epitelio de las vías respiratorias por *R. delemar*. Así mismo, 34 genes que responden al EGFR se modularon durante la infección, obteniéndose un EGFR fosforilado en la superficie de las células epiteliales y esta forma fosforilada y activada de EGFR se encontró localizada en la superficie de la espora. Por otro lado, la inhibición farmacológica de EGFR con cetuximab o gefitinib disminuyeron in vitro la citotoxicidad inducida por el hongo y la endocitosis de las esporas por las células A549. Dichos resultados sugieren que la señalización de EGFR media la invasión de las células epiteliales de las vías respiratorias por *R. delemar*.

Soliman y colaboradores demostraron que los hongos Mucorales producen una toxina que llamaron mucoricina, la cual juega un papel central en la virulencia. Es una toxina de 17 kDa que tiene características estructurales y funcionales similares a la toxina vegetal ricina, incluida la capacidad de inhibir la síntesis de proteínas a través de su actividad N-glicosilasa, la existencia de un motivo que media la fuga vascular y una secuencia de lectina. La inhibición de la toxina en *R. delemar* a través de la interferencia del ARN, compromete la capacidad del hongo para dañar las células huésped y atenúa la virulencia en ratones. Además, los anticuerpos policlonales contra esta toxina inhiben su capacidad para dañar las células humanas in vitro y prevenir el shock hipovolémico, la necrosis orgánica, hemorragia, calcificaciones y la muerte en ratones con mucormicosis (269,270).

Los experimentos *in vitro* realizados con diferentes líneas de células huésped identificaron que esta toxina es termoestable y se produce solo durante el crecimiento de las hifas. Mediante un análisis de expresión del gen que codifica la toxina, se confirmó que el ARNm correspondiente está ausente en las esporas, pero se acumula progresivamente a medida que avanza la germinación. Se encontró que tanto las toxinas extraídas con hifas como las recombinantes inducen rápidamente la necrosis de la célula huésped in vitro (270).

Como se mencionó en apartados anteriores, el daño y la penetración a través de las células endoteliales que recubren los vasos sanguíneos es probablemente un paso crítico en la estrategia patogenética del organismo, mientras que la angioinvasión se asocia con la capacidad del organismo para diseminarse hematógicamente desde el sitio original de la infección a otros órganos diana, causando trombosis masiva y necrosis tisular (figura 28) (102).

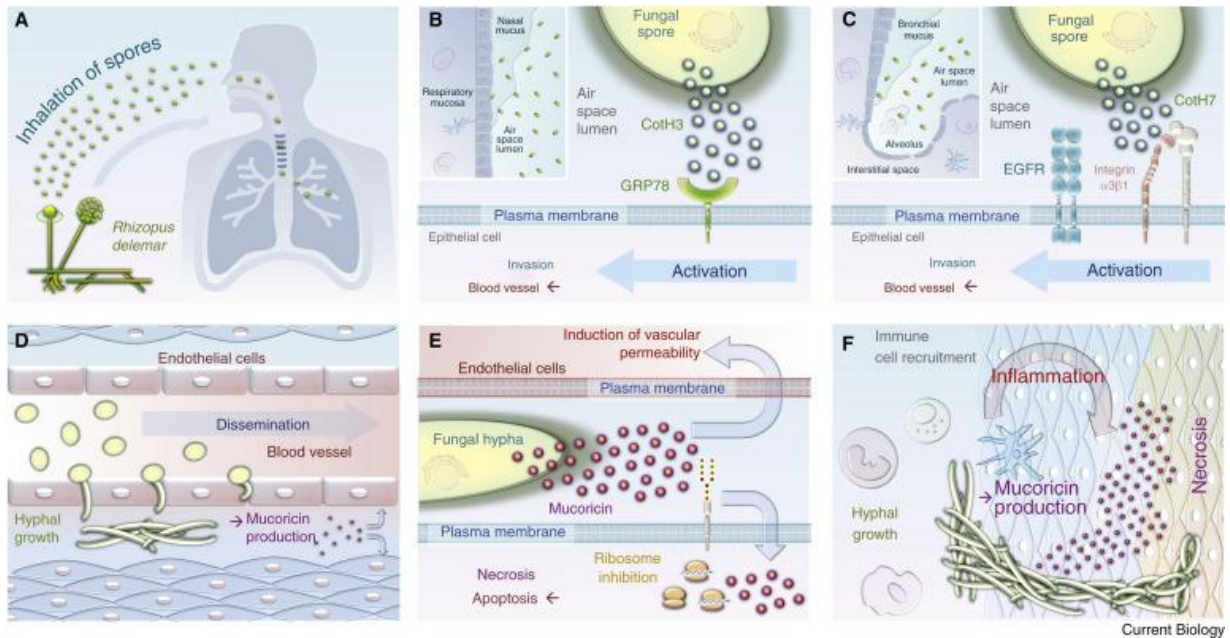


Figura 28. Fisiopatología de la mucormicosis. (A) La infección se produce cuando se inhalan las esporas de los hongos y estas colonizan la cavidad nasal o los alvéolos pulmonares. (B) Las esporas fúngicas expresan CotH3 y se unen a GRP78 en las células epiteliales nasales para inducir la invasión. (C) En los alvéolos, las esporas fúngicas expresan CotH7, que se une al receptor de integrina antes de activar el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) en las células epiteliales alveolares para inducir la invasión. (D) Una vez diseminadas por los vasos sanguíneos, las esporas se activan en condiciones aeróbicas, germinan e invaden los tejidos de los órganos. El proceso de germinación conduce a la producción de mucoricina. (E) La mucoricina se une a las células tisulares a través de su dominio lectina y penetra en el citosol para inhibir los ribosomas, causando apoptosis y necrosis. La mucoricina también induce la permeabilidad vascular, lo que favorece una rápida diseminación hematogena. (F) El crecimiento de hifas, los restos celulares y la mucoricina son reconocidos por el sistema inmunológico. Esto conduce al reclutamiento de células inmunitarias residentes, induciendo una fuerte respuesta inflamatoria. Fuente: Tomado de (270).

6.1.2 Receptores de reconocimiento de patrones

Los receptores del sistema inmune innato son la primera línea de defensa contra la infección, siendo capaces de reconocer e iniciar una respuesta inflamatoria contra los microorganismos invasores (271).

Los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) están ubicados en la superficie celular, median el reconocimiento fúngico que desencadenan la muerte de patógenos y generan cascadas de señalización inflamatoria tras la estimulación (272). Los PRR se

clasifican en varias familias, incluidos los receptores tipo Toll (TLR), los receptores de lectina tipo C (CLR), RIG-I, los receptores similares a NOD (NLR) que modulan varias vías de señalización inflamatoria que dan como resultado la producción de citoquinas (271,273).

Las células inmunitarias reconocen los componentes de la pared celular conocidos como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP). Estos elementos pueden ser las proteínas de la pared celular, los glucanos, la quitina y los lípidos, o las señales endógenas conocidas como patrones moleculares asociados al daño (DAMP). Este reconocimiento es necesario para iniciar la respuesta inflamatoria contra los hongos patógenos (274).

A través de varios PAMPs, los hongos se unen a los PRR de los fagocitos y provocan la activación y transducción de señales intracelulares (261). Las cascadas de señalización resultan en la internalización del hongo a través de la fagocitosis, la producción de citoquinas que reclutan y estimulan células inflamatorias; y/o la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) y del nitrógeno (RNS) (271).

La mayoría de los PRR se expresan en células dendríticas (CD) y otras células mieloides y se caracterizan por iniciar defensas inmunitarias innatas, sin embargo, la señalización de PRR también puede dirigir el desarrollo de la respuesta inmunitaria adaptativa mediante la secreción de citoquinas que polarizan las células T CD4 (células T auxiliares o Th) (275).

Los receptores tipo Toll, especialmente el receptor tipo Toll 2, desempeñan un papel importante en esta respuesta proinflamatoria temprana (276). Chamilos et al. (277) realizaron un estudio en moscas *Drosophila melanogaster* deficientes en Toll. Para llevar a cabo su investigación inyectaron una cantidad estandarizada de esporas de *R. arrhizus*, *M. circinelloides* y *C. bertholletiae* en la hemolinfa de las moscas. Otras moscas fueron inyectadas con esporas de *A. fumigatus*. Los estudios histopatológicos demostraron la germinación de las esporas con la formación de hifas y su posterior diseminación lo que provocó la muerte de las moscas. En el estudio también se encontró que las células fagocíticas de *D. melanogaster* mostraron una actividad alterada contra dichos hongos, como lo demuestra la disminución de las tasas de fagocitosis conidial y daño por hifas en comparación con las de *A. fumigatus*. Por lo que estas moscas exhibieron una mayor susceptibilidad a las infecciones causadas por Mucorales.

El reconocimiento de componentes fúngicos mediante los TLR (TLR-2, TLR2/6, TLR-4), activa el dominio TIR que conduce a la estimulación de MyD88 o TRIF y activa los complejos (IRAK, TRAF, IKK) e induce la translocación de factores de transcripción como NF- κ B, IRF-

3, MAPK. El TLR-9 endógeno reconoce los dinucleótidos CpG no metilados y estimula el factor de transcripción IRF-7. Los CLR, como Dectin-1, 2, Mincle, estimulan la tirosina quinasa específica del linaje de las células T (Syk) y el complejo CARD9-BCL10-MALT1 e inician las vías NF- κ B. El receptor de no integrina que agarra moléculas de adhesión intracelular específicas de DC (DC-SIGN) induce la translocación NF- κ B a través de la vía de activación RAS y Raf1. Estos factores de transcripción impulsan la expresión de varias citoquinas, que regularán la diferenciación de las células T. (figura 29) (278).

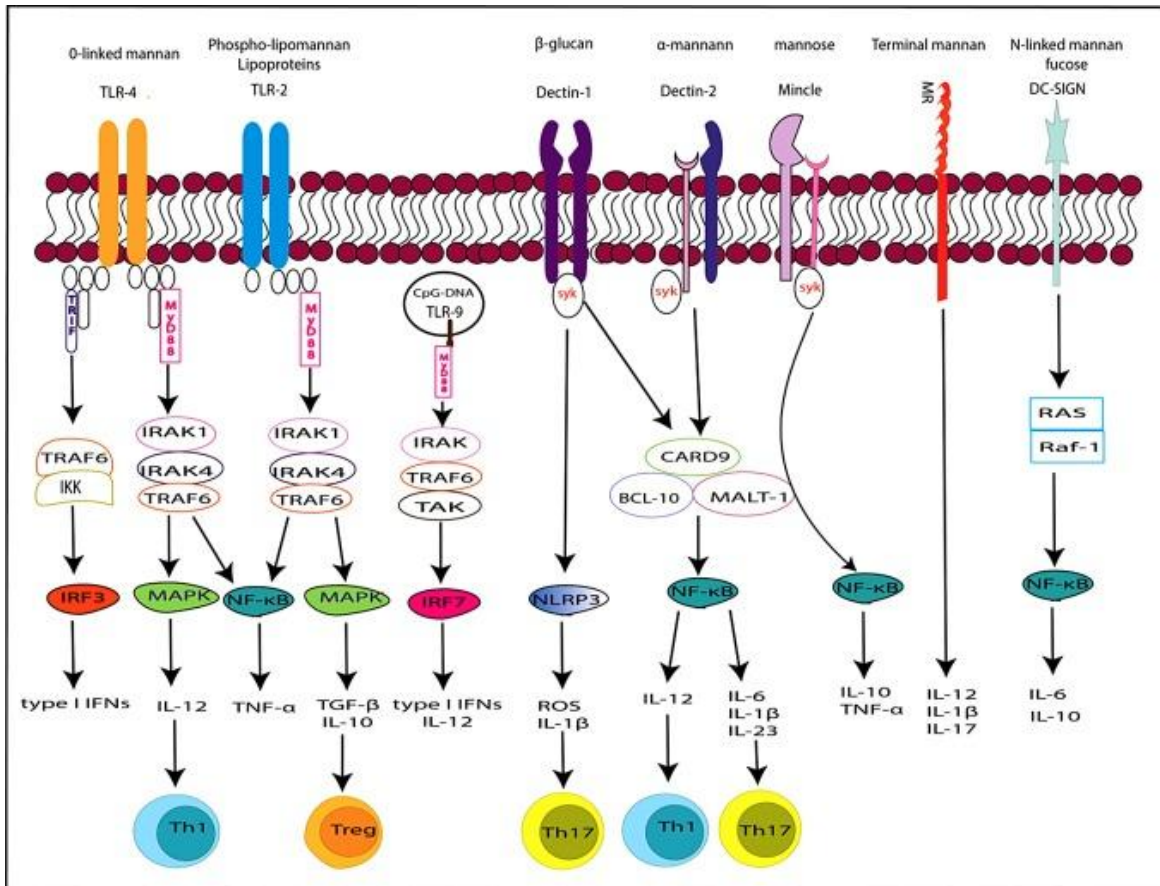


Figura 29. Reconocimiento de PAMPs fúngicos por PRR del huésped. MyD88: Respuesta primaria de diferenciación mieloide 88; TRIF: β de interferón inductor de adaptadores que contienen el dominio TIR; Syk: tirosina quinasa del bazo TRAF: factor asociado al receptor del TNF; IRAK: Quinasa asociada al receptor de interleucina; CARD9: activación y reclutamiento de caspasas que contiene el dominio 9; BCL-10: linfoma/leucemia de células B 10; NF- κ B: factor nuclear- κ B; MAPK: Proteína quinasa activada por mitógenos; ROS: especies reactivas de oxígeno. Fuente: Tomado de (278).

Montaño et al. (273) mediante un estudio realizado con monocitos humanos incubados con esporas de *L. corymbifera* y *M. circinelloides* marcadas con isotiocianato de fluoresceína

(FITC) revelaron que la producción de IL-1 β depende predominantemente del cebado de los TLR, especialmente a través de TLR4, mientras que el TNF- α se secreta a través de los CLR, y la IL-6 se produce por activación sinérgica de TLR y CLR.

En el mismo estudio, se observó que la inhibición de TLR4 promovió una reducción significativa de IL-1 β después de la infección con *L. corymbifera* y *M. circinelloides* y TNF- α en respuesta a *M. circinelloides*, lo que sugiere un papel predominante de TLR4 en la activación de la respuesta inflamatoria de los monocitos contra estos Mucorales, más probablemente por el reconocimiento de un polisacárido como un glucano, dado que es el componente principal de la pared celular de las esporas en *M. circinelloides* y juega un papel importante en la respuesta inmune contra *Rhizopus* spp. por parte de las células dendríticas (273).

Un estudio del 2007 realizado en neutrófilos expuestos a las hifas de *R. arrhizus* resultaron en una regulación positiva en el ARNm de TLR2, así como en el incremento significativo (1,5 veces más que en neutrófilos no estimulados) en la expresión de 18 genes involucrados con la señalización de TLR y vías relacionadas. Además, las hifas de *R. arrhizus* indujeron selectivamente siete genes adicionales con funciones proinflamatorias (TNFA, NFB2, NFKBIE, HMGB1, IL-1B, IRAK1 e IL-8) (276).

El β glucano se une a los receptores tipo dectina-1, los cuales se expresan en las células dendríticas (279). In vitro, se ha demostrado que la dectina-1 media en una variedad de respuestas celulares antifúngicas dependientes e independientes de TLR, incluida la explosión respiratoria, fagocitosis y la producción de muchas citoquinas y quimiocinas (280).

Chamilos et al. (279) realizaron un estudio en células dendríticas humanas (CD) las cuales se infectaron con la etapa invasiva (hifas) y con la etapa en reposo (esporas) de *Aspergillus* sp. y *Rhizopus* sp. Los investigadores demostraron que dichos patógenos fúngicos oportunistas desencadenan una vía de detección innata común en las CD que da como resultado una producción robusta de IL-23 en la etapa invasiva e impulsa respuestas Th-17, las cuales requieren la activación de la dectina-1 por el polisacárido b-glucano de la pared celular del hongo que se expone selectivamente durante el crecimiento invasivo.

6.1.3 Respuesta de los macrófagos a los Mucorales

Las partículas infecciosas de las mucormicosis son esporangiosporas asexuales que se encuentran en todas partes en el medio ambiente. Estas esporas en reposo pueden hincharse y germinar para producir hifas de rápido crecimiento durante su ciclo de vida natural (281). La germinación y el crecimiento filamentoso dentro de un huésped causa angioinvasión, trombosis de vasos y necrosis (102).

Los Mucorales son hongos de crecimiento extremadamente rápido y, por lo tanto, es probable que superen nuestra respuesta inmunitaria cuando está en estado de supresión (282), por lo que, cualquier falla o retraso en la respuesta inflamatoria temprana puede conducir rápidamente a la destrucción de tejidos y a la diseminación de la enfermedad (108), como en el caso de pacientes diabéticos que son más susceptibles a la infección, lo que puede conducir a la diseminación de la enfermedad (283).

La capacidad de los macrófagos para interactuar con éxito, engullir, degradar y presentar antígenos patógenos es clave no solo para localizar la infección en sus primeras etapas, sino también para preparar la respuesta inmune adaptativa, que es mucho más agresiva y específica en el caso de un reencuentro patógeno (257). La principal línea de respuesta a los hongos filamentosos consiste en los neutrófilos polimorfonucleares (PMN), células mononucleares, macrófagos circulantes y las células asesinas naturales (NK, por sus siglas en inglés) (figura 30) (261,282). Estas células pueden reconocer y dañar, pero no pueden matar, las hifas (282) .

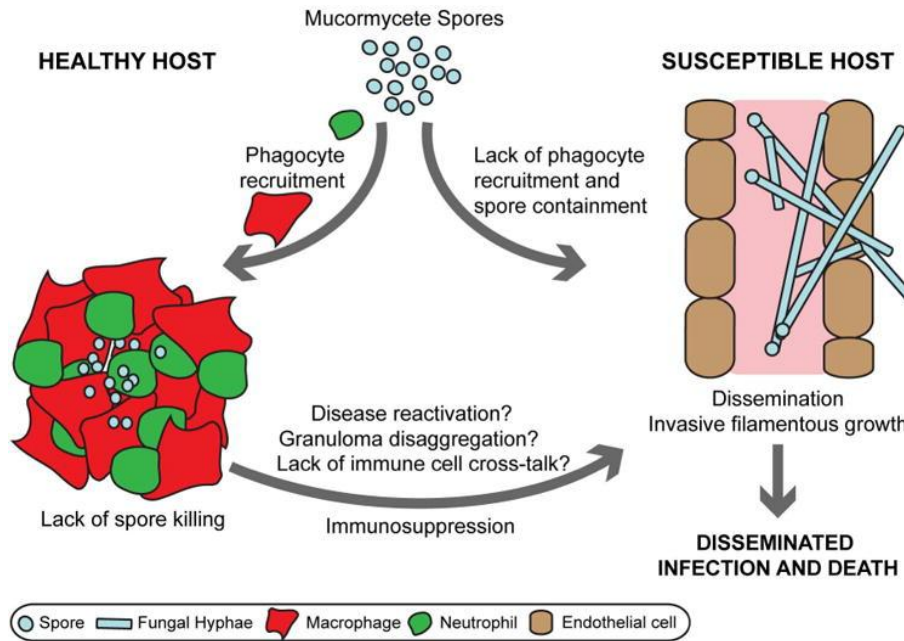


Figura 30. Germinación de esporas y crecimiento filamentoso de *Rhizopus microsporus*. Las esporas en reposo comienzan a hincharse poco después de la incubación en medios ricos. Los primeros tubos germinativos se producen después de aproximadamente 7 horas de incubación con una red de hifas establecida a las 13 horas de incubación. Fuente: Tomado de (282).

Esta barrera inmunitaria innata es básicamente doble: los macrófagos tisulares facilitan la fagocitosis de las esporas, mientras que las esporas que pueden escapar y germinar en hifas conducen a la quimiotaxis de los neutrófilos, que ejercen su efecto citotóxico oxidativo (53).

Además de otros fagocitos, los monocitos son fundamentales en la modulación de la respuesta inflamatoria contra varios hongos patógenos. Estas células inmunitarias circulan en el torrente sanguíneo y migran hacia el tejido infectado atraídas por las quimiocinas, donde se diferencian en macrófagos o células dendríticas (284). Los macrófagos son una de las principales células presentadoras de antígenos (APC) y tienen un papel fundamental en la vinculación de la respuesta inmunitaria innata y adaptativa. El macrófago envuelve a los hongos e inicia la cadena de eventos, es decir, la fusión fagosoma-lisosoma, la generación de componentes antimicrobianos como los intermediarios reactivos de oxígeno y los intermedios reactivos de nitrógeno (278)

Los monocitos son la principal fuente de IL-1b en humanos, una citocina involucrada en el inicio de respuestas inmunitarias, la inducción de más proteínas proinflamatorias, la hematopoyesis, la diferenciación de células Th17, el desarrollo de IL-10 y un marcador

típico de la activación del inflamasoma (285). Así mismo, producen TNF- α e IL-6, que son citoquinas proinflamatorias que median la apoptosis y la inflamación del huésped, así como el tráfico de leucocitos, la producción de proteínas de fase aguda, la proliferación de células T, la diferenciación de células B y la supervivencia (273).

Después de la infección con las esporas, los fagocitos se reclutan rápidamente en el sitio de la infección para internalizarse y formar grupos apretados alrededor de las esporas en modelos de enfermedad de conejo, ratón y pez cebra (283,286). En un modelo de pez cebra llevado a cabo por Inglesfield et al. (191) los investigadores aprovecharon la transparencia óptica de las larvas de pez cebra, lo que permitió la microscopía en tiempo real, para modelar los eventos temporales-espaciales tempranos del reclutamiento inmune innato en respuesta a esporas de hongos in vivo. En dicho estudio se demostró que el reclutamiento temprano robusto de fagocitos es crucial para la protección contra la enfermedad. Las señales de citocinas proinflamatorias como el TNF- α e IL-8, son importantes para la inducción del reclutamiento eficaz de fagocitos. Sin embargo, los datos obtenidos sugieren que la protección depende de la capacidad, más que de la velocidad, de reclutamiento de fagocitos en el sitio de la infección (191).

Otro modelo de pez cebra infectado con *M. circinelloides*, permitió confirmar la relación entre el tamaño de la esporangiospora y la virulencia. Los estudios transcriptómicos revelan una respuesta inflamatoria robusta provocada después de la germinación de esporangiosporas y la invasión del tejido micelial. Esta respuesta inflamatoria del huésped se caracteriza por la movilización de neutrófilos y macrófagos desde el riñón, el principal órgano hematopoyético de los peces adultos, hasta el sitio de infección, y la modulación de 857 genes relacionados con la respuesta inmune y el metabolismo del hierro, entre otros. Estos genes modulados por la infección, codifican citoquinas como IL-1 β , TNF- α e IL-22, factores del complemento (como el factor B del complemento (Cfb) y la lectina serina peptidasa 2 (Masp2), proteínas de reconocimiento de peptidoglicanos y adquisición de hierro (193).

Adicionalmente, los autores consideran de suma importancia la capacidad previamente no apreciada de las mucormicosis para inducir la apoptosis de los macrófagos reclutados y la depleción robusta tanto de macrófagos como de neutrófilos del compartimento hematopoyético. La inducción de apoptosis de los macrófagos reclutados fue causada por la cepa virulenta R7B, pero también por una dosis alta de la cepa menos virulenta (NRRL),

lo que sugiere que la germinación es necesaria para la inducción de la apoptosis de los macrófagos (193).

Los fagocitos no son capaces de matar las esporas en reposo in vitro o in vivo en sistemas modelo de vertebrados y no vertebrados (277). Aunque los fagocitos no logran matar las esporas, previenen eficazmente la germinación de las esporas en huéspedes murinos sanos (figura 31) (287).

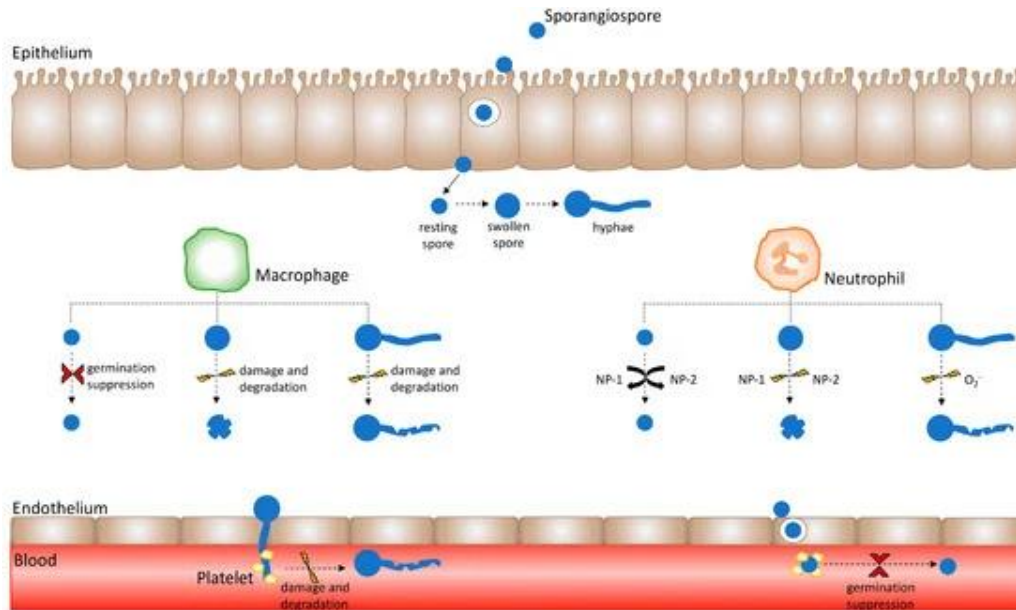


Figura 31. Respuesta inmunitaria en etapa de desarrollo de las esporas de los Mucorales. Las respuestas efectoras inmunitarias innatas están influenciadas por la etapa de desarrollo de las esporas de Mucorales. La actividad efectora inmune varía dependiendo de la etapa de desarrollo de la espora de Mucorales. Tras el cruce exitoso del epitelio, las esporas se encuentran con efectores inmunes innatos como macrófagos y neutrófilos. Los macrófagos suprimen la germinación de las esporas en reposo; sin embargo, son incapaces de matar las esporas en reposo. Por el contrario, las esporas e hifas de Mucorales hinchadas son susceptibles de sufrir daños y degradación por parte de los macrófagos. Los péptidos catiónicos de neutrófilos no ejercen actividad contra las esporas en reposo, pero inducen daño sobre las esporas hinchadas. Por otra parte, el anión superóxido de neutrófilos (O_2^-) causa daños en las hifas. Habiendo atravesado la capa endotelial por medio de la invasión de hifas y la internalización de esporas, los Mucorales invaden la vasculatura y entran en el torrente sanguíneo. Aquí, los Mucorales entran en contacto con las plaquetas, por lo que las plaquetas se adhieren a las esporas e hifas de Mucorales para suprimir la germinación de las esporas y causar daño a las hifas. Fuente: Tomado de (257).

Para establecerse dentro del nicho fagocítico, las esporas de Mucorales deben resistir el entorno hostil o subvertir los mecanismos antimicrobianos de los fagocitos (282). En un estudio realizado por Montaña et al. (273) se demostró que las esporas internalizadas de *L. corymbifera* permanecen vivas dentro de los monocitos humanos por más de 24 horas, en las que no germinan e infligen un daño mínimo a las células del hospedero.

Estos mismos autores observaron que la mayoría de los monocitos permanecen viables durante la infección por *L. corymbifera* mientras restringen el crecimiento intracelular del hongo, por lo que, cuantificaron la producción de las citocinas proinflamatorias IL-1 β , TNF- α , IL-6 y la citocina antiinflamatoria IL-10 durante la exposición a *L. corymbifera*. Los resultados obtenidos demostraron que las esporas viables de este hongo inducen en los monocitos una producción temprana de la citocina IL-1 β dependiente del reconocimiento en los TLR, así como una liberación tardía de TNF- α vía receptores de lectina tipo C y de IL-6 por la activación sinérgica de TLRs y CTLs. Todas estas vías de señalización llevan a la activación del NF- κ B, que es un factor de transcripción que regula la respuesta inflamatoria y la apoptosis de monocitos durante la infección por el hongo analizado (273).

6.1.4 Papel de los neutrófilos

Los neutrófilos son las células más abundantes en el torrente sanguíneo, y debido a que son altamente móviles, son rápidamente reclutadas a los sitios de infección, alertando a otras células inmunes. La capacidad de éstas para fagocitar y destruir patógenos de manera inespecífica y rápida es crucial para combatir la invasión patógena (257). Los mecanismos oxidativos como los no oxidativos parecen ser críticos en el proceso de actividad antifúngica de los PMN, mientras que la neutropenia o la deficiencia funcional de los PMN son los principales factores de riesgo para el desarrollo de las mucormicosis (288).

Los mecanismos dependientes del oxígeno consisten en una serie de reacciones que comienzan con la producción del anión superóxido (O₂⁻), que se dismuta en peróxido de hidrógeno. Luego, la mieloperoxidasa cataliza la conversión de peróxido de hidrógeno y haluros para generar hipohaluros. Además, se generan agentes como el hipoclorito, ácido hipocloroso, radical hidroxilo, peroxinitrito y cloraminas, que ejercen potentes actividades antifúngicas (289). Los péptidos catiónicos como las defensinas y catelicidinas forman parte de la vía independiente del oxígeno de las células fagocíticas (290).

El crecimiento fúngico invasivo activa la señalización proinflamatoria. Las hifas interactúan con el TLR-2 en la superficie de los PMN induciendo la transcripción de las citoquinas proinflamatorias TNF- α , IL-1 β y el IFN- γ que facilitan la activación y el reclutamiento de otras células inmunitarias (108,276). Los neutrófilos mediante la producción y liberación de metabolitos reactivos de oxígeno, péptidos catiónicos, perforinas y otras enzimas antimicrobianas dañan directamente tanto las esporas como las hifas (149). Además, estas células desempeñan un papel clave en la mediación de la inflamación aguda y el mantenimiento de la hemostasia mediante la infiltración en los sitios infectados y la apoptosis oportuna (257).

Los péptidos catiónicos de neutrófilos (NP) NP-1 y NP-2 tienen actividad redundante contra las esporas de *R. arrhizus* en reposo; sin embargo, contra las esporas hinchadas de *R. arrhizus*, la muerte es efectiva (291). Levitz et al. (292) realizaron una investigación donde se comparó la actividad fungicida de seis NP de conejo contra esporas latentes (en reposo), preincubadas (hinchadas) e hifas de *R. arrhizus* y *A. fumigatus*. Los resultados sugieren que los NPs de conejo podrían ser los principales colaboradores en la muerte de *R. arrhizus* mediada por neutrófilos y macrófagos. Las esporas en reposo de ambos hongos fueron totalmente resistentes a la muerte de hasta 500 μg de NP/ml, mientras que las esporas e hifas preincubadas fueron sensibles, en condiciones óptimas, a <1 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Estos hallazgos sugieren la resistencia protectora que ejerce la pared celular externa de las esporas latentes contra los agentes oxidantes y los NPs de los neutrófilos, mientras que, la pared celular de las esporas se vuelve más permeable en el momento de la germinación, lo que puede generar un período de susceptibilidad a los agentes fungicidas (292).

El estallido oxidativo provocado por las esporas de Mucorales a partir de PMN depende de la cepa y refleja el potencial de virulencia. Por ejemplo, las cepas virulentas intermedias pertenecientes al género *Rhizopus* inducen un estallido reactivo más pequeño que la cepa de baja virulencia *L. corymbifera* (288). Hay estudios quimiotácticos *in vitro* que muestran que las esporas hinchadas de *Rhizopus* producen factores quimiotácticos de neutrófilos, pero las esporas en reposo no lo hacen (293) y son resistentes a la muerte de neutrófilos *in vitro* (292).

El factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) no solo aumenta la producción de neutrófilos, sino que también modula su función biológica. El G-CSF administrado *in vivo* es capaz de mejorar la actividad antifúngica de los PMN contra algunos hongos oportunistas, como *A. fumigatus* y *R. arrhizus* pero no contra *C. albicans* (294).

La incubación de polimorfonucleares con IFN- γ y factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) condujo a un aumento de la capacidad de causar daño a las hifas y mejoró la liberación de TNF- α , pero estos efectos de aumento aparecieron de manera dependiente del tiempo en relación con la exposición al IFN- γ y GM-CSF (288).

Gil-Lamaignere et al. (288) realizaron un estudio donde compararon la función antifúngica de los PMN humanos frente a las hifas de *R. arrhizus*, *R. microsporus* y *L. corymbifera*. En esta investigación se observó que tanto el estallido oxidativo de los PMN en respuesta a las hifas como el daño inducido por PMN fueron significativamente menores en respuesta a las especies de *Rhizopus* que en respuesta a *L. corymbifera*. Este hallazgo puede estar relacionado con la frecuencia relativamente alta de especies de *Rhizopus* y la menor frecuencia de *L. corymbifera* como agentes causales de mucormicosis (37).

Los resultados obtenidos en dicho estudio sugieren que la reducción de la susceptibilidad a la defensa innata del huésped por parte de los miembros del género *Rhizopus* puede contribuir a su mayor prevalencia como patógenos en pacientes inmunocomprometidos. Las diferencias en los constituyentes de la pared celular y los ligandos en la superficie de las hifas de los diferentes géneros de Mucorales pueden explicar las diferencias en la estimulación de los PMN y la susceptibilidad a su actividad antifúngica (288). Una explicación alternativa que puede explicar tales diferencias es que los factores relacionados con el organismo (por ejemplo, los componentes difusibles de la superficie fúngica o la producción de toxinas por las hifas de *Rhizopus*) comprometen cualquier efecto de los PMN desafiadas con ese hongo (294).

6.1.5 Papel de las plaquetas

Las plaquetas son elementos sanguíneos anucleados derivados de la fragmentación de los megacariocitos que son sus precursores (295). Las plaquetas se han asociado clásicamente con hemostasia, trombosis e inflamación, sin embargo, se han identificado propiedades antimicrobianas mediadas por la liberación granular de péptidos antimicrobianos plaquetarios como el factor plaquetario 4 (PF-4) (296). Otras funciones antimicrobianas y antifúngicas incluyen la secreción de gránulos que contienen citoquinas y quimiocinas proinflamatorias y antiinflamatorias, factores de crecimiento transformantes- β y trombocidinas con propiedades fungicidas (297,298).

Las plaquetas muestran propiedades quimiotácticas hacia el reclutamiento de fagocitos, mediadas por la liberación de citocinas como la IL-1b (296). Otras moléculas liberadas son el factor de crecimiento derivado de plaquetas y el ligando 5 de la quimiocina CC (CCL-5) conocida como RANTES (297), siendo esta última una quimiocina relacionada con la quimiotaxis y la activación leucocitaria (299)

Estas células anucleadas tienen expresión de moléculas unidas a la membrana, como CD154 y receptores plaquetarios tipo Toll, que facilitan la unión a las plaquetas y la activación de varias células (53). La unión de las plaquetas con los monocitos provoca la diferenciación a macrófagos, mientras que la unión con las células dendríticas induce su maduración. También se ha visto que la unión plaquetaria con los linfocitos B y T provoca la activación de estas células inmunitarias (297,300).

Según Bruserud, la unión de TLR en monocitos y plaquetas puede ser un evento inmunológico temprano y funcionar como iniciador de una diafonía proinflamatoria local entre plaquetas y monocitos, lo que resulta en un aumento de la activación plaquetaria inducido por monocitos y un aumento de la activación/función de los monocitos asociado a plaquetas (300).

La agregación plaquetaria y la adherencia a la pared fúngica pueden impedir la diseminación hematológica de los hongos (53). Estudios in vitro muestran que las plaquetas se adhieren tanto a las esporas como a las hifas de los Mucorales, e inducen la activación plaquetaria y la liberación de gránulos (257) que causan daño fúngico al suprimir el crecimiento de hifas, mejora la formación de coágulos y conduce al consumo de plaquetas (figura 32) (301).

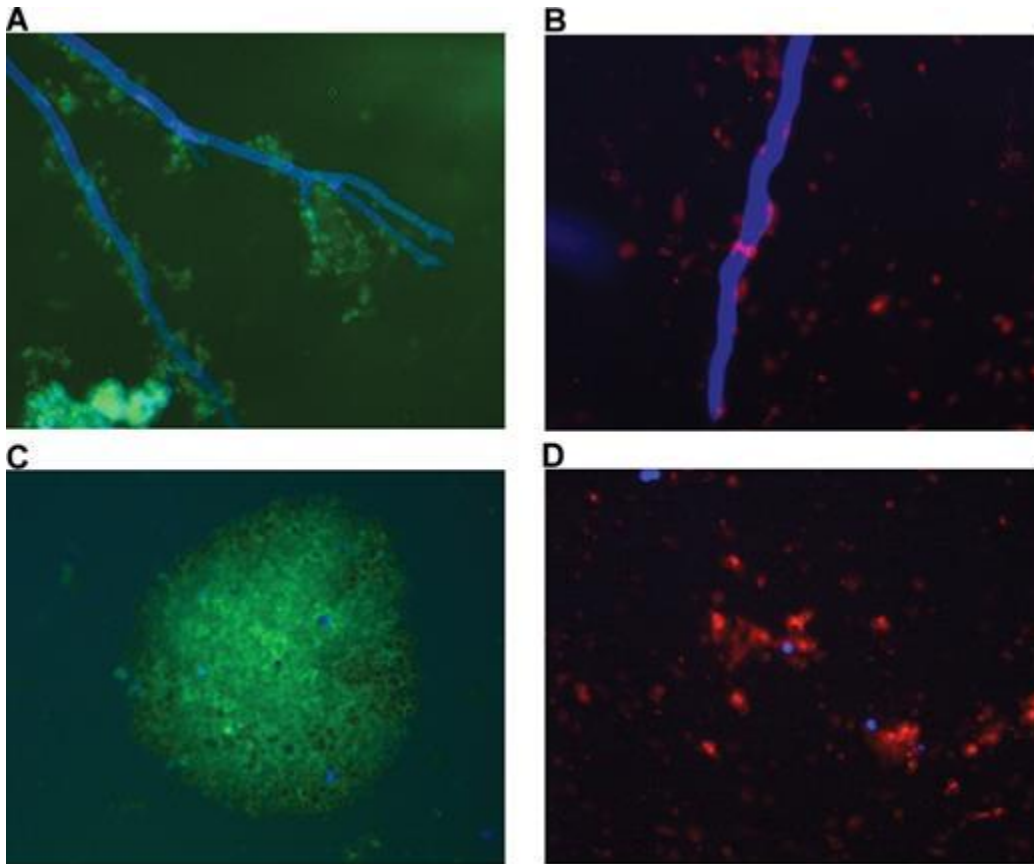


Figura 32. Actividad plaquetaria contra las hifas y blastosporas de los Mucorales. Fotomicrografías de fluorescencia representativas de la adherencia plaquetaria (A, C) y activación (B, D) después del contacto con hifas o blastosporas de Mucorales, que se tiñeron con blanco de calcofluor (fluorescencia azul). Las plaquetas se adhirieron a las hifas (A) y blastosporas (C) de los hongos y se visualizaron mediante un anticuerpo monoclonal conjugado anti CD-42b-isocianato de isoticianato de fluoresceína (fluorescencia verde). Las plaquetas se activaron después del contacto con hifas (B) o blastosporas (D) de Mucorales, como lo demuestra el anticuerpo monoclonal anti-CD62P-PE (fluorescencia roja) que se presenta exclusivamente en plaquetas activadas. Fuente: Tomado de (301).

En un trabajo realizado por Perkhofer et al. (301) se estudiaron los posibles efectos antifúngicos de las plaquetas, para lo cual utilizaron cepas de *Rhizomucor sp.*, *Lichtheimia sp.*, *Mucor sp.* y *Rhizopus sp.*, en donde se incubaron los conidios y las hifas con el concentrado de plaquetas. En el estudio se observó que la germinación y la elongación de las hifas disminuyeron de manera estadísticamente significativa bajo el tratamiento con plaquetas. Los efectos observados de estas células sobre dichos hongos fueron: (1) la adhesión a los conidios e hifas de los Mucorales, (2) activación posterior a la exposición a

los hongos, (3) daño ocasionado a las hifas de manera dependiente del tiempo y (4) reducción del crecimiento fúngico.

Ghuman et al. (302) realizaron un estudio para determinar el potencial de agregación plaquetaria de *M. circinelloides* y la vía de señalización que facilita la agregación en respuesta a esporas fúngicas. Para ello mediante citometría de flujo de plaquetas teñidas con anticuerpos se obtuvo que la interacción con las esporas aumentó la expresión de la integrina de superficie plaquetaria $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ y del marcador de activación plaquetaria CD62P. Por otro lado, utilizando el método de impedancia y transmisión de luz, demostraron que este hongo inducía la agregación plaquetaria en sangre total y en plasma rico en plaquetas. La formación de grandes agregados de esporas y plaquetas se confirmó mediante microscopía de lámina de luz, que mostró esporas dispersas por todo el agregado. También se demostró que las plaquetas forman agregados dosis-dependientes alrededor de las esporangiosporas, además, la activación de las plaquetas está mediada por los receptores Fc γ RIIA y $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$; y que la cascada de señalización Syk/Src induce la liberación de los gránulos α . Así mismo, el potencial de agregación de estos fragmentos celulares dependió de la etapa de desarrollo de la espora, observándose una agregación plaquetaria más fuerte por las esporas cuando estas estaban a mitad de la germinación.

6.1.6 Interacción con las Células Dendríticas

Las células dendríticas se consideran la principal célula presentadora de antígenos responsable de la activación de la respuesta inmunitaria adaptativa (303), por lo que desempeñan un papel fundamental en la respuesta del huésped a la invasión patógena para los efectores inmunitarios adaptativos (257). Estas células tienen gran habilidad de fagocitar patógenos y presentar los antígenos a las células T vírgenes, resultando en una subsecuente memoria inmunológica que es específica para el patógeno (257).

Las células dendríticas derivadas de monocitos humanos reconocen el β -glucano expresado exclusivamente en la superficie de las hifas a través del receptor de reconocimiento de patrones delectina-1 para inducir IL-23, IL-1 y TNF- α (279).

Según Ghuman y Voelz, la interacción de las células dendríticas con los Mucorales está menos investigada que la de otros efectores inmunes (257). Un estudio in vitro realizado por Chamilos et al. (279) demostró que las hifas de *Rhizopus* spp. inducen una fuerte liberación de IL-23 en las CD, citoquina que impulsa una respuesta Th-17 (figura 33),

mientras que la IL-12 se produjo en bajas cantidades. Las CD también secretaron altos niveles de IL-1, IL-6 y TNF- α .

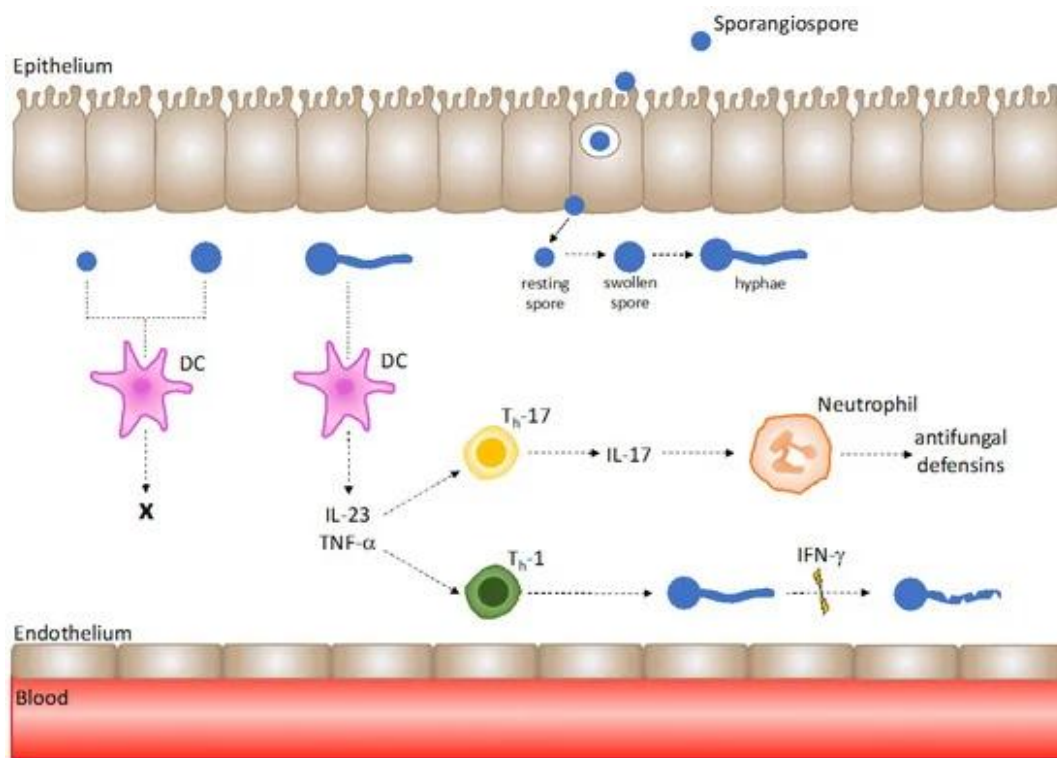


Figura 33. Reconocimiento de las hifas Mucorales por las células dendríticas. Las CD no son activadas por las esporas de Mucorales; sin embargo, la exposición a las hifas da lugar a la activación de las CD y a la liberación robusta de IL-23 y TNF- α . La IL-23 promueve la respuesta Th-17 y el TNF- α regula al alza la respuesta Th-1. La producción de IL-17 por células Th-17 ayuda al reclutamiento de neutrófilos y a la liberación de defensinas antifúngicas, y a la secreción de IFN- γ por células Th-1. Fuente: Tomado de (257).

Wurster y colaboradores en 2017, llevaron a cabo una investigación en células mononucleares humanas como los monocitos y células dendríticas derivadas de monocitos (CDmo) de donantes sanos. Estas células se estimularon con estadios de germinación y reposo de Mucorales y Ascomycota como *A. fumigatus*. En el estudio se obtuvo que los tubos germinativos inactivados y las esporas en reposo de *R. arrhizus* y otras especies patógenas humanas de Mucorales estimularon significativamente la síntesis de ARNm y la secreción de citocinas proinflamatorias como la IL1B y TNF α . Además, las esporas en reposo de *R. arrhizus* indujeron la regulación al alza de las moléculas coestimuladoras (CD83 y CD86) en las CDmo y una respuesta específica de las células T colaboradoras. Mientras que los conidios latentes de *A. fumigatus* solo condujo a un ligero aumento de la expresión de CD83

y CD86, lo que sugiere que las esporas latentes de *R. arrhizus* indujeron la maduración de las CDmo (304).

Belic et al. (305) adaptaron un modelo de bicapa alveolar Transwell A549/HPAEC para evaluar la integridad de la barrera epitelial y la respuesta de citocinas a *R. arrhizus*, *R. pusillus* y *C. bertholletiae*. Los investigadores adicionaron CDmo al compartimento alveolar lo que condujo a una reducción de la invasión fúngica y a una fuerte mejora de la respuesta de citoquinas proinflamatorias (IL-1b, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α), mientras que la liberación epitelial de CCL2 y CCL5 se redujo. A pesar de que las especies de hongos utilizadas son fenotípicamente heterogéneas, estas provocaron la liberación de patrones de citoquinas similares por parte de las células epiteliales y dendríticas. Por otro lado, se observaron concentraciones elevadas de lactato deshidrogenasa (LDH) y aumento de la permeabilidad vascular, las cuales se agravaron aún más con la adición de CDmo, lo que pone de manifiesto la influencia de la respuesta inflamatoria en el daño tisular asociado a las mucormicosis (305).

6.1.7 Papel de las Natural Killer

Las células NK son células inmunitarias innatas citotóxicas de origen linfoide. Estas células tienen la capacidad de matar varios tipos de células tumorales, sin embargo, también juegan un papel preponderante en la defensa contra la infección microbiana. Las NK expresan diversos receptores activadores e inhibidores, y el equilibrio entre las señales mediadas por estos receptores determina el resultado de la activación de las células NK (306).

La penetración de las hifas Mucorales en el tejido epitelial y endotelial, causan un extenso daño tisular, mientras que las células NK son responsables de limitar el daño tisular mediante la inducción de la citotoxicidad celular (257). Los estudios in vitro demostraron que las células NK de origen murino y humano son capaces de atacar hongos de diferentes géneros y especies. Estas células exhiben actividad antifúngica directa a través de la liberación de moléculas citotóxicas como la perforina o la granzima B que son liberadas en la superficie de la célula blanco y penetran la membrana celular induciendo muerte celular programada (307,308), y actividad antifúngica indirecta a través de citoquinas y quimiocinas como INF- γ , TNF- α y GM-CSF, lo que afecta la actividad de otras células inmunitarias (figura 34) (308).

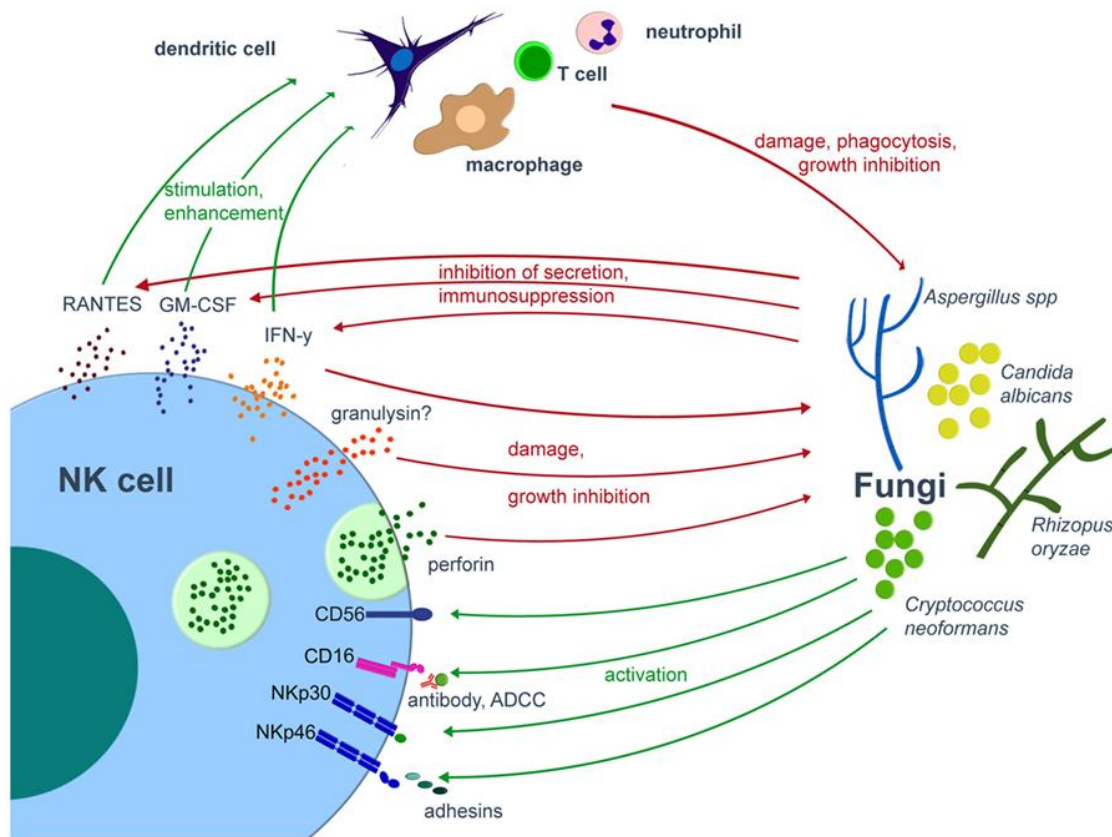


Figura 34. Interacción de las células NK y los patógenos fúngicos. Varios patógenos fúngicos son capaces de activar las células NK. Una vez activadas, las células NK dañan directamente a los hongos mediante moléculas citotóxicas como la perforina o liberan citoquinas, mediante las cuales modulan la respuesta antifúngica del huésped a través de varias células inmunitarias. Por otro lado, el hongo puede comprometer el sistema inmunológico del huésped. Las flechas verdes indican activación/estimulación, las flechas rojas inhibición/daño. ADCC: citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos; IFN: interferón; GM-CSF: factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos; NK, asesino natural. Fuente: Tomado de (308).

La actividad de las células NK depende en gran medida de la señalización de los macrófagos, las CD y las células T. Citoquinas como la IL-12 y el interferón tipo 1 (INF) son potentes activadores de las células NK y median la interacción entre los macrófagos y las células NK, que con frecuencia se localizan en los sitios de infección y daño tisular (257).

Mediante una investigación realizada con células NK de donantes sanos frente a hifas y esporas de *R. arrhizus* se logró determinar que tanto las células NK humanas no estimuladas como las preestimuladas con IL-2 mostraron actividad antifúngica contra las hifas de *R. arrhizus*, mientras que las células NK, independientemente de si estaban preestimuladas o no, no fueron capaces de afectar a las esporas en reposo. En el estudio,

las hifas de *R. arrhizus* indujeron mayor desgranulación y secreción de perforina por las células NK preestimuladas con IL-12 en comparación con las no estimuladas, ocasionando un daño mayor por las células NK preestimuladas (309).

Para evaluar si el hongo produce un efecto inmunosupresor en las células NK, los autores analizaron los niveles de varios inmunomoduladores secretados por estas células. Las células que se incubaron con las hifas de *R. arrhizus* redujeron notablemente los niveles de INF- γ y RANTES en el sobrenadante, mientras que los niveles de GM-CSF no se vieron afectados, en comparación con las células incubadas solas. Mientras que, no se observó ningún efecto cuando las células NK se coincubaron con esporas de *R. arrhizus* (309).

La falta de actividad antifúngica contra las esporas podría explicarse por el hecho de que las esporas están protegidas ya sea por cápsulas, pigmentos como la melanina o capas hidrofóbicas, elementos que pueden impedir el reconocimiento por parte de varias células inmunitarias (308).

Es importante mencionar que el INF- γ liberado por las células NK aumenta la actividad fungicida de los macrófagos (310). Además, exhibe múltiples efectos sobre varias células inmunitarias. Por ejemplo, el INF- γ es capaz de estimular la migración, la adherencia, la fagocitosis, así como la eliminación oxidativa por parte de neutrófilos y macrófagos (308).

El RANTES (CCL5) desempeña un papel importante en la defensa del huésped contra los hongos, esta es una quimiocina producida por las células NK estimuladas por IL-2 que activa las células T específicas de antígeno (299).

En 2016, Schmidt et al. (311) investigaron el daño mediado por células NK de aislamientos clínicos de diferentes especies de Mucorales como *L. ramosa*, *L. corymbifera*, *M. circinelloides* y *R. microsporus*. Así mismo, evaluaron la secreción de INF- γ por células NK. Para ello utilizaron células NK de donantes sanos y las incubaron 6 h con hifas de los hongos antes mencionados, mientras que la concentración de INF- γ se realizó mediante un ELISA. Todos los aislamientos de mucormicetes probados fueron dañados por las células NK preestimuladas con IL-2, sin embargo, el daño fue diferente entre los aislamientos e incluso entre diferentes aislamientos de la misma especie. Los datos derivados de la investigación sugieren que el daño mediado por células NK muestra una correlación exponencial con la biomasa, a mayor biomasa, menor daño. Sin embargo, otros factores también pueden tener un factor impacto en el daño de las hifas. Los niveles de INF- γ fueron menores cuando estas células se incubaron con el hongo en comparación con las células

incubadas solas, por lo que los autores se cuestionaron si la disminución en los niveles de INF- γ fueron provocados por el hongo (311).

6.2 Sistema de complemento

El sistema del complemento es parte de la inmunidad innata y constituye uno de los principales mecanismos efectores de la inmunidad mediada por anticuerpos. El complemento constituye un puente entre la inmunidad innata y la adaptativa, ofrece protección contra la infección de microorganismos patógenos y favorece la eliminación de complejos inmunes y de productos de la inflamación (312). Además, participa en la eliminación de células apoptóticas y necróticas, desechos celulares, activación celular, quimiotaxis, y estimulación de la red inmune (313).

El reconocimiento innato de los patógenos fúngicos es un primer paso crucial en la inducción de la inmunidad antifúngica protectora, por lo que el complemento es un componente clave en este proceso, ya que facilita el reconocimiento de los hongos e induce una inflamación temprana (313).

El sistema del complemento consta de más de 40 proteínas séricas y de superficie celular y se activa a través de tres vías principales: la vía clásica dependiente de complejos antígeno-anticuerpo o por la proteína C reactiva, la alternativa iniciada por sustancias localizadas en la superficie de microorganismos y la vía de la lectina que se une a la manosa (313). La activación de estas tres vías inicia cascadas enzimáticas que convergen en el tercer componente del complemento, el C3, cuya activación conduce en última instancia a la opsonización microbiana, incluidos C3a y C5a, y la generación de un complejo de ataque a la membrana (MAC) el cual crea un poro en la membrana celular que lleva a la lisis (312,313).

Como anafilotoxina, el C3a tiene actividad quimiotáctica hacia una variedad de células y tiene propiedades proinflamatorias. El fragmento de complemento C3b, por su parte, actúa como una molécula opsonizante y estimula la internalización y, por tanto, la eliminación de patógenos por interacción con receptores en fagocitos. Por otro lado, el C3b participa en otros pasos de la cascada del complemento, lo que conduce a la escisión de C5 y, posteriormente, a la generación de un complejo terminal del complemento (TCC, C5b-9) (314).

En un estudio realizado en el 2015, se investigó la capacidad de las esporas y levaduras de *Mucor polymorphosporus* para activar el sistema del complemento utilizando suero humano con o sin quelantes (EGTA o EDTA). La presencia de quelantes en el suero tuvo el propósito de verificar la vía de activación utilizada y la posible escisión de componentes por enzimas independientes de Ca^{2+} y/o Mg^{2+} de origen fúngico. Además, se realizaron ensayos (ELISA) de consumo de complemento para detectar fragmentos C3 y C4, lectina de unión al manano (MBL), la proteína C reactiva (PCR) e IgG y pruebas de inmunofluorescencia para fragmentos C3 (315).

Los resultados obtenidos mostraron un consumo completo del complemento cuando la incubación se produjo con EGTA- Mg^{2+} o sin quelantes, lo que sugiere que esta activación se logró principalmente por la vía alternativa. Los fragmentos C3 y C4, MBL, PCR e IgG estuvieron presentes tanto en levaduras como en las esporas. La cantidad de C4, MBL, PCR e IgG fue casi tres veces mayor en las esporas en comparación con la levadura, lo que sugiere que, si bien las esporas pueden desencadenar más de una vía de activación, las levaduras exhiben principalmente una activación de vías alternativas. Las pruebas de inmunofluorescencia verificaron la incidencia de fragmentos de C3 en toda la superficie de todas las muestras, que se distribuyeron uniformemente, lo que sugiere una opsonización efectiva (315). El estudio concluye que la activación del complemento por parte de las esporas de *Mucor* spp., que pueden estar presentes en las primeras etapas de las mucormicosis, puede resultar esencial para la eliminación de hongos del huésped (315).

En un estudio similar al anterior, Zmetek et al. (316) en el 2010, investigaron si las esporas de *M. circinelloides*, *M. ramosissimus* y *M. plumbeus*, cada una con diferentes estadísticas infecciosas, tenían diversos perfiles de activación del complemento. Para ello utilizaron suero humano absorbido en presencia o ausencia de quelantes (EGTA o EDTA). Los investigadores determinaron que las esporas causaban la activación completa del complemento cuando se incubaba con EGTA- Mg^{2+} o sin quelantes, lo que indica que la vía alternativa es la principal responsable de esta respuesta. Por otro lado, mediante un ELISA se determinó que el C3, C4, MBL, PCR y la IgG estaban presentes en las especies analizadas.

La posible participación en la vía clásica fue apoyada por el hecho de que los fragmentos de C4 estaban presentes en las muestras. La presencia de IgG y PCR en todas las muestras sugiere fuertemente que esta vía también podría ser utilizada, además, de que también pueden actuar como opsoninas, ya que son reconocidas por receptores de los

fagocitos. La participación en la vía de la lectina se verificó mediante la deposición de MBL en todas las muestras que junto con fragmentos C3 y C4, indica que esta vía puede estar involucrada (316).

Como se mencionó anteriormente, las plaquetas presentan propiedades antimicrobianas mediadas por la liberación granular de péptidos antimicrobianos plaquetarios como el factor plaquetario 4 (PF-4) (296), además, tienen la capacidad de secretar gránulos que contienen citoquinas y quimiocinas proinflamatorias y antiinflamatorias, factores de crecimiento transformantes- β y trombocidinas con propiedades fungicidas (297,298).

El sistema del complemento puede activar las plaquetas mediante la interacción con bacterias opsonizadas y la unión de C3a a su receptor, ocasionando una serie de eventos como el aumento de la adhesión plaquetaria al fibrinógeno y aumento de la agregación plaquetaria. La inserción de C5b-9 en la membrana plaquetaria, desencadena el desprendimiento de micropartículas plaquetarias que son vesículas de membrana intactas que se liberan de las membranas al activarse. Estas micropartículas desempeñan un papel importante en la hemostasia debido a sus propiedades procoagulantes, además, contribuyen con la trombosis, la inflamación, la infección, la inmunidad, la angiogénesis y la malignidad (317,318). Las plaquetas pueden activar el sistema del complemento a través de la vía clásica, uniéndose a componentes del complemento como C1q y C4d, y a través de la vía alternativa, mediando la hidrólisis espontánea de C3 (figura 35) (319).

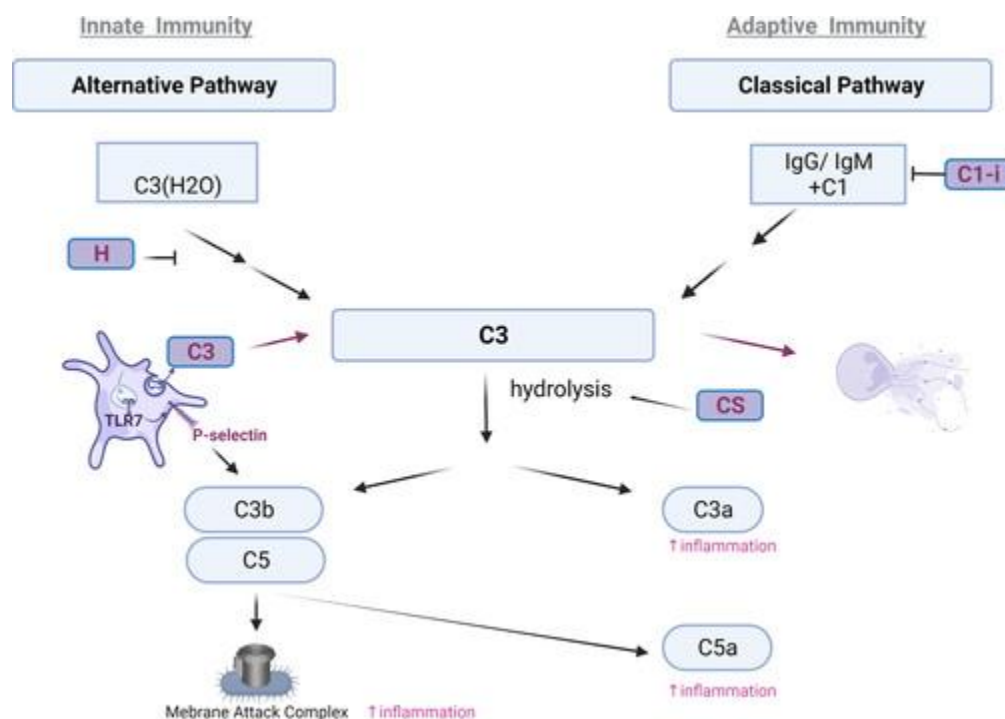


Figura 35. Las plaquetas complementan la respuesta del complemento, uniendo los TLR y el complemento. Las plaquetas contienen varias moléculas que inician (C3) y amplifican (factor H, sulfato de condroitina [CS] o inhiben [C1-i]) la cascada del complemento. La vía alternativa se activa por hidrólisis espontánea del complemento C3 que es estabilizada por las superficies del patógeno y la properdina y es amplificada por el factor B y D del complemento, o inhibida por el factor H e I del complemento. La P-selectina en las plaquetas puede unirse y activar C3b, lo que favorece aún más la activación del sistema del complemento durante la respuesta innata. La vía clásica es iniciada por los complejos de anticuerpos IgM e IgG, así como por las superficies apoptóticas. Durante la infección con virus como el de la gripe, las plaquetas pueden mediar una diafonía entre los TLR y el complemento en la circulación liberando C3 de sus gránulos en función de la activación de TLR7. El receptor plaquetario C3a aumenta la adhesión plaquetaria, la diseminación y la entrada de Ca²⁺ y el C5aR plaquetario inhibe la angiogénesis mediante la inhibición de la función endotelial a través de PF4. La función última del complejo de ataque a la membrana, compuesto por C5b-C6-C7-C8-C9, es lisar un patógeno o células infectadas por patógenos. Fuente: Tomado de (319).

En 2023 Harpf et al. (320) como una manera de entender el papel del complemento y las plaquetas, opsonizaron con suero humano y de ratón esporas de *R. arrizus*, *R. microsporus*, *L. ramosa*, *L. corymbifera*, *R. pusillus* y *M. circinelloides* y se midió la deposición de C1q, C3c y del complejo terminal del complemento (C5b-9). Los resultados mostraron diferencias significativas en la deposición del complemento entre los Mucorales. Por ejemplo, se obtuvo que los aislados de *M. circinelloides* se unen a C5b-9 humano tres veces más que otros Mucorales, mientras que *L. ramosa*, *L. corymbifera* y *M. circinelloides* se unieron a altos niveles de C3c murino, mientras que la deposición humana de C3c se redujo en *M. circinelloides* en comparación con *L. ramosa* y *L. corymbifera*. Con este experimento, los autores demostraron que las deficiencias del complemento y la neutropenia, pero no la trombocitopenia, son un factor de riesgo.

Los hongos desencadenan la activación del complemento, aunque estos microorganismos parecen ser resistentes a la muerte mediada por el complemento, presumiblemente debido a sus gruesas paredes celulares, los componentes opsónicos e inflamatorios del complemento desempeñan un papel central en la inmunidad antifúngica (313). Los mecanismos moleculares para la iniciación y regulación de la cascada del complemento difieren de un hongo a otro, lo que probablemente refleja diferencias en la estructura de las capas externas de la pared celular (321).

6.3 Inmunidad adaptativa

La respuesta inmune adaptativa es altamente específica a patógenos o antígenos y ejecuta varias funciones efectoras a través de la activación de varios componentes del sistema inmune innato. Existen dos respuestas inmunitarias adaptativas clásicas: i) la respuesta mediada por células que incluye la activación de las células T y los mecanismos efectoras, y ii) las respuestas inmunitarias humorales que consisten en la maduración de las células B y la producción de anticuerpos (278).

Mientras el patógeno se replica y los antígenos se acumulan, las células sensoras del sistema inmune innato se activan para desencadenar la respuesta inmune adaptativa (307). Sin embargo, el sistema inmunitario adaptativo desempeña un papel secundario en el manejo de las infecciones fúngicas invasivas causadas por Mucorales (257), y hay pruebas limitadas de un papel importante del sistema inmunitario adaptativo en la lucha contra las mucormicosis (282).

6.3.1 Papel de los Linfocitos T

Los linfocitos T son las células fundamentales en la inmunidad mediada por células y controlan la proliferación fúngica directa o indirectamente. El sistema inmunitario celular se clasifica ampliamente como linfocitos CD4 auxiliares y linfocitos T CD8 citotóxicos (278). Estas células se diferencian en subconjuntos específicos que incluyen células T cooperadoras 1 (Th1), Th2, Th9, Th17, Th22 y células T reguladoras (Treg); cada uno con un perfil específico de citocinas que modula la inmunidad antifúngica (figura 37) (322,323).

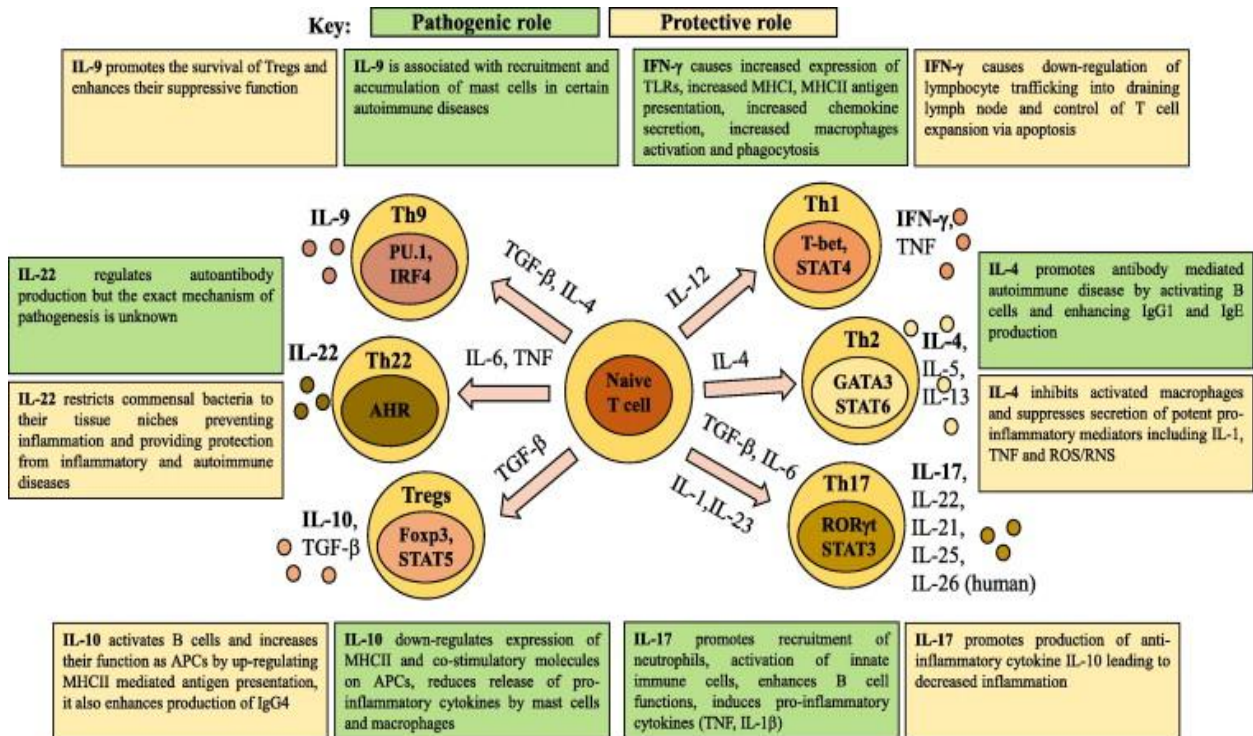


Figura 36. Diferenciación de subconjuntos células T colaboradoras. Las citocinas distintivas de cada subconjunto se muestran en negrita. La IL-12 induce la expresión de T-bet y la diferenciación en el subconjunto Th1 que produce IFN- γ y TNF; La diferenciación de Th2 y la expresión de GATA3 es inducida por IL-4, lo que conduce a la producción de IL-4, IL-5 e IL-13, mientras que TGF- β e IL-4 inducen la expresión de PU.1 que provoca la diferenciación en el subconjunto Th9 que conduce a la producción de IL-9. TGF- β induce la expresión de Foxp3, lo que conduce a la diferenciación en el linaje Treg; La diferenciación de Th17 es el resultado de la expresión de ROR γ t inducida por TGF- β , IL-6 e IL-23, lo que conduce a la producción de IL-17, IL-22, IL-21, IL-25 e IL-26 (humana); La IL-6 y el TNF inducen AHR y diferenciación en el subconjunto Th22 y producción de IL-22. STAT: Transductor de señal y activador de la transcripción; ROR γ : receptor huérfano relacionado con RAR gamma, AHR: receptor de hidrocarburos de arilo, Foxp3: caja de cabeza de horquilla P3. Fuente: Tomado de (323).

El subconjunto Th1 libera IFN- γ , TNF- α y GM-CSF, que fomentan la activación de macrófagos y neutrófilos. La respuesta Th2 modula la función de las células B a través de la producción de IL-4, IL-5 e IL-13. La respuesta Treg libera las citoquinas inmunosupresoras IL-10 y TGF- β y Th17 produce IL-17, una citoquina importante involucrada en la defensa contra infecciones fúngicas (278,323). Las células Th9 producen IL-9 y las Th22 IL-22 (323). La citoquina que prevalece en el microambiente durante la presentación del antígeno, juega un papel relevante en el desarrollo de los subconjuntos de los linfocitos T, además, de que, durante la polarización de Th, esta citoquina tiene un efecto

inhibidor sobre el desarrollo de otros tipos de fenotipos de Th, lo que aumenta la respuesta inmune de cada subconjunto en un momento y condición particulares (324).

Una vez reconocido el antígeno, las proteínas fúngicas se procesan en pequeños péptidos antigénicos y se ensamblan con el Complejo Mayor de Histocompatibilidad MHC-I (proteínas endógenas) y el MHC-II en el caso de proteínas exógenas y posteriormente se transportan a la superficie de las células dendríticas activadas. Posteriormente, las células dendríticas migrarán a órganos linfoides secundarios, como los ganglios linfáticos de drenaje, donde las células T vírgenes se activarán al presentar los péptidos procesados. Los péptidos asociados al MHC-I se presentarán a las células T CD8, mientras que los péptidos asociados al MHC-II se presentarán a las células T CD4. Sin embargo, las células T CD8 también se activarán al presentar los péptidos asociados al MHC-II, este fenómeno se denomina presentación cruzada (278).

Las células Th -1 productoras de INF- γ confieren inmunidad protectora contra los hongos, mientras que las células las respuestas Th-2 aumentan la susceptibilidad a las infecciones fúngicas. Por su parte, las células Th-17 reciben su nombre por su robusta producción de IL-17, y también se han identificado e implicado en la inmunidad de la mucosa contra los hongos (325).

Las células T tienen un papel esencial contra la mucormicosis invasiva, la presencia de hifas de estos hongos induce la producción de células T CD4 y CD8 que liberan citocinas como IL-4, IFN- γ , IL-10 e IL-17. Las células T específicas producen IFN- γ capaces de inducir daño a las hifas de Mucorales, sin embargo, estas células T se pierden poco después de la resolución de la infección (326).

En un análisis de hongos oportunistas transportados por aire como *Aspergillus* spp. y *Rhizopus* spp., se evidenció que desencadenan una vía de detección innata común en las células dendríticas humanas que da como resultado la producción de IL-23 e impulsa respuestas Th-17, que requieren la activación de la selectina-1 por el β glucano presente en la pared del hongo (279).

Lingyue et al. (327) llevaron a cabo una investigación en la que utilizaron ratones knockout Card9 con mucormicosis cutánea causada por *R. arrizhus*. Estos animales exhibieron una producción local de citoquinas alterada con un aumento significativamente diferente en las citoquinas IL-4 e IL-10 de la Th2, además, de una reducción de IL-17 (Th17) e IFN- γ y TNF- α de las células Th1. A partir de los resultados, los autores especularon que la respuesta

de las células Th-17 y la respuesta de las células Th1 ejercieron su papel en la etapa temprana y tardía, respectivamente, sin embargo, la respuesta de las células Th2 participó en todo el período de observación entre los ratones Card9^{-/-}. Los ratones Card9^{-/-} tuvieron una respuesta celular Th1 y Th17 más débil en comparación con los ratones Wild Type, lo que indica que el adaptador Card9 tenía un papel esencial en la protección de los ratones contra la infección por *R. arrhizus*, además, estos ratones fueron más susceptibles a la infección por este hongo.

En otro estudio realizado por Schmidt et al. (328) se evaluó la respuesta celular del huésped frente a los mucormicetes, para lo cual los autores enriquecieron y cultivaron células T anti-*R. arrhizus* de individuos sanos. Al coincubar células T anti-*R. arrhizus* con células presentadoras de antígenos autólogas derivadas de monocitos (APC) cargadas de *R. arrhizus*, un porcentaje significativo de células produjo IFN- γ y TNF- α lo que indica una población Th1. Así mismo, mediante citometría de flujo se reveló una pequeña fracción de células T que producían IL-17 que tras la reestimulación con las APC dio lugar a un aumento 10 veces de las concentraciones de IL-17. Las células se caracterizaron como células Th1 de memoria y efectoras, las cuales proliferaron tras la reestimulación y aumentaron la actividad antifúngica de los fagocitos, la cual se evaluó mediante la actividad de estallido respiratorio de los granulocitos. Otros hallazgos consistieron en que no se detectaron cantidades significativas de células CD8⁺ entre las células T anti-*R. arrhizus* generadas (328). Los linfocitos T anti-*R. arrhizus* funcionalmente activos generados no representan linfocitos CD4 terminalmente diferenciados, pero proliferan tras la reestimulación con antígenos de *R. arrhizus*, lo que podría tener importantes implicaciones clínicas.

Castillo et al. (329) determinaron la viabilidad de reactivar y expandir las células T específicas de *R. arrhizus* para su uso como inmunoterapia adoptiva en receptores de trasplantes. Para estimular células mononucleares de sangre periférica de donantes sanos, en presencia de diferentes combinaciones de citoquinas, se utilizaron monocitos con extracto de *R. arrhizus*. Los productos de células T específicos de *R. arrhizus* generados se fenotiparon después de la tercera estimulación y se caracterizaron por el uso de anticuerpos que bloquean moléculas de clase I/II, así como receptores de reconocimiento de patrones. Los investigadores encontraron que la estimulación con la combinación de IL-2/II-7 podría expandir las células T específicas para *R. arrhizus* obtenidas de donantes sanos. Entre un 17 % y un 83 % de células T CD4⁺ que eran específicas para los antígenos del hongo, secretaron IFN- γ , IL-5, IL-10, IL-13 y TNF- α , además, reconocieron los antígenos

fúngicos presentados por moléculas HLA-II en lugar de hacerlo a través de moléculas no específicas.

6.3.2 Papel de los linfocitos B

El espacio extracelular está protegido por la respuesta inmune humoral (330), en la que los anticuerpos producidos por los linfocitos B se unen a los antígenos expresados en la superficie de los microorganismos patógenos y ejercen actividad antimicrobiana a través de la neutralización, la opsonización, la activación del complemento y la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (331). Esta actividad provoca la destrucción de microorganismos extracelulares y previene la propagación de infecciones intracelulares (330).

Las inmunoglobulinas provocan respuestas inmunitarias protectoras en el huésped al dirigirse predominantemente a los Ag en la pared celular del hongo, como el β -glucano, las proteínas de choque térmico 60, el glucoronoxilomanano y recientemente contra el CotH3 (331,332). Los anticuerpos median la protección en el huésped a través de mecanismos directos e indirectos. Los mecanismos directos inhiben el crecimiento o la actividad microbicida cuando las inmunoglobulinas se unen al patógeno causando una alteración en la expresión génica y el metabolismo fúngico que suprime la virulencia del patógeno. Mientras que, en los mecanismos indirectos los anticuerpos median un aumento del potencial microbicida de las células efectora (333). La opsonización, la activación de la vía del complemento y la toxicidad celular dirigida por anticuerpos (ADCC) se asocian con efectos indirectos de los anticuerpos durante la infección y forman componentes integrales de la defensa del huésped contra patógenos fúngicos (334).

La importancia de las inmunoglobulinas en la respuesta ante los hongos ha sido discutida, pero, aunque no se ha demostrado que tengan un papel principal en el aclaramiento fúngico, se ha mostrado evidencia de que confiere protección a ciertos hongos como *C. neoformans*, *Candida albicans*, *Pneumocystis sp.*, e *Histoplasma capsulatum* (332–335).

Mediante la utilización de anticuerpos policlonales contra péptidos de CotH3, Gebremariam et al. (332) determinaron la protección conferida contra la mucormicosis en los ratones diabéticos cetoacidóticos (CAD) y neutropénicos en comparación con los ratones tratados con suero preinmune de control. En esta parte del estudio, se infectaron dos grupos de ratones con *R. delemar*, el primer grupo se trató con IgG preinmune y el segundo con IgG

anti-CotH3. El primer grupo de ratones mostró una supervivencia promedio de 5 días, mientras que el segundo grupo mostró una supervivencia aumentada hasta un 70%. Se observó una reducción en la carga fúngica pulmonar en los ratones tratados con anti-CotH3, además, se anuló casi por completo la capacidad del hongo de diseminarse al cerebro vía hematogénica comparado con los ratones tratados con IgG control.

Como parte de la investigación anterior, se infectaron ratones neutropénicos intratraquealmente con cinco Mucorales diferentes (*Rhizomucor* sp., *Apophysomyces* spp., *Lichtheimia* sp., *Cunninghamella* sp. y *M. circinelloides*) con el fin de determinar la posible protección de los anti-CotH3 contra esos hongos. Se observó que los anticuerpos redujeron significativamente la mortalidad en ratones infectados con los hongos probados, con el mayor nivel de protección observado en ratones infectados con *Rhizomucor* sp. y *Apophysomyces* sp. (40 a 60% de supervivencia). La inmunización pasiva con anticuerpos anti-CotH3 mejoró la actividad de los neutrófilos aumentando hasta diez veces la producción de mieloperoxidasa, además, mejoró significativamente la fagocitosis de las esporas de *R. delemar* tanto en ratones normales como en ratones con CAD. Además, el aumento de la fagocitosis de las esporas fúngicas en presencia de anticuerpos anti-CotH3 condujo a la maduración del fagolisosoma. Otro hallazgo muestra que la inmunización pasiva con anticuerpos anti-CotH3 mejoró la afluencia de los neutrófilos y desencadenó la eliminación de *R. delemar* por opsonofagocitosis mejorada mediada por el receptor Fc (332).

En la figura 38 se muestra parte de la respuesta inmunitaria a los patógenos fúngicos mencionados anteriormente.

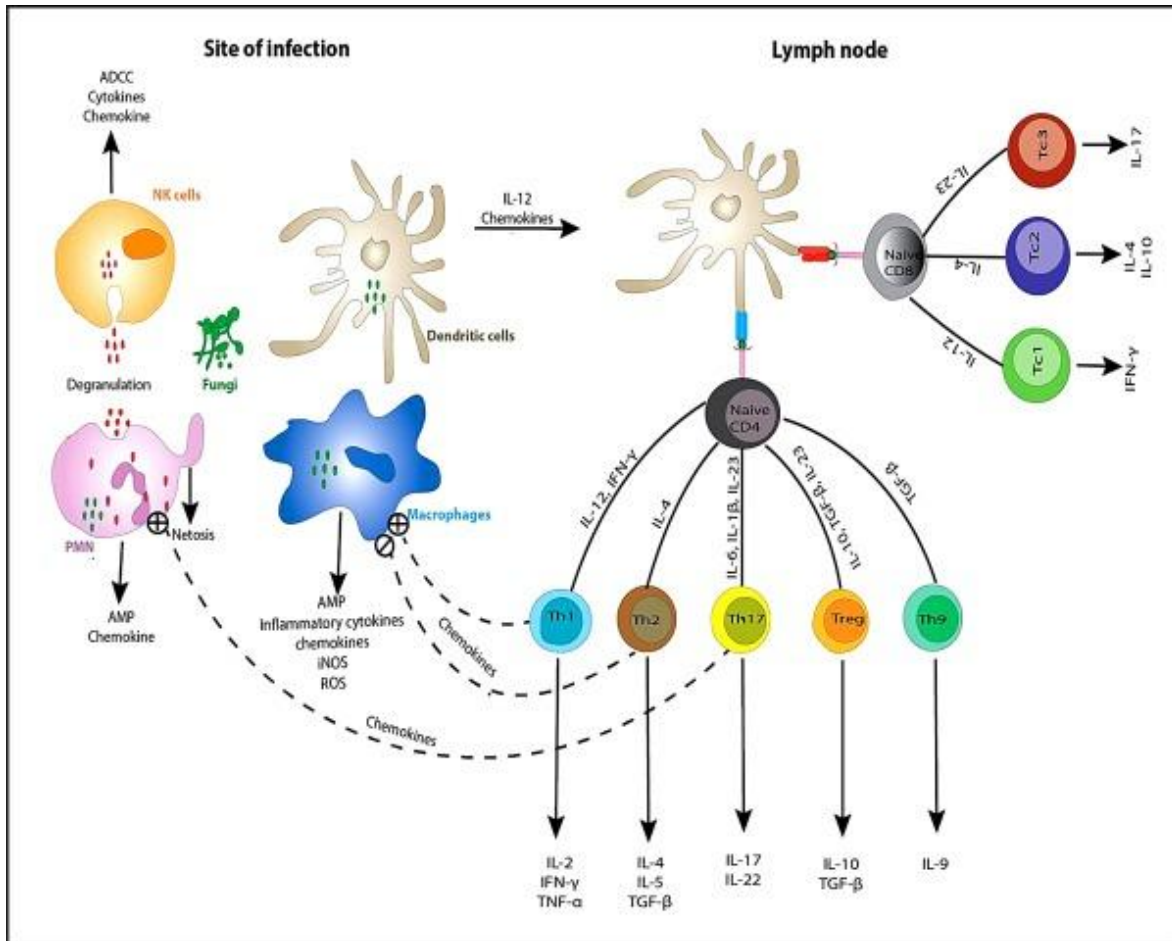


Figura 37. Respuesta inmunitaria a los patógenos fúngicos. Tras la infección fúngica, los macrófagos residentes, las células dendríticas y los neutrófilos polimorfonucleares (PMN) absorben el hongo invadido y sufren fagocitosis. Los macrófagos y PMN secretan péptidos antimicrobianos (AMP), citoquinas inflamatorias y quimiocinas. Los neutrófilos también pueden liberar trampas extracelulares de neutrófilos (NET, por sus siglas en inglés) que capturan las formas hifales de los hongos. Las células NK pueden ser activadas por varios componentes fúngicos y matan directamente mediante la secreción de moléculas citotóxicas. Las CD pueden migrar a los ganglios linfáticos en presencia de IL-12 y quimiocinas y dan forma a la respuesta inmunitaria adaptativa. Las CD presentan los antígenos procesados a las células T vírgenes y conducen a la diferenciación de varios subconjuntos Th y Tc. La diferenciación de cada subconjunto T depende de las citoquinas y del microambiente. Estos subconjuntos ejercen las funciones efectoras mediante la producción de citoquinas, lo que modula la respuesta inmunitaria antifúngica. Las células Th1 y Th17 migran de vuelta al sitio de la infección de manera dependiente de quimiocinas y activan los macrófagos y PMN respectivamente. Fuente: Tomado de (278).

6.4 Citoquinas

Las citocinas son un componente crítico de las defensas antifúngicas innatas funcionales del huésped. En particular, el interferón- γ (IFN- γ) y el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), 2 agentes terapéuticos clínicamente importantes en las infecciones fúngicas (336). La IL-8 y el TNF- α son citoquinas que preparan fuertemente el estallido oxidativo de los PMN en respuesta a los péptidos N-formilo y, por lo tanto, podrían desempeñar un papel crítico en la muerte de hongos, además, la IL-8 desempeña un papel fundamental como quimiocina en el reclutamiento de PMN para focos de infección (191).

Gil-Lamaignere et al. (288) utilizaron sangre de donantes sanos, de la cual aislaron PMN que incubaron con IFN- γ y GM-CSF. El tratamiento de los PMN con la combinación de IFN- γ y GM-CSF aumentó significativamente la liberación del factor de necrosis tumoral- α en respuesta a las hifas de *R. microsporus* y *L. corymbifera*, mientras que el IFN- γ redujo significativamente la liberación de interleucina-8 en respuesta a dichos hongos.

Como se mencionó anteriormente, Th1 libera IFN- γ , TNF- α y GM-CSF, que provocan la activación de macrófagos y neutrófilos. Th2 a través de la producción de IL-4, IL-5 e IL-13 afina la función de las células B, mientras que las células Treg libera citoquinas inmunosupresoras (IL-10 y TGF- β) y Th17 produce IL-17 (322).

En la figura 38 se resume el perfil de las citoquinas mencionados en los apartados anteriores.

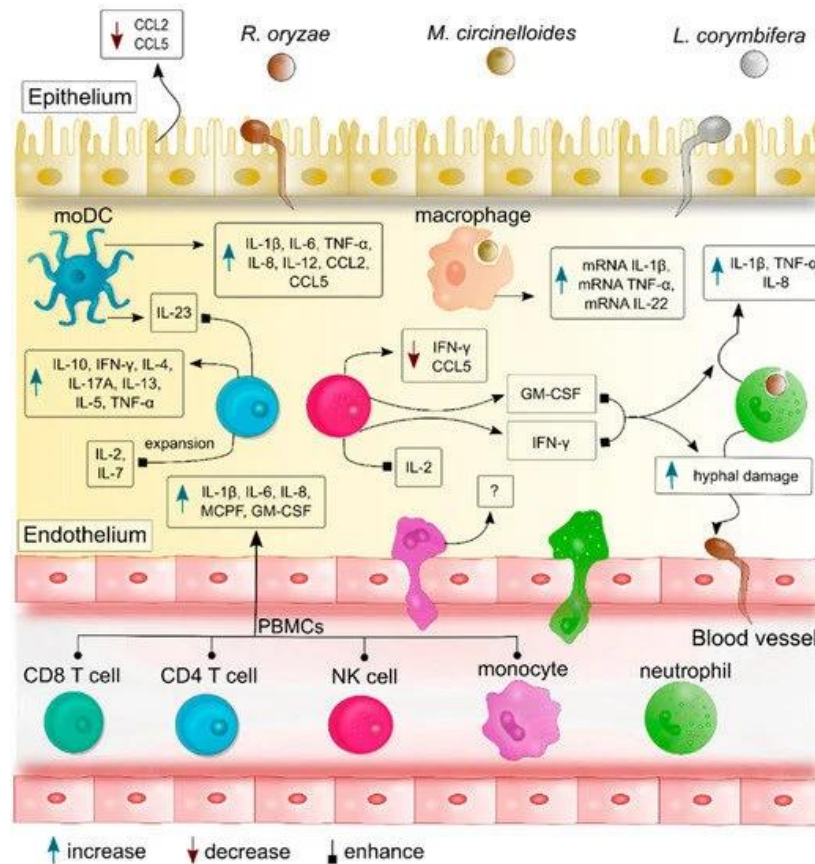


Figura 38. Perfil de citocinas y quimiocinas producidos durante la infección fúngica por Mucorales. Después del reconocimiento de gérmenes y esporas de los Mucorales más comunes (*R. arrhizus*, *M. circinelloides* y *L. corymbifera*), las células inmunitarias producen citocinas y quimiocinas específicas que promueven la activación y expansión de otras células inmunitarias, así como el reclutamiento adicional de leucocitos desde el torrente sanguíneo hasta el sitio de la infección. Estas citoquinas regulan la respuesta inflamatoria ejerciendo más cascadas proinflamatorias y promoviendo la comunicación entre las células inmunitarias. Por ejemplo, el GM-CSF y el IFN- γ producidos por las células NK y las células T mejoran la producción de citoquinas de los neutrófilos y sus porcentajes de daño por hifas a *R. arrhizus* y *L. corymbifera*. Mientras tanto, la IL-2 y la IL-7 inducen la expansión de las células T específicas de Mucorales y su producción de IL-13, IL-5, TNF α e IL-10. Además, las CD producen IL-23 que promueve la liberación de IL-17A por parte de las células T. Fuente: Tomado de (322).

CAPÍTULO 7. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de las mucormicosis es cada vez más difícil debido a la variedad de manifestaciones de la enfermedad, que a menudo imitan a otras infecciones fúngicas, sobre todo la aspergilosis invasiva (337). En pacientes con neutropenia profunda prolongada y receptores de trasplante alogénico de células hematopoyéticas hay un mayor riesgo de enfermedades invasivas ocasionadas por hongos, como la aspergilosis invasiva y la mucormicosis invasiva. En ausencia de un hallazgo microbiológico (por ejemplo, un cultivo positivo), estas dos entidades fúngicas a menudo son indistinguibles (338). Actualmente, no se dispone de ninguna prueba de detección de antígeno circulante (similar a la detección de galactomanano para la aspergilosis invasiva) para el diagnóstico de las mucormicosis. En general se observa que la prueba de detección de 1,3 beta-D-glucano es negativa en las infecciones por Mucorales. Sin embargo, estas dos pruebas ayudan a descartar la aspergilosis invasiva, el diagnóstico diferencial más frecuente, o las infecciones combinadas por *Aspergillus* spp. y Mucorales (208).

El enfoque clínico del diagnóstico tiene una baja sensibilidad y especificidad (2,6,337), y pueden tener problemas con la accesibilidad o el tiempo de respuesta (337), sin embargo, ayuda a levantar sospechas e impulsar el inicio de pruebas de laboratorio (6). Las limitaciones de los métodos de diagnóstico convencionales a menudo conducen a retrasos en el diagnóstico de infecciones fúngicas invasivas, lo que a su vez retrasa el tratamiento y, por lo tanto, es un factor de riesgo clave para los malos resultados de los pacientes (339).

Los requisitos previos para el diagnóstico de mucormicosis son un alto índice de sospecha, el reconocimiento de los factores del huésped y la evaluación rápida de las manifestaciones clínicas (2). Los estudios han demostrado que el diagnóstico precoz de las mucormicosis aumenta la supervivencia y también puede reducir la necesidad o el alcance de la resección quirúrgica, la desfiguración y el sufrimiento (340).

El estándar de oro actual para el diagnóstico de las mucormicosis se basa en los hallazgos histopatológicos y micológicos, seguidos de criterios radiológicos inespecíficos. Sin embargo, estos procedimientos requieren conocimientos especializados y los resultados a menudo no están disponibles de manera oportuna. Para mejorar los resultados, los pacientes con sospecha de mucormicosis deben ser tratados de inmediato (341).

7.1 Diagnóstico clínico

Como se mencionó en apartados anteriores, las presentaciones clínicas más comunes de la infección por Mucorales son enfermedad rino-orbito-cerebral, pulmonar, cutánea, gastrointestinal y diseminada; sin embargo, cualquier órgano puede verse afectado (2). La característica distintiva de las mucormicosis es la necrosis tisular resultante de la angioinvasión y la trombosis, sin embargo, la ausencia de una escara necrótica no impide el diagnóstico. Las lesiones cutáneas necróticas en pacientes inmunocomprometidos pueden deberse a mucormicosis, pero el diagnóstico diferencial incluye otros patógenos, como las especies de *Aspergillus*, *Fusarium*, *Pseudallescheria* y *Scedosporium* (6).

Cada presentación clínica de la mucormicosis tiene sus características; a continuación, se mencionarán solamente para la mucormicosis rino-orbito-cerebral y pulmonar ya que los signos y síntomas de las distintas formas clínicas de dicha fungemia se indican en el apartado referido. En el caso de la mucormicosis pulmonar se presenta fiebre prolongada que no responde a antibióticos de amplio espectro, la tos no productiva es un síntoma común, mientras que la hemoptisis, el dolor torácico pleurítico y la disnea son menos comunes, además, puede presentar disnea, sibilancias y otros síntomas como la fatiga intensa, pérdida de peso involuntaria, anorexia y malestar generalizado (1,3,102,207,208,212). Además, se deben valorar los antecedentes de profilaxis previa con voriconazol o la aparición de infección fúngica irruptiva en un paciente inmunodeprimido que recibe agentes activos contra *Aspergillus* spp. pero no contra Mucorales (2).

Corzo-Leon et al. (342) propusieron un algoritmo para el diagnóstico y tratamiento de la mucormicosis rino-orbito-cerebral en pacientes con diabetes mellitus. Las "señales de alerta" en este algoritmo son la parálisis de los nervios craneales, la diplopía, el dolor sinusal, la proptosis, la hinchazón periorbitaria, el síndrome del ápice orbitario o una úlcera palatina. El hallazgo de cualquiera de estos signos debe dar lugar a pruebas adicionales inmediatas, incluidos análisis de sangre, imágenes, cirugía ocular y/o de los senos paranasales o revisión endoscópica e inicio de tratamiento antimicótico (342). Además, se deben considerar todas las manifestaciones clínicas como el dolor facial intenso, rinorrea serosa, fiebre, malestar general, edema y eritema de la mucosa nasal, cambios en el nivel de conciencia, convulsiones, entre otras manifestaciones descritas anteriormente (1,37,102,207,208).

7.2 Diagnósticos de Laboratorio de rutina

El diagnóstico de las mucormicosis depende del personal capacitado, además, del acceso a diversos análisis micológicos e histológicos. Los pacientes con sospecha de mucormicosis deben ser remitidos inmediatamente a un centro con el nivel de atención más alto (61).

En la práctica clínica, el diagnóstico de laboratorio de las mucormicosis incluye la histopatología, el examen directo y el cultivo (6). La Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas y las Guías Clínicas Conjuntas de la Confederación Europea de Micología Médica recomiendan encarecidamente la microscopía directa, la histopatología y el cultivo (343).

7.2.1 Microscopía directa e histología

Para un diagnóstico presuntivo rápido de las mucormicosis, se puede utilizar la microscopía directa con hidróxido de potasio (KOH) (6,61,208), pero no es posible la identificación a nivel de género o especie en esta etapa (61). Se puede aplicar a todos los materiales enviados al laboratorio clínico, preferiblemente utilizando abrillantadores fluorescentes como el blanco de calcoflúor (208). El calcoflúor se une a la quitina y la celulosa y emiten fluorescencia con la luz ultravioleta (344) que mejoran la visualización de las hifas fúngicas características, en este caso requiriendo un microscopio fluorescente (2,6,61,337).

El material aspirado de los senos paranasales, el esputo en la enfermedad pulmonar y el material de la biopsia debe analizarse con KOH al 10 % o blanco de calcoflúor. La demostración de elementos fúngicos a partir de preparaciones citológicas puede ser compleja como resultado de la dificultad para extraer elementos fúngicos de los tejidos invadidos. Los elementos fúngicos pueden ser raros en los especímenes citológicos y, cuando están presentes, a menudo están fragmentados (345).

La guía mundial para el diagnóstico y tratamiento de la mucormicosis: una iniciativa de la Confederación Europea de Micología Médica en cooperación con el Consorcio de Educación e Investigación del Grupo de Estudio de Micosis, recomienda encarecidamente la microscopía directa con abrillantadores fluorescentes de muestras clínicas, centrándose principalmente en la septación, el ángulo de ramificación y la anchura de las hifas (61).

Los Mucorales se caracterizan por ser no septados o espaciadamente septados, con hifas irregulares, en forma de cinta. Al igual que con las investigaciones histopatológicas, pueden

ocurrir tabiques artificiales debido al plegamiento de hifas o al crecimiento de una hifa, atravesando otra. Una característica diagnóstica importante es la ramificación angular dicotómica ($\geq 45-90$ grados) y mayor diámetro de hifa en comparación con otros hongos filamentosos, de 6 a 25 μm (figura 39) (2,61,208,337). Los hallazgos sugestivos de la microscopía directa, incluso en ausencia de un cultivo positivo, deben considerarse significativos (2,337).

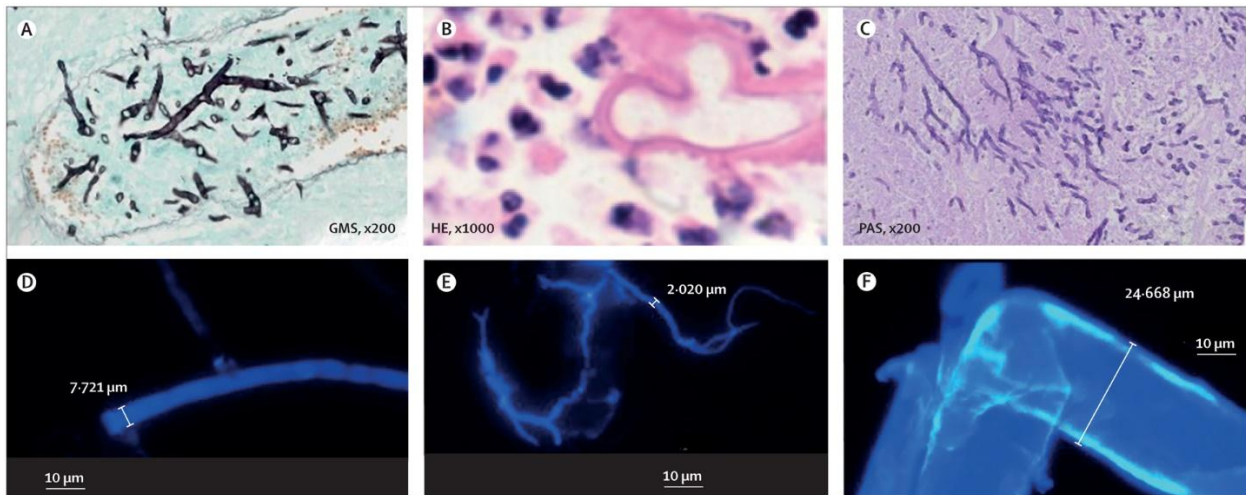


Figura 39. Morfología de las hifas en mucormicosis y aspergilosis. (A) Morfología típica de las hifas en las lesiones de mucormicosis (GMS, $\times 200$). Las hifas de Mucorales miden al menos 6-16 μm de ancho, tienen forma de cinta, son pauci-septadas y se ramifican irregularmente. (B) Estructura hifal cubierta con el fenómeno Splendore-Hoeppli (HE, $\times 1000$). Es probable que el material eosinófilo represente complejos antígeno-anticuerpo. Descrito por primera vez por Splendore en 1908 y por Hoeppli en 1932. (C) Morfología típica de las hifas en las lesiones de aspergilosis (PAS, $\times 200$). Las hifas de *Aspergillus* miden de 3 a 5 μm de ancho, regularmente septadas, con ramificaciones dicotómicas. (De D a F) Tamaños y ángulos de ramificación para Mucorales y *Aspergillus* teñidos con blanco de calcofluor. D y F corresponden a *Rhizopus arrhizus* y E a *Aspergillus fumigatus*. Fuente: Tomado de (61).

La histopatología es una herramienta diagnóstica muy importante, ya que distingue la presencia del hongo como patógeno en la muestra de un contaminante del cultivo y es indispensable para definir si hay invasión de vasos sanguíneos (346). Es importante destacar que la histopatología por sí sola no siempre puede distinguir entre la mucormicosis y otras infecciones fúngicas como la aspergilosis (2). Aunque los Mucorales se describen históricamente como ramificados en ángulo recto en oposición a los ángulos agudos de los mohos septados como *Aspergillus*, esta característica morfológica puede enmascarse por los efectos de la presión sobre el hongo y los efectos de distorsión inducidos por el

procesamiento de tejidos (61). Así, las hifas pueden parecer que tienen septos porque el tejido puede plegarse sobre sí mismo durante el procesamiento, lo que puede crear líneas artificiales que pueden confundirse con tabiques (61).

Las tinciones que pueden ayudar a resaltar la pared fúngica incluyen las tinciones de metenamina-plata de Grocott (GMS), ácido peryódico-Schiff (PAS) y Hematoxilina-Eosina (HE); aunque el PAS proporciona una mejor visualización del tejido circundante en comparación con el GMS, ya que la fragmentación y la necrosis de los elementos fúngicos pueden distorsionar la visualización de las tinciones de GMS, ocasionando que sean ligeramente positivas o negativas (346).

La histología tisular puede revelar inflamación con neutrófilos, aunque la misma puede no mostrar ningún hallazgo en aquellos que reciben medicación inmunosupresora. En las lesiones agudas, puede haber presencia de infarto hemorrágico, angioinvasiones, necrosis e invasión perineural (2,61,208,347); mientras que en las lesiones crónicas puede haber una inflamación piogranulomatosa con presencia de células gigantes y, a veces, de hifas cubiertas por el fenómeno de Splendore-Hoeppli (61,208). En los huéspedes inmunodeprimidos, las hifas se encontrarán con abundante necrosis, hemorragia y trombosis de los vasos sanguíneos (345). La identificación de elementos fúngicos que invaden la pared de los vasos sanguíneos o dentro de su luz son características diagnósticas importantes. En huéspedes inmunocompetentes se acompañan de una intensa inflamación granulomatosa con abundantes neutrófilos y eosinófilos, fibrosis y tejido de granulación (346).

La citopatología, es similar a la microscopía directa en cuanto al procedimiento. Debido a su rapidez, precisión y mínima invasividad, recibe cada vez más atención en el examen de enfermedades fúngicas. En la prueba citopatológica convencional (CCP), la muestra de tejido fresco se coloca en un portaobjetos de vidrio, se sumerge en un medio húmedo, se tiñe con Papanicolaou o "tinción especial", generalmente GMS o PAS, y finalmente se coloca el portaobjetos. La citopatología líquida (CPL) mejora la calidad de las muestras y puede ser extremadamente útil para el diagnóstico rápido de la mucormicosis pulmonar (343).

Jiang et al. (343) realizaron un estudio retrospectivo de 27 pacientes a los que se les realizó fibrobroncoscopia y se diagnosticaron con mucormicosis pulmonar por medio de histopatología. A estos pacientes se les realizó además un cepillado bronquial para CCP y

para CPL para un total de 33 muestras. En la tinción de Papanicolau la plataforma de CPL detectó Mucorales en 28 de las 33 muestras, lo que corresponde a una sensibilidad del 84.85 %, mientras que en CCP se detectó en 15 de 33 muestras lo que representa un 45.45 %. En la tinción de Papanicolaou, las características citomorfológicas de los Mucorales en las muestras de CPL (n = 28) fueron más claras y fáciles de detectar que en las muestras de CCP (n = 15). La calidad de la tinción fue "buena" en el 66.67 % de los CCP y en el 96.43 % de los CPL. Las ramas en ángulo recto fueron "evidentes" en el 53.33 % de los CCP y en el 92.86 % de los CPL. Los resultados de los investigadores sugieren que la CPL puede ser útil para detectar Mucorales con mayor sensibilidad, mejores características citomorfológicas y un fondo de frotis más claro en muestras de cepillado bronquial de pacientes con mucormicosis pulmonar (343), sin embargo, la CPL puede producir falsos negativos cuando hay una pequeña cantidad de hongos o el sitio de la infección no está conectado con el bronquio (348).

7.2.2 Cultivo

Hay científicos como Skiada, que consideran que el cultivo es esencial para el diagnóstico de mucormicosis, ya que permite (en algunos casos) la identificación a nivel de género y especie y, finalmente, las pruebas de susceptibilidad a los antifúngicos (6). Sin embargo, otros investigadores creen que son de menor importancia, debido a que estos hongos suelen ser flora habitual de vías respiratorias, siendo, además, contaminantes muy frecuentes (13). A pesar de que pueden ser contaminantes, su aislamiento de las muestras clínicas de huéspedes susceptibles no debe descartarse como contaminación (345). El cultivo sólo resulta positivo entre el 30 % y 50 % de las muestras y (6,38,337,345) a pesar de su baja sensibilidad, la Confederación Europea de Micología Médica recomienda realizar el cultivo (61), el cual debe hacerse seriado para evitar confusiones (13,38).

La recuperación de Mucorales de los tejidos puede ser problemática y los cultivos negativos parecen estar correlacionados con el procesamiento agresivo de los especímenes antes de la siembra (344). Estos hongos tienen hifas cenocíticas primitivas, que se dañan fácilmente durante los procedimientos de biopsia o la molienda de tejidos en el laboratorio (345), motivo por el cual, es importante realizar un procesamiento suave, ya que la molienda agresiva del tejido puede hacer que los frágiles elementos fúngicos sean inviables (6,337,346).

Los cultivos se realizan a partir de tejido obtenido por desbridamiento, biopsia, lavado broncoalveolar (BAL), secreciones traqueales, etc. (38,345). El cultivo de un sitio estéril confirma la infección por mucormicosis y permite una identificación del género y en algunos casos la especie (61,208), sin embargo, un cultivo positivo de un sitio no estéril debe combinarse con evidencia clínica y radiológica de la enfermedad para lograr un diagnóstico probable (6,61). Los hemocultivos son casi siempre negativos y su positividad debe despertar la sospecha de contaminación (208). El cultivo se debe realizar lo antes posible, ya que no se puede mantener en refrigeración por mucho tiempo, debido a que estos hongos son sensibles a bajas temperaturas (34,345), por lo que, si el cultivo se retrasa, se recomienda el almacenamiento a temperatura ambiente (345).

Los Mucorales son hongos de rápido crecimiento (2,6,345,346) la mayoría de éstos son de importancia médica y termotolerantes (6). La Confederación Europea de Micología Médica recomienda la incubación a 30 °C y 37 °C por separado (61). Los medios de cultivo más empleados son agar Sabouraud Dextrosa, agar extracto de levadura y agar papa dextrosa, nunca se deben sembrar en medios de Sabouraud más antibióticos, porque son inhibidos por la cicloheximida (13,26,38). Para inducir fructificación se utiliza agar líquido, agar papa dextrosa, extracto de malta o Czapek (38). Algunas especies, como *A. elegans* o *S. vasiformis* requieren medios específicos como agar agua con 0.1 % de extracto de levadura, agar papa dextrosa o agar Czapek, para permitir una esporulación suficiente para la identificación microscópica (61).

Al ser de rápido crecimiento, los cultivos están completamente maduros a los tres a cinco días, las colonias son elevadas, cubren toda la superficie del medio de cultivo, y llenan por completo la caja de Petri o el tubo (13,38,345). La mayoría de estos hongos forman colonias vellosas, algodonosas, que mostrarán una coloración superficial que varía desde el blanco puro hasta el bronceado, marrón, gris o incluso el negro (13,26,61,345).

La identificación a nivel de género se puede alcanzar si el aislado esporula, pero la identificación microscópica a nivel de especie requiere un alto nivel de experiencia micológica. El subcultivo del aislado primario y su incubación a diferentes temperaturas pueden ayudar a diferenciar los géneros. Algunas características morfológicas específicas como la presencia de rizoides, columelas, forma y tamaño de los esporangios y esporangiosporas pueden ayudar en la identificación del género (61).

7.2.3 MALDI-TOF

La espectrometría de masas (MS) de tiempo de vuelo por desorción/ionización de matriz asistida por láser (MALDI-TOF) se basa en la ionización de moléculas a partir de una matriz, seguida del análisis del tiempo que tardan en llegar a un detector. Es una técnica de identificación en la que se analiza el contenido de proteínas de células tratadas o intactas de microorganismos bajo la forma de un espectro que se considera como una huella proteica específica de un microorganismo. Este proceso proporciona un perfil de masas (espectro) de los componentes de la muestra, que se compara con una base de datos de perfiles para identificar el organismo (349).

En caso de discordancias en la identificación mediante el análisis de los espectros generados se puede secuenciar la región del espaciador interno transcrito (ITS) que es la región de ADN más ampliamente secuenciada para los hongos. Esta región se recomienda como método de primera línea para la identificación de especies de Mucorales (6). En el caso de dichos hongos el marcador molecular mayormente utilizado es el fragmento ITS1-5.8-S-ITS2 y LSU (ADNr) (350).

Los pasos de esta metodología se podrían resumir de la siguiente manera, previo a la extracción:

- Preparación de la Muestra: Se aplica una muestra del hongo sobre una placa cubierta con una matriz cristalina que facilita la ionización. Esta matriz se elige para que absorba la radiación láser y transfiera energía a las moléculas del hongo.
- Ionización: La muestra se somete a un pulso de láser que provoca la ionización de las moléculas en la matriz, produciendo iones positivos de diferentes tamaños.
- Análisis de Tiempo de Vuelo: Los iones generados se separan según su relación masa-carga en un campo eléctrico. El tiempo que tardan en llegar al detector es inversamente proporcional a su masa, permitiendo la creación de un perfil de masas.
- Comparación con la Base de Datos: El perfil obtenido se compara con una base de datos de perfiles de referencia para determinar la identidad del hongo (349–354).

Cassagne et al. (350) en 2011, diseñaron una base de datos interna de hongos que constaba de 143 cepas. En dicho estudio, el análisis prospectivo de 197 aislados clínicos extraídos de medios sólidos dio como resultado una identificación correcta del 87 % (177

aislados clínicos) a nivel de especie, mientras que el fracaso en la identificación se atribuyó a la falta de representación de los organismos en la base de datos.

Posteriormente Becker et al. (354) recolectaron un total de 390 aislamientos de hongos filamentosos clínicos. La mayoría de las muestras se obtuvieron de pacientes con fibrosis quística (37 %) u onicomicosis (23 %); enfermedades respiratorias como asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, neumonía y aspergilosis (13 %); cáncer (7 %); otomicosis (4 %); e infecciones cutáneas (3 %). Utilizando la base de datos interna, los autores observaron que 10 de los 390 aislados clínicos no fueron identificados por MALDI-TOF MS y otras tres muestras no se pudieron reconocer a pesar de estar representados en la biblioteca. De las 377 muestras restantes, se logró la identificación a nivel de especie en el 95.4 % del total de muestras. Mientras que sólo el 61.5 % de los aislados pudieron identificarse mediante microscopía. *R. microsporus*, *R. arrhizus*, y *M. circinelloides* se lograron identificar correctamente mediante el MALDI-TOF, mientras que *Mucor hiemalis* no se logró identificar correctamente.

De Carolis et al. (353) realizaron un estudio para identificar especies de *Aspergillus*, *Fusarium* y Mucorales, para ello, utilizaron 103 aislamientos clínicos provenientes de una universidad de Italia. Como método de referencia para la designación de especies, se realizó la secuenciación de las regiones transcritas internas ITS1 e ITS2 que flanquean el ADN ribosómico 5.8S (ADNr) (ITS1-5.8S-ITS2) para todos los aislados estudiados, seguida de la secuenciación de porciones parciales de los genes β -tubulina y/o calmodulina para los aislados de *Aspergillus* y del factor de elongación 1 α para los aislados de *Fusarium*. MALDI-TOF MS identificó, 91 de los 94 aislados clínicos (96.8 %) de *Aspergillus*, *Fusarium* y Mucorales. En el caso de los Mucorales, se analizaron 10 especies como *L. ramosa*, *L. corymbifera*, *R. arrhizus*, *R. pusillus* y *M. circinelloides*.

La base de datos más impresionante que se ha publicado en los últimos años ha sido la plataforma de identificación de espectrometría de masas, de libre acceso y basada en la web, desarrollada por Normand et al. (352). Estos investigadores desarrollaron un sitio web y un software que escanea una base de datos de hongos de 11 851 espectros, correspondientes a 938 especies (patógenas y no patógenas) y 246 géneros encontrados en laboratorios clínicos. La aplicación en línea permitió identificar hasta el 92.61 % de 501 aislados de hongos derivados de muestras humanas, procedentes de cinco laboratorios diferentes en dos países. Solo el 5 % de las identificaciones fueron insatisfactorias

(correctas a nivel de género, pero no a nivel de especie), y ninguna de las identificaciones fue falsa a nivel de género.

Actualmente, hay dos sistemas principales de MALDI-TOF MS en el mercado: MALDI BioTyper (MBT; Bruker Scientific) y VITEK MS (BioMerieux). El MALDI BioTyper fue aprobado por la FDA en 2013 solo para la identificación de bacterias y levaduras; aunque en 2012 se puso a disposición una base de datos separada de FilFungal disponible para la identificación de mohos solo para uso en investigación. Por el contrario, la versión 3.0 de VITEK MS fue autorizada por la FDA en 2017 con una base de datos que amplió las bacterias, levaduras, hongos y micobacterias (351) (Tablas 1, 2 y 3).

Tabla 1. Lista de las especies/grupos de Mucorales de la Fungi IVD Library Versión 2022 que forma parte del MBT HT Filamentous Módulo IVD Fungi.

<i>Cunninghamella bertholletia</i>	<i>Mucor racemosus</i>
<i>Cunninghamella elegans</i>	<i>Mucor sp.</i>
<i>Lichtheimia corymbifera</i>	<i>Rhizomucor miehei</i>
<i>Lichtheimia ramosa</i>	<i>Rhizomucor pusillus</i>
<i>Mucor amphibiorum</i>	<i>Rhizopus delemar</i>
<i>Mucor circinelloides</i>	<i>Rhizopus microsporus</i>
<i>Mucor genevensis</i>	<i>Rhizopus arrhizus</i>
<i>Mucor hiemalis</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>
<i>Mucor indicus</i>	<i>Syncephalastrum monosporum</i>
<i>Mucor lanceolatus</i>	<i>Syncephalastrum racemosum</i>
<i>Mucor moelleri</i>	

Fuente: Elaboración propia en base a la referencia (355).

Tabla 2. Lista de especies/ Mucorales de la Base de datos del Vitek MS Prime: Base de datos clínica.

<i>Lichtheimia corymbifera</i>
<i>Mucor circinelloides</i>
<i>Mucor circinelloides f.sp circinelloides</i>
<i>Mucor lanceolatus</i>

<i>Mucor racemosus</i>
<i>Mucor velutinosus</i>
<i>Rhizopus arrhizus</i>
<i>Rhizopus arrhizus complex</i>
<i>Rhizopus microsporus</i>
<i>Saksenaea erythrospora</i>

Fuente: Elaboración propia en base a la referencia (355).

Tabla 3. Lista de especies/ Mucorales de la Base de datos del Vitek MS Prime: Base de Datos de investigación RUO.

<i>Actinomucor elegans</i>	<i>Mucor velutinosus</i>
<i>Cunninghamella bertholletiae</i>	<i>Rhizomucor miehei</i>
<i>Cunninghamella elegans</i>	<i>Rhizomucor pusillus</i>
<i>Lichtheimia corymbifera</i>	<i>Rhizopus arrhizus</i> (Synonym: <i>Rhizopus arrhizus</i>)
<i>Mucor circinelloides</i>	<i>Rhizopus microsporus</i>
<i>Mucor circinelloides ssp circinelloides</i>	<i>Rhizopus microsporus var chinensis</i>
<i>Mucor fragilis</i>	<i>Rhizopus microsporus var oligosporus</i>
<i>Mucor hiemalis</i>	<i>Rhizopus microsporus var rhizopodiformis</i>
<i>Mucor irregularis</i>	<i>Rhizopus schipperae</i>
<i>Mucor lanceolatus</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>
<i>Mucor plumbeus</i>	<i>Saksenaea erythrospora</i>
<i>Mucor racemosus</i>	<i>Saksenaea vasiformis</i>
<i>Mucor racemosus fsp racemosus</i>	<i>Syncephalastrum racemosum</i>

Fuente: Elaboración propia en base a la referencia (356)

La determinación rápida y precisa de la masa molecular y la posibilidad de automatización, han hecho de MALDI-TOF MS una alternativa real a los métodos microbiológicos y moleculares convencionales (353). Sin embargo, la Confederación Europea de Micología Médica, respalda moderadamente la identificación por MALDI-TOF porque se basa principalmente en bases de datos internas y muchos laboratorios no tienen esa capacidad (61).

Algunas de las limitaciones de esta metodología son:

- Base de datos limitada: La precisión de MALDI-TOF depende de la calidad y extensión de la base de datos utilizada. Algunas especies de Mucorales pueden no estar adecuadamente representadas.
- Preparación de muestra: La identificación puede verse afectada por la preparación inadecuada de la muestra o la presencia de contaminantes.
- Variabilidad entre laboratorios: Diferentes laboratorios pueden obtener resultados ligeramente diferentes debido a variaciones en los protocolos y bases de datos (349–354).

Los datos de series de casos sobre espectrometría de masas MALDI-TOF para la identificación de Mucorales son prometedores para los laboratorios que están equipados (6,337), pero las bases de datos disponibles comercialmente deben ampliarse aún más y se necesitan más datos de validación (6). Por lo que, la creación de una amplia base de datos en línea de espectros fúngicos que abarque todas las especies implicadas en enfermedades humanas podría representar un gran avance en este campo, siempre que se desarrollen algoritmos fiables que permitan consultar miles de espectros de referencia en una fracción de segundo (352). A pesar de las bondades de esta metodología, los enfoques moleculares siguen siendo el método definitivo o estándar de oro para la identificación de especies (6,337).

7.3 Radiología

La tomografía computarizada (TC) de tórax brinda señales importantes para la sospecha clínica y el tratamiento precoz de la neumonía invasiva por hongos en pacientes inmunocomprometidos. Los hallazgos radiográficos en las mucormicosis varían según el sitio de la enfermedad, y las imágenes a menudo sirven para establecer la sospecha clínica y guiar la biopsia para el diagnóstico definitivo (215). El signo de halo inverso o múltiples nódulos en la TC de tórax son signos característicos de la mucormicosis pulmonar (215).

El signo de halo inverso, también llamado signo de atolón, se describió como un borde de consolidación que rodea un centro de opacidad en vidrio esmerilado en la TC. Aunque anteriormente se consideraba que el signo de halo inverso era un signo inespecífico de varios trastornos, un estudio reciente demostró que es un fuerte indicador de mucormicosis pulmonar (PM) (357).

En un estudio de casos llevado a cabo por Legouge et al. (358) se analizaron 16 eventos de mucormicosis pulmonar en pacientes con leucemia, de los cuales, 15 presentaban

neutropenia. A todos se les realizó TC con una mediana de tiempo de un día entre los primeros signos clínicos de mucormicosis pulmonar y la TC inicial. En 14 casos (88 %) esta primera TC mostró un macronódulo solitario localizado en el lóbulo superior o medio (56 % y 12 %, respectivamente). La mediana del diámetro de la lesión fue de 4.55 cm. De los 16 pacientes, 15 presentaban una lesión principal que consistía en una opacidad focal en vidrio esmerilado rodeada por un anillo de consolidación, definiendo el signo de halo inverso durante la primera semana de la enfermedad. Por lo que éste podría ser un signo sensible para mucormicosis pulmonar, especialmente al principio de la enfermedad.

Todos los pacientes con este signo (halo inverso) presentaban neutropenia. En el paciente que no tenía neutropenia se observó la opacidad en vidrio esmerilado (semejante a la que se observa en aspergilosis pulmonar), pero no el signo de halo inverso. Otros signos observados fueron el aumento del diámetro de la lesión, presencia de micronódulos y derrame pleural (hasta un 91 % y un 64 %, respectivamente) (358).

Caillot et al. (359) realizaron otro estudio de casos de 23 pacientes con leucemia, los cuales presentaron mucormicosis pulmonar comprobada en 17 casos y probable en seis. Todos los pacientes con MP presentaron el signo de halo inverso. Mientras que solo un paciente presentaba neutropenia en el momento del análisis. En esta serie de casos *Rhizomucor* spp. fue el género más frecuente, identificado en el 68 % de los casos, seguido de *Lichtheimia* spp. con el 23 % de los casos.

Como se mencionó anteriormente, Jung et al. (215) realizaron un estudio retrospectivo en el que se compararon las tomografías computarizadas de 24 pacientes con MP y de 96 pacientes con API, se encontró que el signo de halo inverso era más frecuente en pacientes con MP (54 %) que en aquellos con aspergilosis (6 %). Por otro lado, Chamilos et al. (360) realizaron un informe que compara los hallazgos clínicos y radiológicos en mucormicosis pulmonar y aspergilosis pulmonar invasiva, el cual demostró que el derrame pleural y la presencia de múltiples nódulos (diez o más) eran predictores independientes de mucormicosis pulmonar.

En la figura 40 se observan los principales signos que pueden sugerir una mucormicosis pulmonar.

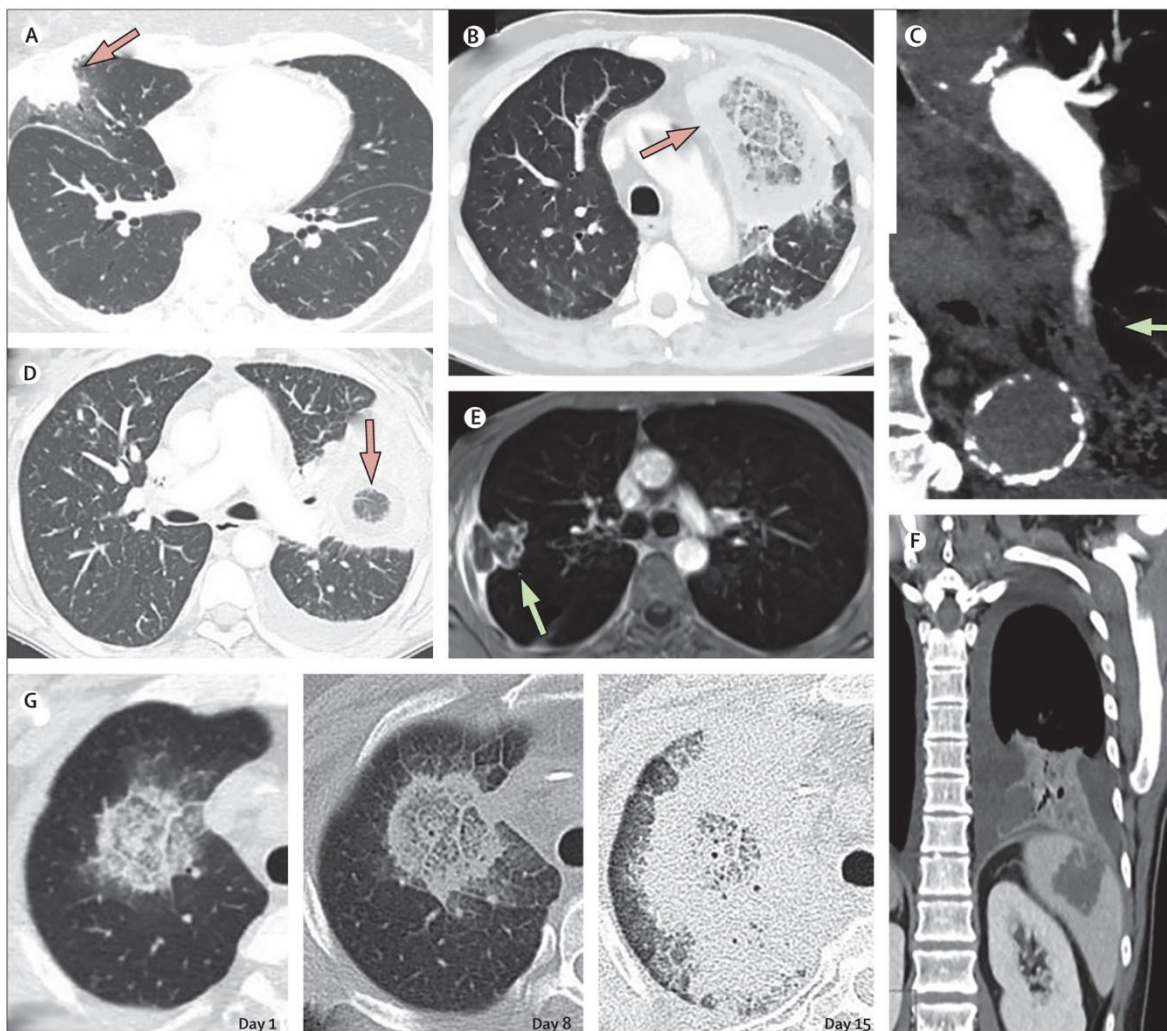


Figura 40. Signos imagenológicos que pueden sugerir mucormicosis pulmonar. (A) Signo de halo en la TC, un anillo de opacidad en vidrio esmerilado que rodea un infiltrado nodular, que fisiopatológicamente representa una región de isquemia, y que también es típico de la aspergilosis pulmonar invasiva (flecha). (D y B) Signo de halo invertido en TC, también conocido como halo invertido o signo de atolón, un área de opacidad de vidrio esmerilado rodeada por un anillo de consolidación (flecha). (E) Signo hipodenso en la resonancia magnética, ponderado en T1, una hipodensidad central en una consolidación pulmonar o nódulo, correspondiente a un área central de necrosis causada por obstrucción vascular con infarto pulmonar secundario y secuestro. La resonancia magnética muestra un nódulo pulmonar con hipodensidad central en el lóbulo superior derecho (flecha), correspondiente a un área central de necrosis causada por obstrucción vascular con infarto pulmonar secundario y secuestro. (C) Signo de oclusión vascular en la angiografía por TC, definido como un vaso interrumpido en el borde de una lesión focal sin representación del vaso dentro de la lesión o periférico a la lesión (flecha). Las formas particularmente agresivas de mucormicosis son F. Diseminación contigua en la TC, presencia de una masa o consolidación que exhibe invasión de órganos adyacentes al atravesar planos de tejido, incluidos el diafragma, la pared torácica, la pleura y el bazo. (G) Mucormicosis pulmonar típica rápidamente progresiva en la TC, asociada a deterioro clínico. Tomografías computarizadas de día 8 y día 15 que muestran un signo de halo invertido. Fuente: Tomado de (61).

Debe enfatizarse que, ningún hallazgo radiográfico por sí solo ha demostrado tener un resultado adecuado con la especificidad o sensibilidad necesaria para descartar la presencia o ausencia de mucormicosis pulmonar. Debido a que una amplia gama de enfermedades infecciosas y no infecciosas pueden presentar estos signos en la TC, el valor diagnóstico de estos hallazgos depende de la probabilidad de prueba. Por otro lado, la oclusión de vasos detectada por angiografía pulmonar por TC, es un signo radiológico más específico que otros hallazgos comunes de la TC en la enfermedad invasiva por hongos en pacientes con neoplasias hematológicas malignas (61).

En los senos paranasales, el hallazgo radiográfico más común es la sinusitis que no se distingue de la infección bacteriana. Mientras el engrosamiento de la mucosa y la opacificación parcial o completa de los senos paranasales son frecuentes, la erosión ósea es una enfermedad poco frecuente y muy tardía. La destrucción ósea es una manifestación tardía de una posible infección orbitaria o craneal. Sin embargo, la ausencia de afectación sinusal por tomografía computarizada tiene un fuerte valor predictivo negativo para enfermedades rino-orbita-cerebrales. La resonancia magnética es sustancialmente más sensible que la tomografía computarizada a detección de afectación orbitaria y cerebral (61).

Herrera et al. (361) evaluaron datos imagenológicos y clínicos de cinco pacientes con mucormicosis en las áreas craneofaciales (figura 41). Todos los pacientes eran diabéticos y a todos se les realizó resonancia magnética. Todos los pacientes presentaron sinusitis y síntomas oftalmológicos. Tres pacientes (60 %) presentaron síntomas clínicos de afectación de los senos cavernosos, incluyendo diplopía/oftalmoplejía y dolor/entumecimiento facial. De los cuatro pacientes que tenían tomografías computarizadas disponibles para su revisión, tres tenían lesiones isodensas en el músculo/cerebro. Solo un paciente tenía lesiones hiperdensas en relación con el músculo/cerebro en la porción no invasiva, lo que sugiere cambios obstructivos secundarios. En el caso de la resonancia magnética la mayoría de los pacientes (80 %) tenían lesiones isointensas en relación con el cerebro en imágenes ponderadas en T1. La intensidad de la señal en las imágenes ponderadas en T2 fue más variable, con solo un paciente (20 %) que mostró hiperintensidad. El resto de las lesiones fueron hipointensas o isointensas en imágenes de tiempo de retención prolongado.

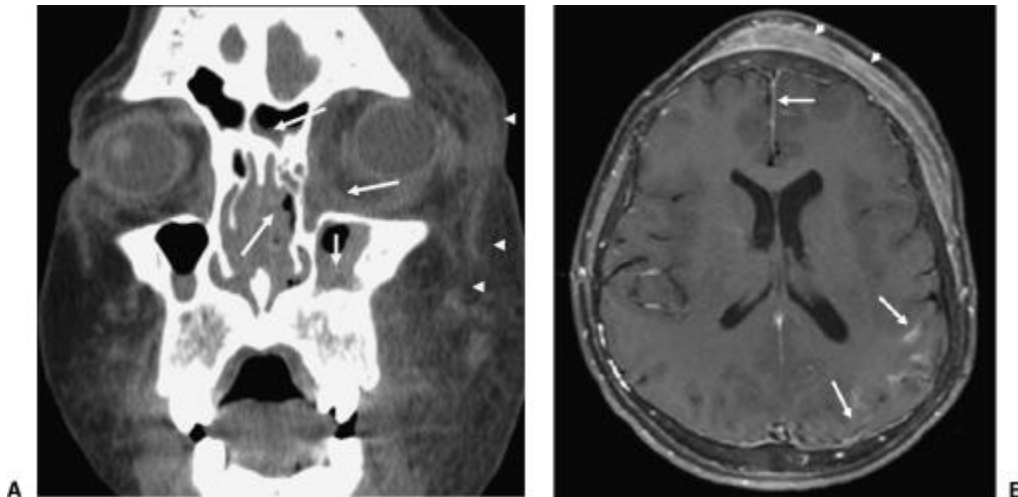


Figura 41. Tomografía computarizada y resonancia magnética de un paciente con ROCM. Paciente masculino de 13 años con anemia blástica y neutropenia. (A) La imagen coronal de tomografía computarizada muestra un proceso inflamatorio extenso que involucra la cavidad nasal, las células etmoides, el maxilar, el seno frontal y la órbita izquierda, lo que puede hacer sospechar una infección fúngica invasiva (flechas). Los tejidos blandos faciales también están involucrados (puntas de flecha). (B) La imagen axial ponderada en T1 saturada de grasa por resonancia magnética muestra realce pial/aracnoideo correspondiente a la diseminación de la mucormicosis leptomeníngea (flechas). Se vuelve a notar compromiso de los tejidos blandos (puntas de flecha). Fuente: Tomado de (361).

Therakathu et al. (362) revisaron la historia clínica de 43 pacientes con mucormicosis rinoencefálica invasiva comprobada por biopsia/cultivo. Se extrajeron imágenes de TC y/o resonancia magnética (RM) y se analizaron. Los pacientes presentaron inicialmente afectación nasal que luego se extiende a las órbitas, el espacio masticador, la cara, la fosa pterigopalatina, el paladar duro, el alvéolo maxilar, el proceso cigomático, la base del cráneo que involucra el clivus y la apófisis pterigoidea y la extensión intracraneal para involucrar el seno cavernoso, la arteria carótida interna y los hemisferios cerebrales. La TC mostró un engrosamiento de los tejidos blandos hipodensos con un realce mínimo como hallazgo predominante en las áreas afectadas, mientras que la RM mostró un engrosamiento de los tejidos blandos de isointenso a levemente hipointenso en T2 y un realce heterogéneo después del contraste como el hallazgo principal.

Para otras partes del cuerpo, no se ha demostrado que los estudios de imagen sean sensibles o específicos para las mucormicosis. Por lo que, en caso de sospecha de mucormicosis, el tratamiento debe iniciarse empíricamente a la espera de la confirmación final, que suele requerir biopsia y cultivo (61).

A pesar de los hallazgos por medio de radiología, el diagnóstico diferencial debe considerar otros hongos, enfermedad de Graves, fístula y trombosis cavernosa carotídea, celulitis bacteriana, pseudotumor inflamatorio y tumor del seno paranasal. Las características clínicas agresivas de la enfermedad pueden sugerir el diagnóstico de infección fúngica, pero el diagnóstico final depende de la demostración anatomopatológica de la invasión del tejido fúngico (361).

Las imágenes ayudan a evaluar la extensión de la enfermedad y la identificación de complicaciones como la trombosis, por lo que son indispensables para la planificación quirúrgica (363). Sin embargo, las técnicas de imagen, incluida la resonancia magnética, muestran características inespecíficas durante la etapa temprana de la enfermedad, como el engrosamiento de la mucosa, lo que puede retrasar el diagnóstico. Por lo tanto, es obligatoria una alta sospecha clínica para la detección precoz de esta afección (362).

7.4 Serología

No existen marcadores de antígenos disponibles comercialmente para detectar Mucorales, como el galactomanano para *Aspergillus*. Así mismo, la prueba de β -d-glucano panfúngico no detecta los antígenos en las paredes celulares de los Mucorales (6,61,337), ya que los Mucorales carecen de este carbohidrato en sus paredes celulares (364). No obstante, estas dos pruebas ayudan a descartar la aspergilosis invasiva, el diagnóstico diferencial más frecuente, o las infecciones combinadas por *Aspergillus* spp. y Mucorales (208). Por otro lado, las pruebas de galactomanano en sangre y lavado broncoalveolar en pacientes hematológicos o pacientes con resultados de imágenes de TC de tórax compatibles con infección fúngica se pueden utilizar para discriminar la probabilidad de mucormicosis (6,61,337).

Burnham et al. (365) mediante un estudio realizado en 2018 revelaron que la conservación de un componente estructural de la pared celular (Mnn9p), común en hongos *Mucoromycota* y *Ascomycota* es un objetivo de diagnóstico aplicable a múltiples hongos patógenos. El Mnn9p es un componente del complejo de polimerización de manano de levadura y es necesario para la producción de manano α -1,6. En la investigación se produjeron anticuerpos monoclonales (mAb) (2DA6) reactivos con esta estructura panfúngica y se utilizaron para construir inmunoensayos (incluidos ELISA y ensayo de flujo lateral) para la detección de una amplia gama de hongos patógenos como *Mucor*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Fusarium* y *Candida*. Dichos estudios revelaron que la conservación del

manano ligado al α -1,6 en hongos de *Mucoromycota* y *Ascomycota* puede explotarse como una amplia diana diagnóstica. En esta investigación, los autores encontraron que el anticuerpo monoclonal 2DA6 era altamente reactivo con el fucomanano purificado de *Mucor* spp.

A pesar de la utilidad que pueda tener el mAb 2DA6, éste carece de especificidad, reaccionando de forma cruzada con un epítipo en mananos α -1,6 conservados entre levaduras patógenas humanas y hongos filamentosos, incluyendo *Candida albicans* y los hongos angioinvasivos, *Aspergillus*, *Fusarium* y *Scedosporium*, siendo no deseable ya que es necesario discriminar las especies infectantes para optimizar el tratamiento con fármacos antifúngicos y para prevenir infecciones irruptivas por *R. arrhizus* (366)

Durante el curso de la mucomicosis invasiva (MI) se producen linfocitos T específicos de Mucorales y participan en la eliminación de la infección (326,367). Mediante una investigación se evaluó la factibilidad de la detección de linfocitos T específicos de Mucorales en 204 pacientes hematológicos con riesgo de MI. Mediante un ensayo de inmunopunto ligado a enzimas, se investigó la presencia de células T productoras de IFN- γ , IL-10 e IL-4 específicas de Mucorales en muestras de sangre periférica en tres momentos durante la quimioterapia de dosis alta para neoplasias malignas hematológicas. Estas células pudieron demostrarse en el 10.3 % de 204 pacientes con enfermedad fúngica invasiva probable. Sin embargo, solo a dos pacientes se le comprobó MI (367).

Mediante un estudio prometedor, Sato et al. (368) buscaron proteínas secretadas o unidas a membranas de *R. arrhizus*, utilizando el método de trampa de secuencia de señales por expresión mediada por retrovirus (SST-REX). Entre las proteínas identificadas en ratones infectados con *R. arrhizus* se seleccionó una proteína hipotética de 23kDa llamada "proteína RSA". Para evaluar la concentración sérica, se utilizó un ELISA con dos anticuerpos policlonales (uno de captura y otro para detección) contra la proteína RSA. Los resultados obtenidos sugieren que la detección de la proteína RSA en suero puede ser una prueba diagnóstica prometedora para las mucormicosis ocasionada por *R. arrhizus* y tan eficaz como los ensayos de qPCR. Además, los investigadores demostraron que la concentración de antígeno también está elevada en los pulmones murinos infectados, lo que sugiere que el antígeno en las muestras de biopsia pulmonar puede ser útil como biomarcador. El análisis BLAST mostró que esta proteína está bien conservada entre *Rhizopus* spp., pero no existe en *Aspergillus* spp. Debido a que otros Mucorales no tienen esta proteína, puede servir como un marcador específico de la infección por *Rhizopus* spp. (368).

Davies y Thornton desarrollaron un mAb de clase IgG1, el KC9, específico de *R. arrhizus* var. *arrhizus* (syn. *Rhizopus arrhizus*) y *R. arrhizus* var. *delemar* (*Rhizopus delemar*), que se une a un antígeno polisacárido extracelular (EPS) de 15 kDa, secretado durante el crecimiento de las hifas del patógeno. Utilizando el mAb, los investigadores desarrollaron un dispositivo de flujo lateral competitivo que permite la detección rápida (30 min) y sensible (~50 ng/mL de tampón corriente) del biomarcador EPS, y que es compatible con el suero humano (límite de detección de ~500 ng/mL) y el líquido de lavado broncoalveolar (límite de detección de ~100 ng/mL). El mAb KC9 específico de la especie descrito en el estudio, se une a un antígeno EPS termoestable producido durante el crecimiento activo del patógeno y, por lo tanto, potencialmente durante el crecimiento angioinvasivo en humanos. La prueba requiere validación clínica para determinar su utilidad diagnóstica en la detección de enfermedades humanas, ya que, hay que validar la relevancia clínica del límite de detección y las concentraciones de antígenos en los cuadros de mucormicosis. Una desventaja de la prueba es la incapacidad de detectar Mucorales distintos a *R. arrhizus* como *Lichtheimia* spp. o *Apophysomyces* spp. (366).

Recientemente Thornton et al. (369) desarrollaron el mAb TG11 de la clase IgG2b, que se une a EPS de entre 20 kDa y 250 kDa, secretados durante el crecimiento de hifas de hongos Mucorales. Los investigadores desarrollaron un dispositivo competitivo de flujo lateral que permite la detección rápida (30 min) del biomarcador EPS en suero humano y BAL, con un límite de detección en suero humano de ~100 ng/mL de suero (~224.7 pmol/L de suero). En el ensayo se detectaron Mucorales como *Lichtheimia* spp., *M. circinelloides*, *R. arrhizus*, *R. microsporus* var. *rhizopodiformis*, *Actinomucor* spp., *Apophysomyces* spp., *Cunninghamella* spp., *Rhizomucor* spp., *Sakseneae* sp., *Syncephalastrum* sp., y otras especies de *Rhizopus* y *Mucor*.

Es importante mencionar que el mAb es específico de Mucorales y no reacciona de forma cruzada con otras levaduras y mohos de importancia clínica, incluidas las especies *Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Fusarium*, *Lomentospora* y *Scedosporium* (369). Por lo que, esta investigación ofrece una nueva oportunidad potencial para la detección de mucormicosis causadas por diferentes especies de Mucorales.

7.5 Diagnóstico Molecular

Los métodos moleculares han evolucionado como una herramienta útil para confirmar la infección e identificar las cepas involucradas (6), proporcionando una nueva comprensión

de la epidemiología de las mucormicosis mejorando el diagnóstico y el tratamiento de esta enfermedad potencialmente mortal (370).

Estas técnicas son fundamentales en el diagnóstico de las mucormicosis, ya que permiten obtener resultados más rápidos de las muestras clínicas y/o detectar el ADN de Mucorales en muestras con cultivo negativo, además de desempeñar un papel emergente en el seguimiento de biomarcadores moleculares (337).

Los ensayos moleculares incluyen la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional, secuenciación de amplicones, análisis de polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) (371), secuenciación de ADN de regiones génicas definidas, PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) y análisis de la curva de fusión de alta resolución de los productos de PCR (372). La mayoría de los ensayos moleculares se dirigen al espaciador interno transcrito (ITS1 e ITS2) o a los genes 18S rRNA, 28S rRNA, el gen de la permeasa de hierro de alta afinidad (FTR1), el gen mitocondrial *mtl*, gen del citocromo *b* y el gen que codifica el recubrimiento de esporas (Coth) (2,372). Según la guía mundial para el diagnóstico y tratamiento de la mucormicosis del 2019, la región ITS es la región de ADN más ampliamente secuenciada para los hongos en general. La secuenciación de ITS es un método confiable y ha sido típicamente el más útil para la identificación molecular sistemática a nivel de especie y se recomienda como un método de primera línea para la identificación de especies de Mucorales (61).

Numerosos estudios han utilizado muestras fijadas en formol, incluidas en parafina (373) o de tejido fresco, suero, sangre y muestras de BAL para investigar este tema, con diferentes niveles de sensibilidad (62 a 100 %) y especificidad (89 a 100 %) (373,374). El rendimiento diagnóstico del PCR de Mucorales en suero o sangre total es limitado con una eficacia que varía ampliamente (337). Sin embargo, las técnicas de qPCR son rápidas (alrededor de 3 horas de tiempo de respuesta), específicas y rentables. Por lo que, dicha técnica para la detección de Mucorales en suero/plasma se puede utilizar para cribar sistemáticamente a pacientes de alto riesgo con neoplasias hematológicas malignas y pacientes con quemaduras graves (370).

En un estudio de 232 pacientes con sospecha de invasión micótica, se analizaron muestras de suero mediante qPCR dirigidos a los géneros *Lichtheimia*, *Rhizomucor* y *Mucor/Rhizopus*. Del total de pacientes, 27 cumplían con el criterio de mucormicosis probada/probable, 23 de éstos tenían al menos una muestra de suero (qPCR) de Mucorales

positiva. La sensibilidad reportada en dicho estudio fue de 85.2 % con una especificidad de 89.9 %. (359,370).

Legrand et al. (375) utilizando un método de qPCR, descubrieron que la detección de ADN circulante de Mucorales permitía un diagnóstico más temprano (hasta 11 días antes del diagnóstico basado en cultivo) de la mucormicosis invasiva de la herida en pacientes con quemaduras graves, permitiendo un inicio más temprano del tratamiento. En dicho estudio se analizaron 418 muestras de 77 pacientes con quemaduras graves. El diseño de los cebadores solo permitió la identificación a nivel de género (*Rhizomucor sp./Rmuc1*, *Lichtheimia sp./Acory1*, *Rhizopus sp./Muc1*, *Mucor sp./Muc1*), lo cual puede ser una limitante del estudio, además de ser unicéntrico con un conjunto de muestras pequeño.

Por su lado Springer et al. (376) mediante un ensayo de PCR en tiempo real específico de Mucorales (Muc18S) lograron la detección temprana (21 días antes en comparación con los métodos convencionales) en muestras de sangre y tejido de pacientes hematológicos con mucormicosis invasiva. Este estudio permitió la detección de ADN de estos hongos en todos los pacientes (5) con mucormicosis invasiva probable/comprobado y en el 29 % de los 17 casos posibles. Una ventaja del ensayo Muc18S es que detecta exclusivamente las especies de Mucorales, lo que permite el diagnóstico del ADN sin secuenciación en unas pocas horas.

El homólogo de la proteína de recubrimiento de esporas que codifica los genes CotH se ha convertido en un objetivo prometedor de PCR, ya que los genes están presentes de manera única y universal entre los Mucorales (337). Baldin et al. (160) infectaron ratones con diferentes Mucorales e investigaron si CotH podía ser amplificado por PCR a partir de fluidos biológicos. Además, se utilizaron ratones no infectados y ratones con aspergilosis para determinar la especificidad del ensayo. El CotH se detectó a las 24 horas después de la infección en muestras de plasma, orina y BAL de ratones infectados intratraquealmente con *R. delemar*, *R. arrizus*, *M. circinelloides*, *L. corymbifera* o *C. bertholletiae*, pero no se detectó en muestras tomadas de ratones no infectados o ratones infectados con *A. fumigatus*. En el estudio se obtuvo una sensibilidad del 90 % y se demostró que los fragmentos del gen CotH se pueden amplificar con una especificidad del 100 % a partir de muestras de orina, suero y líquido BAL obtenidas de ratones con mucormicosis. Así mismo, la detección de CotH a partir de muestras de orina fue más fiable que a partir de plasma o líquido BAL, probablemente porque la orina es una muestra biológica menos compleja y, por lo tanto, tiene una menor cantidad de sustancias que interfieren con la PCR.

El gen mitocondrial *rnl* (que codifica para el ARN ribosómico de subunidad grande) es catalogado como un nuevo marcador molecular adecuado para la investigación y el diagnóstico de mucormicosis (figura 42). Caramalho et al. (377) evaluaron el *Rnl* como marcador para la familia de los Mucorales y la identificación de especies como *R. arrhizus*, *R. microsporus*, *Mucor circinelloides* y *Lichtheimia* spp., lo que lo convierte en una alternativa a los genes nucleares de ADNr 18S. En el estudio, el gen *rnl* se probó como marcador para las siguientes aplicaciones: (a) identificación de pan-Mucorales en tejidos embebidos en parafina, (b) marcador de identificación de pan-Mucorales en muestras de sangre completa, (c) cuantificación de Mucorales en órganos murinos, (d) determinación de la etapa de crecimiento e (e) identificación de Mucorales en cultivos puros. Como resultado se obtuvo que el *Rnl* superó al marcador universal UMD (Molyzm) en muestras embebidas en parafina (71.5 % de muestras positivas frente a 50 %). Las muestras de sangre enriquecidas pusieron de manifiesto el potencial de la *rnl* como prueba de cribado pan-Mucorales. La carga fúngica se cuantificó de forma reproducible en órganos murinos mediante curvas estándar. Mientras que la identificación de cultivos puros dio una correlación del 100 % con la secuencia de espaciador interno transcrito (ITS) detectada.

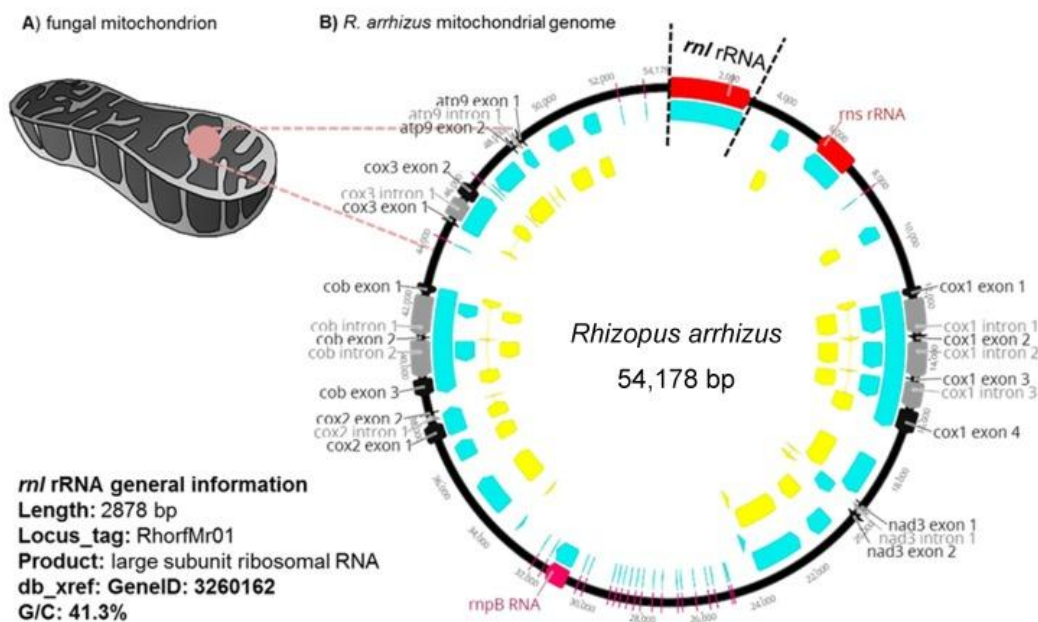


Figura 42. Ubicación del gen *rnl* en el genoma mitocondrial de *R. arrhizus*. (A) Mitocondria fúngica. (B) Visión general del genoma mitocondrial. Fuente: Tomado de (377).

En una investigación del 2016, Springer et al. (376) describen dos pruebas independientes de PCR en tiempo real basadas en sondas para la detección de Mucorales clínicamente

relevantes, dirigidas a fragmentos específicos de los genes 18S y 28S rRNA. Ambos ensayos presentan un tiempo de respuesta corto, permiten una detección rápida, específica y sensible de Mucorales clínicamente relevantes, mostrando el potencial de ser utilizados como pruebas cuantitativas. Sin embargo, los ensayos deben utilizarse como herramientas complementarias junto con las técnicas estándar, logrando una sensibilidad del 100 % si se realiza un enfoque combinado de ambos ensayos de PCR en tiempo real. La combinación de los dos ensayos descritos (18S y 28S), detectó todas las muestras clínicas asociadas con la infección comprobada por Mucorales ($n = 10$). La secuenciación de los amplicones del ensayo 18S permitió la caracterización de las cepas de Mucorales a nivel de género (*Rhizomucor*, *Lichtheimia*, *Rhizopus*), además, no se observó reactividad cruzada a cepas no Mucorales o ADN humano en ninguno de los ensayos. La eficiencia del PCR osciló entre 80 y 90 % y entre 88 y 92 % para los ensayos 18S y 28S, respectivamente.

Las pruebas de PCR de Mucorales en el BAL son un enfoque atractivo que ha sido considerado por varios investigadores (370). Recientemente, Springer et al. (378) sugirieron utilizar tanto el pellet celular como el sobrenadante de BAL para mejorar la sensibilidad de la técnica con resultados superiores en comparación con los obtenidos si se analizan por separado el pellet celular o el sobrenadante. En total se recogieron 99 muestras, 28 muestras mostraron ADN de *Aspergillus* spp., para la detección de ADN de Mucorales, seis muestras (6 %) fueron positivas mediante el uso de las tres combinaciones diferentes. Las seis muestras fueron positivas mediante el uso de la combinación de pellet celular y sobrenadante, mientras que las fracciones individuales por sí solas mostraron una positividad reducida (para sobrenadante, 4/6 muestras (67 %) fueron positivas; para pellet celular, 3/6 muestras (50 %) fueron positivas). Ninguna muestra fue positiva solo en las pruebas de sobrenadante o pellet celular.

Por su parte Scherer et al. (379) realizaron un estudio retrospectivo cuyo propósito fue evaluar la contribución de la detección cuantitativa de ADN de Mucorales por PCR en BAL. En total se analizaron 450 muestras de BAL de 374 pacientes con neumonía e inmunosupresores mediante una combinación de tres ensayos cuantitativos de PCR dirigidos a los principales géneros implicados en la mucormicosis en Francia (*Rhizomucor*, *Mucor/Rhizopus* y *Lichtheimia*). De estos 374 pacientes, 24 pacientes tenían al menos una muestra de líquido de lavado broncoalveolar con PCR positiva distribuidas de la siguiente manera: *Lichtheimia* spp., $n = 3$; *Rizomucor* spp., $n = 10$; y *Mucor/Rhizopus*, $n = 11$. En el estudio se pudo observar una discrepancia entre el cultivo y los resultados obtenidos

mediante qPCR, ya que el cultivo fue negativo en 22 muestras, destacando la sensibilidad del qPCR.

En 2020, Guegan et al. (380) evaluaron los ensayos PCR MucorGenius® Mucorales y PCR en tiempo real para el diagnóstico de mucormicosis pulmonar. En el estudio analizaron 319 muestras pulmonares de pacientes inmunodeprimidos con riesgo de enfermedad invasiva por hongos. Seis pacientes se clasificaron como mucormicosis probada/probable, 63 como aspergilosis invasiva (AI) probada/probable, cuatro pacientes presentaron coinfecciones por *Aspergillus*-Mucorales, 152 pacientes se clasificaron como posible enfermedad invasiva por hongos y se excluyeron 94 pacientes. Ambos ensayos de PCR permitieron la detección de ADN de Mucorales en muestras de 10 casos posibles y seis de aspergilosis invasiva, todos ellos omitidos por cultivo. Los ensayos de PCR internos y MucorGenius® mostraron una sensibilidad del 100 % (10/10) y del 90 % (9/10) y una especificidad del 95.7 % y el 97.9 %, respectivamente.

En una investigación para el diagnóstico molecular de la mucormicosis rino-orbito-cerebral a partir de muestras de tejido fresco, se realizó la amplificación del ADN ribosómico utilizando cebadores ITS panfúngicos y cebadores específicos de Mucorales semianidados de la región 18S. Los productos amplificados se secuenciaron para identificar los agentes. Además, se evaluó la utilidad de la PCR-RFLP de la región 18S del ADNr para identificar los Mucorales. En el estudio se incluyeron 50 casos de ROCM cuyas muestras de tejido mostraron hifas anchas sin septos en el KOH y blanco de calcofluor. Solo se pudieron aislar Mucorales en el 48 % de los casos de ROCM positivos para microscopía. La histopatología fue positiva en el 94.5 % de las 37 muestras examinadas. La amplificación y secuenciación de ITS2 fue capaz de identificar Mucorales en el 54% de los casos y fracasó en el otro 46 %, posiblemente debido a la colonización concurrente o a la doble infección por *Candida* spp. y *Aspergillus* spp. La PCR anidada y la secuenciación dirigida al ADNr 18S fueron capaces de identificar los hongos en los 50 casos evaluados en el presente estudio. La PCR-RFLP utilizando cuatro enzimas de restricción fue capaz de identificar los Mucorales a nivel de género en todos los casos (381).

En una investigación más reciente, Xu et al. (372) proponen la amplificación de la polimerasa recombinasa (RPA) y qPCR dirigidas específicamente al gen mitocondrial rnl. La RPA es una técnica isotérmica de amplificación de ácidos nucleicos que funciona dentro de un rango de temperatura constante de 25-40 °C, completando la amplificación de la secuencia objetivo en un período de tiempo de 10-20 min. Esta técnica se ha utilizado

exitosamente en hongos como *C. albicans*, *Candida tropicalis*, *Nakaseomyces glabrata*, *C. neoformans/C. gattii*, *A. fumigatus* y *Fusarium graminearum*. Los autores seleccionaron a *R. arrhizus*, *M. racemosus*, *A. glauca*, *R. miehei* y *C. bertholletiae* para este estudio debido a su importancia clínica. Para determinar la especificidad del ensayo, utilizaron ADN genómico de 13 especies dentro de cinco géneros de Mucorales, 14 cepas no Mucorales, así como muestras de sangre humana y de ratón. Los ensayos de RPA y qPCR en tiempo real demostraron una alta especificidad, ya que no se observó reactividad cruzada con otros organismos.

Debido a la gravedad clínica de la mucormicosis invasiva y a la asociación del diagnóstico tardío con resultados clínicos comprometidos, las técnicas diagnósticas emergentes están en constante evaluación para mejorar la puntualidad y la precisión del diagnóstico (337), un ejemplo de ello es el avance actual y futuro en la tecnología de biosensores que despliegan una serie de metodologías (382).

Los biosensores se definen como "dispositivos receptores-transductores integrados, que son capaces de proporcionar información analítica selectiva cuantitativa o semicuantitativa utilizando un elemento de reconocimiento biológico (383). En la actualidad, hay biosensores electroquímicos que son capaces de proporcionar información analítica selectiva, cuantitativa o semicuantitativa utilizando las propiedades de un elemento de reconocimiento biológico (por ejemplo, una proteína, enzima, anticuerpo o receptor). Otros biosensores utilizados son los ópticos que proporcionan información útil con respecto a la afinidad del receptor y las interacciones cinéticas de asociación y disociación como el utilizado en la detección de mananas en *C. albicans* (384).

Estas tecnologías de biosensores pueden llegar a desempeñar un papel importante en el diagnóstico y el seguimiento de todas las enfermedades infecciosas llegando a contribuir en la detección temprana de la infección fúngica. Además, los biosensores también ofrecen oportunidades para la monitorización continua de los analitos que pueden ayudar a evaluar la respuesta al tratamiento (382).

Los enfoques diagnósticos convencionales ya han logrado avances significativos en la capacidad para identificar y tratar las infecciones fúngicas invasivas. El reto es detectar con precisión y rapidez el agente causal, ya que a menudo dirige el tratamiento antifúngico adecuado. Los diagnósticos actuales se incrementarán cada vez más con el avance de las nanotecnologías que pueden conducir al desarrollo de plataformas de detección

mínimamente invasivas y miniaturizadas, lo que pone de manifiesto la necesidad de invertir en investigación diagnóstica para abordar los problemas asociados a la detección rápida de infecciones fúngicas en la medicina humana (382).

CAPÍTULO 8. TRATAMIENTO

El tratamiento exitoso de las mucormicosis se basa en un enfoque multimodal (2). La Confederación Europea de Micología Médica, junto con la Sociedad Americana de Microbiología y la Sociedad Internacional de Micología Humana y Animal, recomiendan un enfoque multimodal que incluye el desbridamiento quirúrgico agresivo o resección de la(s) región(es) afectada(s), administración temprana de agentes antifúngicos, manejo estricto de factores predisponentes como la diabetes mellitus no controlada y la neutropenia, además, del uso de terapias complementarias (2,337). Así mismo, la Confederación Europea de Micología Médica, recomienda llevar a cabo las técnicas de imagen apropiadas para documentar la extensión de la infección fúngica y, seguidamente, considerar la opción de intervención quirúrgica; el tratamiento de primera línea con anfotericina B liposomal a dosis altas es fuertemente recomendado, mientras que el posaconazol (intravenoso o en comprimidos de liberación retardada) y el isavuconazol (intravenoso) tienen una recomendación de fuerza moderada. Ambos triazoles son recomendados más fuertemente como tratamientos de rescate (61).

Al ser una afectación sistémica se requiere el manejo multidisciplinario donde participan diferentes especialidades como medicina interna, infectología, otorrinolaringología, neurología, laboratorio, farmacia e imagenología, entre otros (7). La capacidad de tratar la mucormicosis de manera efectiva depende de la disponibilidad de las técnicas quirúrgicas y los medicamentos antifúngicos que se tengan a disposición (61), por lo que, ante la sospecha de un caso de mucormicosis, el paciente debe ser derivado a un centro de salud con un nivel de atención superior (385).

8.1 Fármacos antifúngicos

El fármaco preferido para el tratamiento antifúngico empírico, así como para el tratamiento dirigido tanto en pacientes adultos como pediátricos, es la anfotericina B en dosis altas, con un mayor éxito del tratamiento logrado con formulaciones de anfotericina B lipídica (ya sea liposomal o complejo lipídico), mientras que la formulación de desoxicolato se recomienda solo en los casos en que no se dispone de otras formulaciones de anfotericina B avaladas (337).

La anfotericina B es un fármaco producido por *Streptomyces nodosus*, es un agente antifúngico poliénico, caracterizado por un anillo de lactona macrocíclico y una serie de

uniones dobles conjugadas, un carboxilo libre y una cadena lateral glucosídica (7). La anfotericina B (AmB) fue aprobada por primera vez por la *US Food and Drug Administration* de los Estados Unidos en 1959 en una formulación solubilizada con desoxicolato de sodio (anfotericina B desoxicolato (AmB-D)). Sin embargo, debido a los efectos tóxicos (nefrotoxicidad) que limitaban el uso del fármaco, la AmB se reformuló con lípidos para reemplazar el desoxicolato de su composición (386).

En la década de 1990 se desarrollaron y aprobaron tres formulaciones lipídicas para su uso cuyas moléculas específicas varían notablemente, pero implican la formación de complejos de AmB en una entidad lipídica. Las tres formulaciones aprobadas exhiben características farmacocinéticas únicas (387). Por ejemplo, la anfotericina B liposomal (AmB-L) que se compone de pequeños liposomas o vesículas unilamelares esféricas (386) logra concentraciones séricas extraordinariamente altas en relación con las logradas por las otras formulaciones (387). El elemento clave en la estructura de la AmB-L es el liposoma. Los liposomas evitan que un fármaco se metabolice antes de llegar a los tejidos diana y, simultáneamente, minimizan la exposición de los tejidos sanos al fármaco encapsulado durante su circulación por la sangre (386).

En el caso del complejo lipídico de anfotericina B (ABLCL) se observó que luego de la administración de esta formulación los niveles séricos son bastante bajos, sin embargo, se informa que la distribución a ciertos órganos, como los pulmones, supera a la de las otras formulaciones (387).

En diversos estudios se ha reportado que la afinidad de la anfotericina B por el ergosterol es 10 veces mayor que su afinidad por el colesterol, lo que le confiere cierta selectividad por las membranas fúngicas (388).

El ergosterol tiene un papel estructural para la membrana fúngica, regula diversas actividades fisiológicas, como la fusión homotípica de vacuolas, la endocitosis y la señalización mediada por receptores de membrana (por ejemplo, receptores de feromonas) (388). Al unirse al ergosterol interfiere con funciones vitales para las células fúngicas, aumenta la permeabilidad de la membrana y causa la salida de componentes intracelulares, llevando a la muerte celular (figura 43) (7). Esta interacción es mediada de manera esencial por la micosamina, que es un componente estructural común de los poliénicos (388). Se han reportado otros mecanismos de daño indirecto causado por la anfotericina B como los

mediados por especies reactivas de oxígeno y por la secreción de IL-1 β por parte de células del hospedero (389).

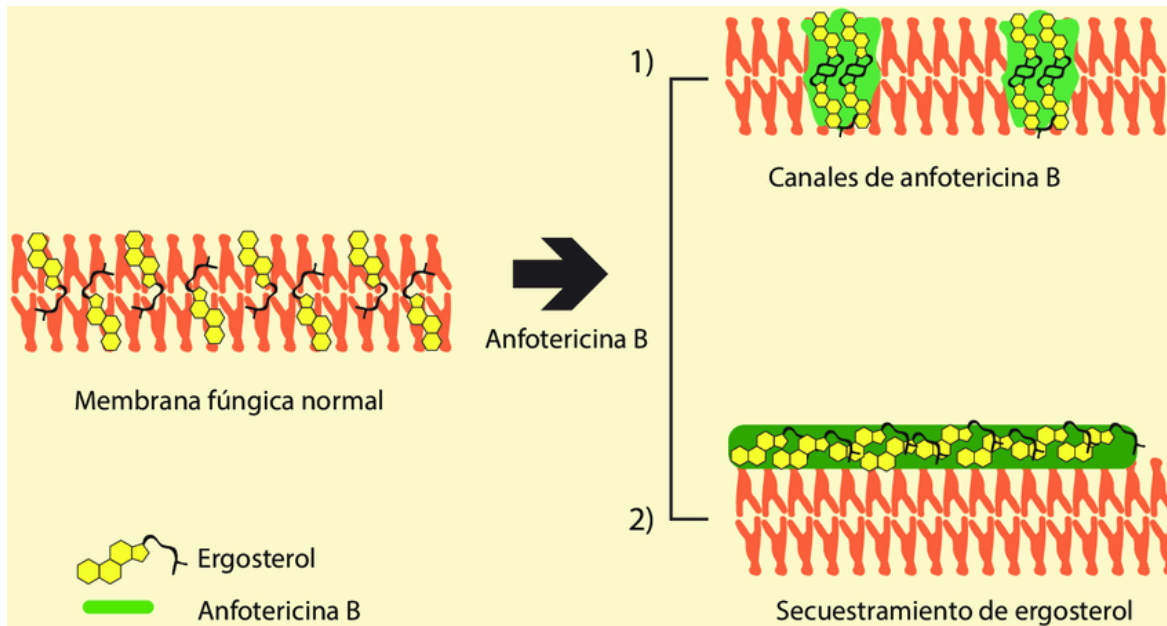


Figura 43. Mecanismo acción anfotericina B. Fuente: Tomado de (388)

Actualmente, las formulaciones lipídicas de AmB son el pilar del tratamiento de las mucormicosis. La terapia con AmB-L se ha asociado con tasas de mortalidad más bajas en comparación con otros regímenes antifúngicos y constituye un factor significativo asociado con la supervivencia en grandes cohortes (385). Después de una respuesta a la AmB-L parenteral durante al menos 3-4 semanas, los pacientes pueden pasar a un azol oral para la consolidación o la terapia de reducción gradual (390).

Los Mucorales son resistentes a la mayoría de los antifúngicos *in vitro*, incluido el voriconazol, mientras que el posaconazol y el isavuconazol muestran la mayor actividad *in vitro* contra estos hongos (2,390). Ambos son alternativas razonables de primera línea cuando la anfotericina está contraindicada, o pueden usarse alternativamente como terapia de rescate (337). Dichos antifúngicos son opciones alternativas en caso de insuficiencia renal preexistente o aguda y están disponibles como formulaciones intravenosas u orales (391).

El posaconazol es un agente antifúngico triazol lipofílico (392), que inhibe la enzima 14 - lanosterol desmetilasa, en consecuencia, inhibe la biosíntesis de ergosterol, generando una acumulación de precursores de esteroides metilados y el agotamiento del ergosterol dentro de la membrana celular, debilitando así la estructura y función de la membrana celular fúngica (figura 44).

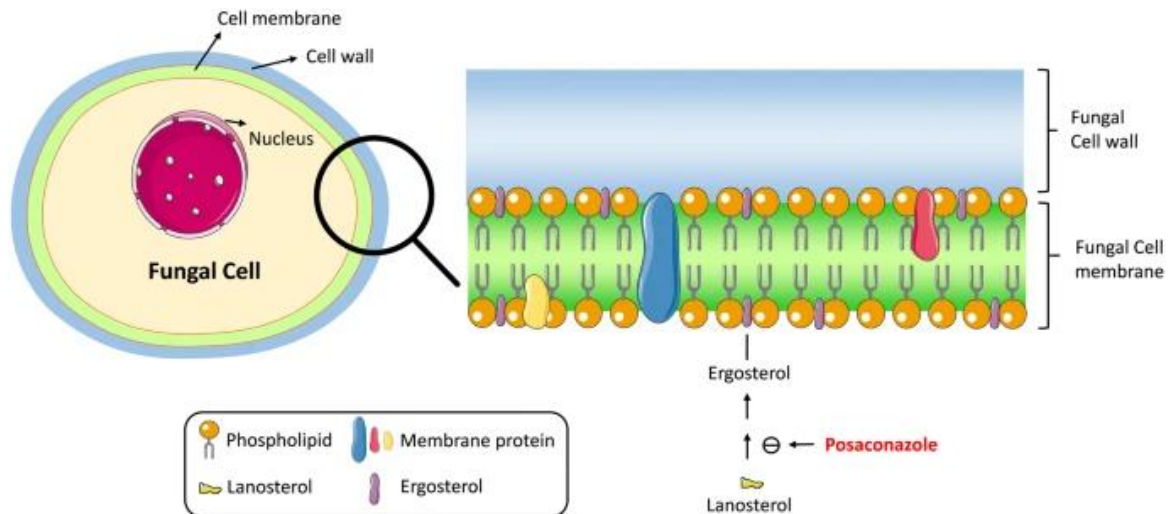


Figura 44. Mecanismo de acción del Posaconazol. Fuente: Tomado de (393)

El posaconazol se une predominantemente a la albúmina y el grado de unión a las proteínas es alto (> 98 %) con un volumen de distribución relativamente grande y una vida media extensa de aproximadamente 35 h (394). Circula principalmente en el plasma y luego se distribuye ampliamente a los tejidos y se elimina lentamente a través de la excreción biliar y, en parte, por la excreción renal y el metabolismo a través de la glucuronidación (394).

Actualmente hay tres formulaciones disponibles, a saber, una suspensión oral (40 mg/mL), un comprimido de liberación retardada (100 mg) y una formulación intravenosa (18 mg/mL). La suspensión oral y la tableta de liberación retardada de posaconazol están aprobadas para pacientes de 13 años o más (EE. UU.) o adultos mayores de 18 años (Europa), mientras que la formulación intravenosa está autorizada solo para pacientes de 18 años o más (393).

La exposición al posaconazol está influenciado por los alimentos y muchas afecciones gastrointestinales, incluyendo el pH y la motilidad, por lo que, puede presentar concentraciones plasmáticas bajas en grandes grupos de pacientes. Estos problemas de absorción errática impulsaron el desarrollo de la tableta de liberación retardada, comercializada posteriormente, que demostró estar asociada con perfiles de exposición

más altos y estables. Poco después, se lanzó una formulación intravenosa para pacientes que no pueden tomar formulaciones orales (393,394).

Cuando se utiliza posaconazol, la Confederación Europea de Micología Médica recomienda la monitorización terapéutica rutinaria del fármaco, con el objetivo de alcanzar un nivel mínimo de >1 mg/L, mientras que no hay evidencia actual que sugiera que se requiera monitorear el isavuconazol (61).

El isavuconazol es un triazol disponible en forma oral e intravenosa, que funciona inhibiendo la síntesis de ergosterol a través de la inhibición de la 14- α -desmetilasa (395). Se administra como isavuconazonio, un profármaco formulado para aumentar su solubilidad en agua y su capacidad para ser administrado por vía intravenosa (395,396). Al tener alta solubilidad en agua, no debe combinarse con la ciclodextrina en la formulación intravenosa, que facilita la solubilidad, lo cual reduce de manera importante la nefrotoxicidad que se ha descrito en algunos trabajos a causa de la ciclodextrina (396).

El isavuconazol presenta alta biodisponibilidad oral, la cual alcanza el 98 %, lo que permite que la misma dosis pueda ser utilizada para administración oral e intravenosa y su absorción no es dependiente del pH gástrico o del consumo de otros alimentos (396). Tiene un gran volumen de distribución, lo que permite el tratamiento de enfermedades invasivas y generalizadas en diferentes tejidos corporales (395). El aclaramiento es en gran medida de naturaleza hepática, que debería verse menos afectado por el deterioro de la función renal. Presenta larga vida media de eliminación (100 - 115 h) lo que favorece una dosificación cómoda y el mantenimiento de las concentraciones objetivo durante períodos de tiempo más largos (395,396).

Hay varios estudios que recomiendan o dictaminan el tratamiento adecuado para las mucormicosis, sin embargo, este trabajo se basará principalmente en la Guía mundial para el diagnóstico y tratamiento de las mucormicosis del 2019, de la Confederación Europea de Micología Médica, en donde se establecen pautas y recomendaciones para el tratamiento farmacológico de dicha micosis.

8.1.1 Monoterapia

En pacientes neutropénicos o con enfermedad de injerto contra huésped, se recomienda la profilaxis primaria con tabletas de posaconazol de liberación retardada con concentración moderada, y la profilaxis con suspensión oral con concentración marginal para prevenir la

mucormicosis. En pacientes inmunodeprimidos con sospecha de mucormicosis, se recomienda el inicio inmediato del tratamiento. Todo intento de obtener un diagnóstico debe hacerse en el momento del inicio de la terapia, pero no debe retrasarla. En el caso de pacientes con fiebre de origen desconocido como única evidencia de infección no se recomienda el inicio del tratamiento para las mucormicosis, sin embargo, en pacientes de alto riesgo con neutropenia y fiebre prolongada, se recomienda la anfotericina B liposomal. En el caso de pacientes que se han sometido a trasplante de órganos, como corazón y pulmón, se recomienda el isavuconazol (3 x 200 mg los primeros dos días, 1 x 200 mg a partir del tercer día) (61).

Como monoterapia, la anfotericina se considera el fármaco de elección para el tratamiento primario de las mucormicosis (397), por lo que se recomienda el tratamiento de primera línea con anfotericina B liposomal de 5 a 10 mg/kg. En caso de que se desarrolle una toxicidad renal sustancial, la dosis puede reducirse según sea necesario, pero se aconsejan dosis inferiores a 5 mg/kg por día solo con concentración marginal. La dosis diaria completa debe administrarse desde el primer día de tratamiento. En pacientes sin afectación del SNC se recomienda el complejo lipídico de anfotericina B de 5 mg/kg al día con concentración moderada (61,398). La formulación de desoxicolato se recomienda solo en los casos en que no se dispone de otras formulaciones de amB avaladas (337).

La actividad in vitro de AmB frente a Mucorales es muy variable (397). En un estudio, los investigadores informaron que, entre 524 aislamientos clínicos de estos hongos, los valores de corte epidemiológico (ECV) ≥ 97.5 % para la anfotericina B fueron bastante altos: 2 $\mu\text{g/mL}$ para *L. corymbifera*, 2 $\mu\text{g/mL}$ para *M. circinelloides*, 4 $\mu\text{g/mL}$ para *R. arrhizus* y 2 $\mu\text{g/mL}$ para *R. microsporus*. Estos valores relativamente altos de AmB apoyan el uso de dosis diarias más altas de este antifúngico para lograr la eliminación de dichos hongos de los tejidos (399).

El isavuconazol se aconseja con una concentración moderada para el tratamiento de primera línea de las mucormicosis, mientras que el uso de la suspensión oral de posaconazol tiene un apoyo marginal. El uso de las tabletas de liberación retardada y la infusión de posaconazol tiene un apoyo moderado para el tratamiento de primera línea (61).

Un estudio de 131 aislados clínicos mostró que la mediana de la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) de posaconazol para varias especies de Mucorales varió ampliamente entre 1.0 y 8.0 $\mu\text{g/mL}$. Además, la actividad más pobre encontrada para el posaconazol fue

contra miembros del género *Mucor*, es decir, *M. circinelloides* (rango de MIC, 0,5 a 32.0 mg/litro) y *M. racemosus* (rango de MIC, 0.125 a 32.0 mg/litro) (400). Por lo que, el posaconazol tiene una actividad variable in vitro contra Mucorales, que depende de la especie (397).

En un estudio de 72 aislamientos clínicos de varias especies de Mucorales, la actividad del isavuconazol varió, mostrando mayor sensibilidad en especies como *L. corymbifera*, *L. ramosa*, *R. pusillus*, *R. microsporus*, y *R. arrhizus*, en comparación con *M.r circinelloides*. En dicho estudio se observó que los valores de MIC del isavuconazol para Mucorales son de 1 a 3 veces más altos en comparación con los del posaconazol, sin embargo, en el entorno clínico esto puede compensarse con una mayor exposición a la dosis estándar (401).

8.1.2 Terapia combinada

Los resultados del tratamiento de las mucormicosis con las actuales monoterapias disponibles han promovido el interés en la terapia combinada (385). En pacientes que son intolerantes o tienen mucormicosis invasiva que es refractaria a la monoterapia, se debe considerar la terapia de rescate combinada con una columna vertebral de polieno de ABLC o AmB-L (390). En varios estudios se ha visto que la terapia combinada presenta varias ventajas como el efecto sinérgico y una cobertura más amplia, no obstante, presenta desventajas como el posible antagonismo, las interacciones farmacológicas, la toxicidad y el costo (157,397).

En un estudio de 101 pacientes con mucormicosis invasiva, se comparó la supervivencia de pacientes tratados con monoterapia de AmB o terapia combinada (AmB+posaconazol o AmB+caspofungina). Como resultado se obtuvo que no hubo diferencias significativas en la supervivencia a 90 días entre los tres grupos de tratamiento, incluidos los que recibieron Ambisome (AmB) en monoterapia versus terapia combinada (402).

En otro estudio retrospectivo de 20 años realizado en 106 pacientes con neoplasias hematológicas malignas, se comparó la supervivencia en pacientes que recibieron monoterapia versus pacientes que recibieron tratamiento farmacológico combinado. La monoterapia se definió como un tratamiento monofarmacológico con AmB-L o posaconazol. El tratamiento combinado se definió como cualquier combinación de AmB-L, posaconazol y equinocandinas suministrada como tratamiento inicial. En general, 47 pacientes (44 %)

recibieron monoterapia y 59 pacientes (56 %) recibieron tratamiento combinado como tratamiento inicial para la mucormicosis. De los pacientes que recibieron monoterapia, el 87 % recibió AmB-L y el 13 % recibió posaconazol. De los pacientes que recibieron regímenes antimicóticos combinados, el 27 % recibió AmB-L con posaconazol, el 46 % recibió AmB-L con equinocandinas y el 27 % recibió una combinación triple con AmB-L, posaconazol y equinocandinas. El 42 % de los pacientes fallecieron dentro de las 6 semanas de iniciado el tratamiento y la probabilidad de supervivencia a las 6 semanas para los pacientes que recibieron monoterapia fue del 56 %, mientras que para los pacientes que recibieron tratamiento combinado fue del 60 %, lo cual demuestra que no hubo beneficio en el uso de la terapia combinada versus la monoterapia (403).

Si bien las equinocandinas (figura 45) per se no muestran una actividad antifúngica significativa contra Mucorales, pueden actuar sinérgicamente con la anfotericina B. Este efecto puede estar relacionado con una activación del sistema inmunológico. De hecho, una pequeña cantidad de β -glucano está presente en la pared celular de los Mucorales, donde las equinocandinas pueden inducir el desenmascaramiento del β -glucano, lo que desencadena la actividad de los neutrófilos polimorfonucleares contra los hongos, además, de la producción de IL-23 por parte de las células dendríticas (404).

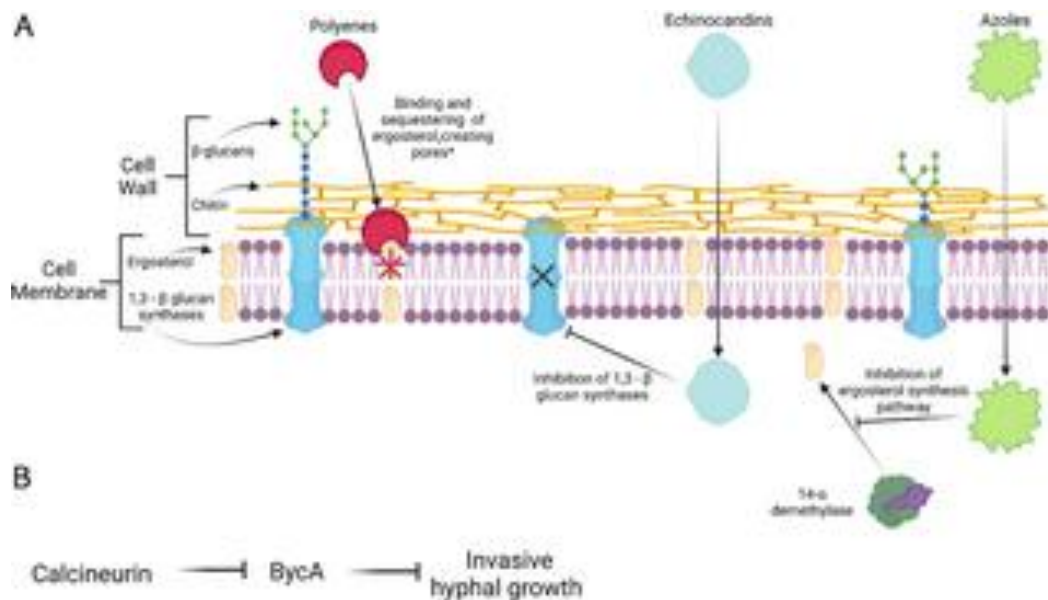


Figura 45. Dianas farmacológicas y mecanismos de acción. (A) Los polienos, como el AmB, se dirigen al ergosterol y funcionan uniéndose y secuestrando el ergosterol, lo que provoca inestabilidad en la membrana celular y formación de poros. Las equinocandinas muestran actividad fungistática al entrar en la célula fúngica e inhiben de forma no competitiva la 1,3- β glucano sintasa, una enzima

necesaria para el ensamblaje de un componente esencial de la pared celular de varios hongos. Los azoles bloquean la síntesis de ergosterol estabilizador de la membrana celular a través de la inhibición de la enzima lanosterol 14- α -demetilasa. (B) La calcineurina es un regulador de la morfología de *Mucor*; La calcineurina activa promueve el crecimiento de las hifas. Esta regulación se mantiene mediante la supresión de la expresión del gen *bycA*. Fuente: Tomado de (405).

El beneficio potencial de cualquier combinación de fármacos antifúngicos para el tratamiento de la mucormicosis sigue siendo dudoso y los grandes estudios retrospectivos de más de 100 casos no demostraron una mejora significativa en la supervivencia (385). Este tipo de terapias puede administrarse racionalmente debido a la falta de toxicidad mejorada con un beneficio posible pero no comprobado, sin embargo, según la Confederación Europea de Micología Médica, los datos son demasiado limitados para respaldar esto más allá de una recomendación marginal (61).

En la figura 46 se resumen las vías de tratamiento óptimas para la mucormicosis en adultos.

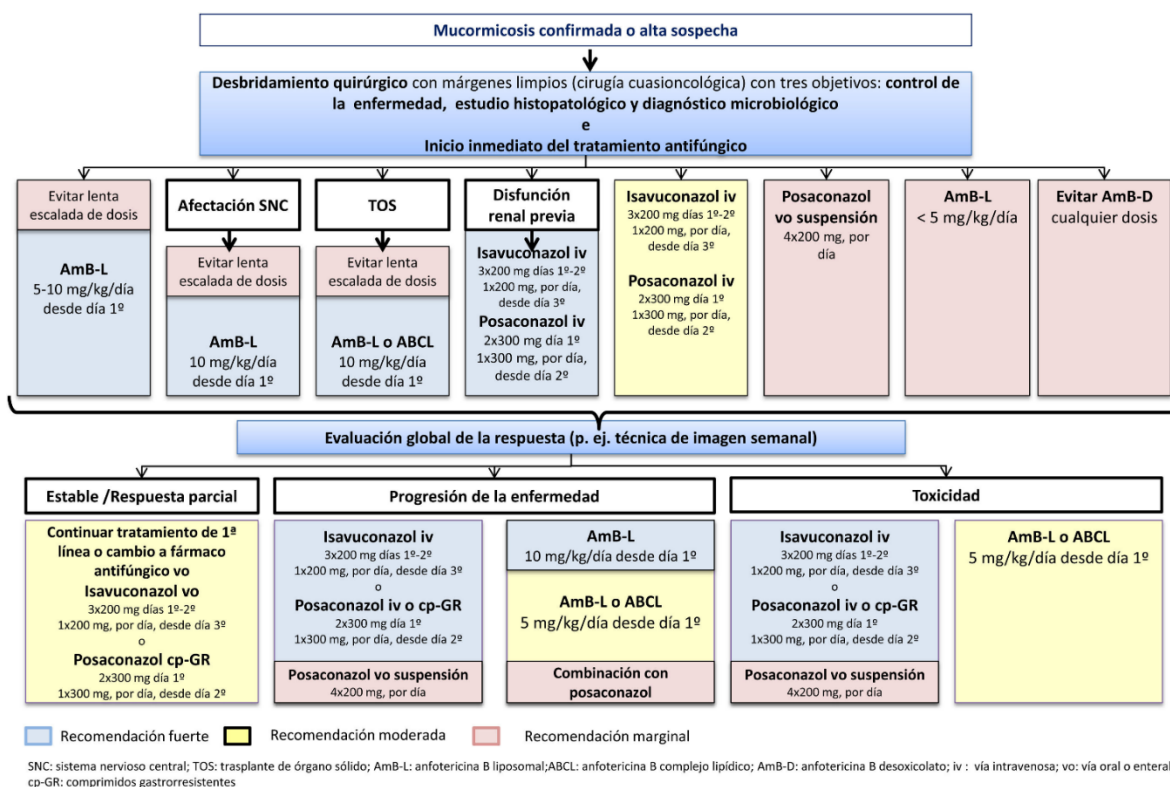


Figura 46. Tratamiento óptimo para la mucormicosis en adultos. Fuente: Tomado de (385) adaptado de (61).

8.1.3 Terapia de rescate

Hay dos razones relacionadas con los fármacos para el fracaso del tratamiento, la mucormicosis refractaria o la toxicidad (la intolerancia a un fármaco) de los antifúngicos de primera línea. En el caso de la anfotericina B, la nefrotoxicidad puede ser un factor limitante, mientras que en los azoles la toxicidad hepática tiene la mayor prevalencia. La toxicidad puede ser causada por antifúngicos previos, o esperada debido a un daño orgánico preexistente (61)

El isavuconazol y las tabletas o infusiones de posaconazol de liberación retardada tienen un fuerte apoyo para el tratamiento de rescate y, cuando estén disponibles, deben preferirse a la suspensión oral de posaconazol, que a su vez tiene un apoyo marginal para el tratamiento de rescate. En el caso del isavuconazol, se recomiendan 200 mg tres veces al día durante los primeros dos días para pasar a 200 mg una vez al día, a partir del tercer día, administrado de manera intravenosa (IV). En el caso del posaconazol en tabletas de liberación retardada o IV la recomendación es de 2 x 300 mg día uno, 1 x 300 mg a partir de día dos. En el caso de la anfotericina, la formulación recomendada es la liposomal con dosis de 10 mg/kg (61). El tratamiento anterior tiene una fuerte recomendación en comparación con otros regímenes en los que varía la dosificación del antifúngico.

Se recomienda la monitorización terapéutica del fármaco para el tratamiento con posaconazol debido a la alta variabilidad intra e interindividual y a la farmacocinética no lineal, la concentración objetivo es de $>1 \mu\text{g/mL}$. Por otro lado, la hepatotoxicidad se ha asociado con niveles séricos de $> 1.8 \mu\text{g/mL}$. En el caso del isavuconazol, no se recomienda el control terapéutico (62). En la tabla 4 se resumen las indicaciones para la terapia antifúngica de rescate.

Tabla 4. Terapia antifúngica de rescate recomendada en casos de mucormicosis.

Población	Intención	Intervención	Grado de recomendación
Refractariedad	<i>Curar</i>	Isavuconazol IV 3x200 mg d1-2, 1x200 mg a partir d3	A
Refractariedad	<i>Curar</i>	Posaconazol tableta lr IV 2x300 mg d1, 1x300 mg a partir d2	A
Refractariedad	<i>Curar</i>	Anfotericina B, liposomal 10 mg/kg	A

Refractariedad	<i>Curar</i>	Anfotericina B, liposomal 5 mg/kg	B
Refractariedad	<i>Curar</i>	Complejo Anfotericina B, lipídica 5 mg/kg	B
Refractariedad	<i>Curar</i>	Posaconazol suspensión oral 4x200 mg/d o 2x400 mg/d	C
Refractariedad	<i>Curar</i>	Combinación de anfotericina liposomal o complejo lipídico + posaconazol	C
Toxicidad	<i>Curar</i>	Isavuconazol IV 3x200 mg d1-2, 1x200mg a partir d3	A
Toxicidad	<i>Curar</i>	Posaconazol tabletas lr o IV 2x300 mg d1, 1x300mg a partir d2	A
Toxicidad, renal	<i>Curar</i>	Anfotericina B, liposomal 5 mg/kg	B
Toxicidad, renal	<i>Curar</i>	Anfotericina B, complejo lipídico 5 mg/kg	B
Toxicidad, renal	<i>Curar</i>	Anfotericina B dispersión coloidal 5 mg/kg	B
Toxicidad	<i>Curar</i>	Posaconazol suspensión oral 4x200 mg/d o 2x400 mg/d	C

IV: intravenoso, d:día, lr: liberación retardada. A: fuerte, B: moderada, C:marginal. Fuente: Tomado y modificado de (61)

En cuanto a la duración del tratamiento se desconoce la duración del tratamiento necesario para tratar la mucormicosis. En general, se administran semanas o meses de terapia, ejemplo de ello es un estudio realizado en pacientes con mucormicosis que recibieron isavuconazol durante una mediada de 84 días (406), y el caso del posaconazol la duración osciló entre 28 y 370 días, con una mediana de 65 días (407).

La Confederación Europea de Micología Médica apoya firmemente el tratamiento hasta la reversión permanente de la inmunosupresión y la respuesta completa en las imágenes. Mientras que hay un apoyo moderado para el tratamiento intravenoso hasta que se logre una enfermedad estable. Al cambiar al tratamiento oral, se apoya firmemente el uso de tabletas de liberación retardada de isavuconazol o posaconazol. Se puede utilizar la

suspensión oral de posaconazol, pero tiene un apoyo marginal, especialmente cuando se dispone de formulaciones con mayor exposición (61).

8.2 Cirugía

La intervención terapéutica oportuna puede prevenir la invasión progresiva del tejido y sus secuelas, también pueden reducir la necesidad de una cirugía extensa y la deformidad posterior, y pueden mejorar la supervivencia (397). Además, del inicio temprano de la terapia antifúngica, el desbridamiento quirúrgico es otra piedra angular en el tratamiento de la mucormicosis (385). En un análisis de 929 casos publicados de mucormicosis se demostró mediante análisis multivariado que la supervivencia fue de 57 % (51 de 90 pacientes) para los tratados solo con cirugía, mientras que, la supervivencia aumentó a 70 % (328 de 470 pacientes) para los tratados con una combinación de cirugía y terapia antimicótica, así mismo, la muerte fue casi inevitable (97 %) para los pacientes que no recibieron ningún tratamiento (71).

En otro estudio de casos realizado por Song et al. (155) en 174 pacientes trasplantados de riñón con mucormicosis, se observó que la supervivencia global de los pacientes que fueron sometidos a desbridamiento quirúrgico combinado con anfotericina B/posaconazol (70.2 %) fue mayor que la de los que recibieron solo tratamiento antifúngico (32.4 %), únicamente cirugía (36.4 %) o sin tratamiento (0 %).

La trombosis de los vasos sanguíneos y la necrosis tisular resultante durante la mucormicosis pueden dar lugar a una mala penetración de los agentes antifúngicos en el lugar de la infección (408). Es por ello por lo que la cirugía, cuando sea necesaria y posible, debe ser muy agresiva (2) para lograr la erradicación completa de la mucormicosis (408). No solo se deben extirpar los tejidos necróticos, sino también los tejidos infectados circundantes de aspecto saludable, ya que la velocidad de extensión de la infección por las hifas de estos hongos es enorme (2).

El abordaje quirúrgico preferido depende del estado del paciente (405), esto con la finalidad de mejorar los resultados, dado que las enfermedades subyacentes (neoplasias hematológicas, neutropenia y tumores activos), la edad, las comorbilidades, la localización y la extensión de la micosis son factores importantes asociados con la mortalidad (385). Las cirugías abiertas se realizan cuando la enfermedad es extensa, mientras que las cirugías endoscópicas se realizan cuando la enfermedad es limitada (405).

La cirugía puede ser separada en varios grupos: desbridamiento de la piel y tejidos blandos, desbridamiento de la mucormicosis rino-orbital-cerebral, exenteración orbital, resección pulmonar, desbridamiento óseo, y resección visceral ya sea en hígado, bazo o estructuras peritoneales (61).

En el caso de la afectación rino-orbital el desbridamiento completo, incluyendo el desbridamiento endoscópico o la excisión del tejido infectado, incrementa la tasa de supervivencia (61). Puede ser necesaria la extirpación repetida de tejido necrótico o la resección quirúrgica radical, incluso la exenteración de la órbita, con cirugías reconstructivas posteriores (409).

En un estudio de 22 casos de mucormicosis rino-orbitocerebral (ROCM) se estudió el impacto del control local en la supervivencia de estos pacientes. La supervivencia se prolongó significativamente cuando se logró el control local. La supervivencia a los tres meses fue del 100 % cuando se logró el control local, pero solo del 25 % sin control local de ROCM. Además, se obtuvo control local en el 90 % de los pacientes tras cirugía radical y en el 41.6 % sin ella (410). En otro estudio de 74 pacientes hospitalizados por ROCM, el 76 % se sometieron a cirugía curativa y un 80 % recibió tratamiento antifúngico adecuado, con una supervivencia hospitalaria del 57 %. En dicho estudio, los autores mediante un modelo de regresión logística, determinaron que la ausencia del desbridamiento quirúrgico se asoció a un mayor riesgo de muerte (411).

En la mucormicosis pulmonar se ha demostrado que la intervención quirúrgica, junto con la terapia antifúngica adecuada, mejora significativamente la supervivencia en comparación con la terapia antifúngica sola (385). La cavitación de las lesiones cerca de los vasos hiliares puede provocar una hemoptisis mortal, lo que proporciona una razón adicional para la resección (409). En pacientes con mucormicosis pulmonar unifocal, la lobectomía o la neumonectomía han proporcionado beneficios. Sin embargo, en el caso de lesiones multifocales o cerca de grandes vasos, el beneficio está menos establecido y la cirugía es más complicada de realizar (412).

Legouge et al. (358) realizaron un estudio de 16 casos de mucormicosis pulmonar en pacientes con leucemia aguda. Diez pacientes fueron tratados con agentes antifúngicos solos, mientras que seis pacientes se sometieron a resección pulmonar. Curiosamente, los seis pacientes tratados con un abordaje médico-quirúrgico estaban vivos a los 90 días,

mientras que 6 de los 10 pacientes (60 %) tratados solo con terapia antifúngica murieron antes de esta fecha.

En un estudio posterior, doce pacientes recibieron terapia antimicótica y se sometieron a resección quirúrgica, mientras que 13 pacientes recibieron terapia antimicótica sola. Desde el inicio de la infección hasta la muerte, los pacientes que se sometieron a resección quirúrgica tuvieron una mediana de supervivencia de 406 días hasta un máximo de 2510 días. Los pacientes que recibieron terapia antimicótica sola tuvieron una mediana de supervivencia de 28 días hasta un máximo de 447 días. El aumento de la supervivencia debido a la resección quirúrgica debe ser considerada seriamente para pacientes seleccionados con mucormicosis pulmonar (413).

En un estudio similar llevado a cabo por Choi et al. (414) once pacientes con mucormicosis pulmonar se sometieron a resección quirúrgica pulmonar de los cuales sobrevivieron nueve (82 %), mientras que, solo sobrevivió un paciente (11 %) de los nueve que no se realizaron la intervención quirúrgica. La tasa de supervivencia global fue del 50 %, y aunque la tasa de supervivencia general fue precaria, fue significativamente más alta en los pacientes que recibieron cirugía de resección pulmonar.

A pesar de las posibles complicaciones la resección parece ser aceptable. En el caso del hígado, la resección hepática con extirpación completa de la mucormicosis es factible y conduce a una supervivencia prolongada. Además, es factible el drenaje de un absceso causado por la mucormicosis, debido a la resección de una parte infectada del hígado. Así mismo, la resección de la superficie peritoneal debe formar parte del tratamiento quirúrgico visceral (61). La cirugía es imposible en casos de mucormicosis diseminada o cuando existe infección de órganos de difícil acceso como ciertas partes del parénquima cerebral o pulmonar cerca de grandes vasos (2).

En una revisión sistemática de la mucormicosis osteoarticular, se analizaron 34 casos documentados desde 1978 hasta el 2014. Los pacientes se trataron generalmente con intervención médica y quirúrgica combinada. El 85 % de los pacientes fueron tratados con una combinación de terapia antimicótica y cirugía, cuatro con agentes antimicóticos y uno con tratamiento quirúrgico solo. El desbridamiento fue la intervención quirúrgica más frecuente (38 %), seguida de los procedimientos de injerto/fijación ósea (21 %), amputación (15 %) y escisión completa (15 %). Se logró una tasa de respuesta general del 76 % en el tratamiento, con respuesta completa en el 41 % y respuesta parcial en el 35 %. La tasa de

mortalidad global fue del 24 %, con seis (75 %) de estas muertes atribuibles a infección ósea avanzada y fracaso del tratamiento con anfotericina B (241).

En el caso de los pacientes que han sido trasplantados con un órgano sólido, el desbridamiento quirúrgico, la extirpación del órgano trasplantado y/o el retrasplante son opciones que podrían aumentar la probabilidad de supervivencia. De la misma manera, en los pacientes con traumatismos que implique la infección de tejidos blandos y/o la fascia muscular, el desbridamiento quirúrgico precoz, radical y repetido está indicado y puede conducir a una curación definitiva (61).

8.3 Tratamientos adyuvantes

Debido a la eficacia limitada de los fármacos antifúngicos frente a los Mucorales, se han propuesto diversas terapias adyuvantes para favorecer la actividad de los fármacos antifúngicos mediante su acción sobre las condiciones biológicas de infección en el huésped. Estos enfoques pueden consistir en: a) modulación del microambiente tisular (hipoxia, pH, hierro, glucosa o disponibilidad de nutrientes) en detrimento del hongo y/o en favor de la inmunidad del huésped y b) estimulación inespecífica o mejora específica de la respuesta inmunitaria del huésped (404).

Como se mencionó en apartados anteriores, la diabetes mellitus descompensada con hiperglicemia y cetoacidosis son factores de riesgo bien conocidos de mucormicosis (385), por lo que, la corrección rápida de las anomalías metabólicas es obligatoria en pacientes con diabetes no controlada y sospecha de mucormicosis (2). Los cuerpos cetónicos como el β -hidroxibutirato (BHB), la glucosa y el hierro favorecen el crecimiento de los Mucorales y también mejoran la expresión del receptor del huésped GRP78 de las células endoteliales, que facilitan la angiоinvasión y el daño posterior del endotelio (266,385).

La reversión de la acidemia (leve o grave), mediante la administración de bicarbonato de sodio (con insulina), es capaz de bloquear parcialmente la capacidad de *R. arrhizus* para invadir las células endoteliales y restaurar la quelación del hierro del huésped y la función de los neutrófilos (415). En un estudio realizado, se trataron ratones con BHB antes de infectarlos con *R. arrhizus*, dichos animales fueron extremadamente sensibles a *R. arrhizus* con una mediana de supervivencia de cuatro días y una mortalidad del 90 % a los siete días tras la infección, mientras que, la administración de NaHCO₃ en los ratones tratados con BHB en modo profiláctico o terapéutico protegieron a estos animales de la mucormicosis, con aproximadamente el 75 % de los ratones sobreviviendo a la infección (tiempo medio de

supervivencia de > 21 días) y luciendo sanos cuando el experimento finalizó el día 21 después de la infección. La mejora de la supervivencia de los ratones que recibieron BHB + NaHCO₃ se acompañó de una reducción significativa de la carga fúngica pulmonar y cerebral en comparación con la supervivencia de los ratones que solo recibieron BHB (266).

Es fundamental revertir/prevenir los defectos subyacentes en la defensa del huésped cuando se trata a pacientes con mucormicosis (397,408). Los corticosteroides y otros fármacos inmunosupresores deben reducirse rápidamente y a la dosis más baja posible o pasar a una terapia alternativa no esteroidea (2,385,408). Los pacientes con VIH/SIDA deben iniciar la terapia antirretroviral para restaurar su inmunidad y conseguir unos valores adecuados de linfocitos CD4+, que conlleven una aceptable reconstitución inmunitaria (385).

8.3.1 Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos-Macrófagos y Factor estimulante de Colonias de Granulocitos

La calidad de la respuesta inmunitaria del huésped es crucial para la contención y resolución de infecciones fúngicas invasivas, debido a que la recuperación de neutrófilos es un factor de mejor pronóstico en la mucormicosis (404). El factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos o granulocitos humanos recombinantes (GM-CSF o G-CSF) se usa con frecuencia para acelerar la recuperación de neutrófilos después de la quimioterapia mielosupresora del cáncer hematológico, y se ha considerado su uso como terapia adyuvante para el tratamiento de infecciones invasivas por hongos (391).

A pesar de que la terapia adyuvante con G-CSF es recomendada ocasionalmente, su eficacia aún no se ha demostrado. En un estudio de mucormicosis murina tratada con posaconazol, G-CSF y posaconazol + G-CSF se obtuvo una supervivencia de 33 %, 27 % y 31 % respectivamente. La monoterapia con posaconazol y la terapia combinada redujeron significativamente la carga fúngica en los riñones, pero no en el resto de los órganos. Sin embargo, el tratamiento combinado no fue superior a la monoterapia con posaconazol en cuanto a la supervivencia o la reducción de la carga fúngica (416).

El factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) (figura 47) es una citocina inmunomoduladora producida por células inmunitarias circulantes y residentes en tejidos, así como por células epiteliales endoteliales y alveolares. El GM-CSF modula múltiples funciones biológicas que regulan la hematopoyesis y la inmunomodulación (417). El GM-CSF mejora la función antimicrobiana de los neutrófilos y monocitos maduros contra

objetivos bacterianos y fúngicos (418), aumentando la fagocitosis, la eliminación de patógenos no oxidativos y la eliminación de macrófagos y monocitos de sangre periférica, al tiempo que regula al alza el metabolismo oxidativo y la actividad microbicida de los neutrófilos y señala la hematopoyesis de emergencia provocada por la infección (419).

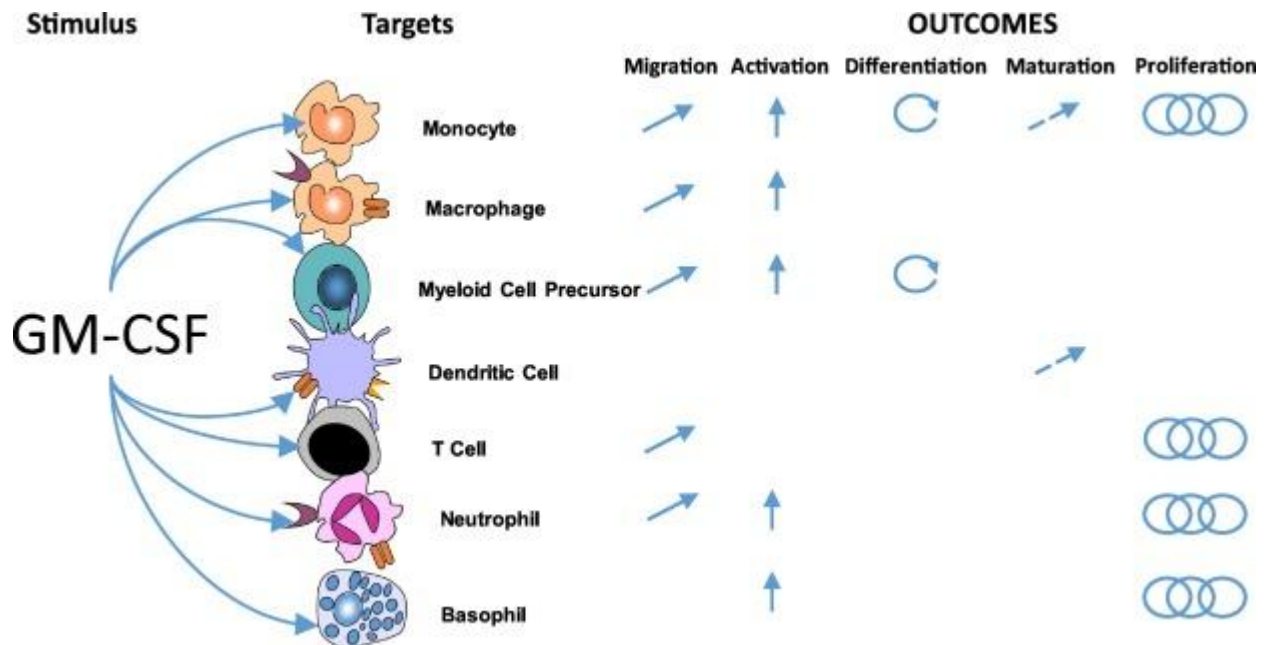


Figura 47. Respuestas provocadas por el GM-CSF en las células inmunitarias. Fuente: Tomado de (419)

En una pequeña serie de casos, tres pacientes con mucormicosis rinoencefálica fueron tratados con administración prolongada de GM-CSF, desbridamiento quirúrgico agresivo y AmB, ABLC o ambos. Se seleccionó GM-CSF, en lugar de G-CSF, para investigar la hipótesis de que, el aumento de la actividad de eliminación de hongos intracelulares del componente monocito-macrófago del sistema inmune mediante el uso de GM-CSF conduciría a una mejor supervivencia. Mediante el uso de esta terapia combinada se logró la mejoría y supervivencia de los pacientes, sin embargo, los autores hacen hincapié en que se desconoce la dosis óptima y la duración del tratamiento (418).

Chen et al. (417) realizaron un estudio retrospectivo de pacientes con mucormicosis tratados con factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos humanos recombinantes (rhu GM-CSF). De los 13 pacientes reportados en la literatura, 11 (85 %) mostraron resolución completa, de estos, en uno no se tuvo una respuesta clara al

tratamiento con rhu GM-CSF. Los otros dos (15 %) pacientes no mostraron mejoría con deterioro clínico hasta que fallecieron. Los resultados obtenidos muestran que la terapia con rhu GM-CSF puede ser un posible inmunomodulador adyuvante para pacientes seleccionados con neoplasias malignas hematológicas y mucormicosis refractarias al tratamiento.

8.3.2 Oxígeno hiperbárico (OHB)

La hiperoxigenación presurizada (es decir, la exposición al oxígeno a altas presiones ambientales) aumenta en gran medida la capacidad de transporte de oxígeno en la sangre y el gradiente de presión de oxígeno a través de las membranas capilares, aumentando así la oxigenación de los tejidos (420).

El oxígeno hiperbárico inhibe el crecimiento fúngico in vitro y corrige la acidosis láctica, lo que favorece la acción oxidativa de la anfotericina B; además, genera una mayor producción de radicales libres a base de oxígeno en condiciones hiperóxicas, aumenta la fagocitosis, los factores de crecimiento, la angiogénesis y, por tanto, la respuesta terapéutica y la probabilidad de curación, además, favorece la cicatrización de los tejidos (421).

Una revisión de 28 casos publicados de mucormicosis indica que la hiperoxigenación hiperbárica adyuvante puede ser beneficiosa en pacientes diabéticos, con una tasa del 94 % de supervivencia, mientras que en los pacientes con neoplasias hematológicas (3) o trasplantes de médula ósea el beneficio es dudoso. Los supervivientes recibieron significativamente más sesiones de tratamiento con oxígeno hiperbárico que los no supervivientes, mientras que el tratamiento con nueve o menos sesiones de OHB se asoció con un mayor riesgo de mortalidad. Sin embargo, la mayoría de los pacientes que sobrevivieron tenían condiciones predisponentes corregibles, como diabetes o traumatismos, en lugar de neoplasias hematológicas o trasplante de médula ósea, que se asocian con un mayor riesgo de mortalidad (422). Se debe considerar que el 92 % de los pacientes se sometieron a cirugía y en todos los casos se utilizó anfotericina.

Un estudio de cohorte retrospectivo de pacientes con cáncer hematológico con mucormicosis invasiva encontró que el tratamiento con oxígeno hiperbárico se asoció con un mejor resultado (403). Otro estudio realizado en ratones tratados con amB y OHB, la supervivencia no mejoró con respecto a la lograda con los tratamientos con anfotericina B y placebo en el aire (423).

La falta de estudios prospectivos y controles hace que la eficacia del método sea discutible (397). Así mismo, los reportes clínicos de exposición a oxígeno hiperbárico en el contexto de la mucormicosis son limitados a casos o pequeñas series. Es por ello por lo que la Confederación Europea de Micología Médica recomienda moderadamente el uso de esta terapia en pacientes diabéticos (61).

8.3.3 Quelantes de hierro

Mantener la homeostasis del hierro es crucial para la supervivencia y la virulencia de los hongos en un entorno con baja disponibilidad de hierro, como el cuerpo humano (385). El requisito de adquisición de hierro para el crecimiento y la patogénesis de *R. arrhizus* sugirió que la absorción de hierro podría ser un complemento terapéutico importante para las infecciones por mucormicosis (408).

Deferiprona y deferasirox son quelantes de hierro, el último de los cuales está aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos, para tratar la sobrecarga de hierro en las anemias dependientes de transfusiones (424).

Se sabe que los pacientes tratados con deferoxamina, son más susceptibles a la mucormicosis. Sin embargo, mientras que la deferoxamina es un quelante del hierro, desde la perspectiva del huésped humano, la deferoxamina en realidad sirve como sideróforo, entregando hierro libre a *R. arrhizus* (172).

La deferiprona es un miembro de la clase de quelantes de hierro α -cetohidroxipiridina y está aprobada para su uso en condiciones de sobrecarga de hierro en India y Europa. A diferencia de la deferoxamina, la deferiprona no puede ser utilizada por *R. arrhizus* como xenosideróforo (9).

En un estudio realizado por Ibrahim et al. (9) se demostró que la deferiprona es una terapia eficaz para la mucormicosis en el modelo de ratón con CAD. Las pruebas de susceptibilidad realizadas por los investigadores mostraron que la deferiprona inhibe potentemente el crecimiento de *R. arrhizus* in vitro, mientras que la deferoxamina no inhibió el crecimiento del hongo. Sin embargo, aún no se ha utilizado en el tratamiento de pacientes (61).

Los datos preclínicos en un modelo de ratones diabéticos, cetoacidóticos o neutropénicos con mucormicosis, mostraron la mejoría en la supervivencia y una disminución en la carga fúngica tisular cuando se administró deferasirox, el cual fue tan eficaz como la terapia con AmB-L. La terapia combinada con deferasirox-AmB-L mejoró sinérgicamente la

supervivencia (80 % de supervivencia para la combinación, frente al 40 % para la monoterapia y frente al 0 % para el placebo) y redujo la carga fúngica tisular, con una disminución hasta 100 veces en la carga de hongos cerebrales en comparación con la monoterapia. Además, el tratamiento con deferasirox también mejoró la respuesta inflamatoria del huésped a la mucormicosis (172).

Sin embargo, un estudio llamado DEFEAT, de tipo prospectivo aleatorizado, realizado en 20 pacientes con neoplasias malignas hematológicas y mucormicosis, mostró que la combinación de AmB-L con deferasirox se asoció con un aumento de la mortalidad a los 90 días. Once pacientes recibieron deferasirox, mientras que nueve recibieron placebo. El principal impulsor del exceso de mortalidad pareció ser el fracaso clínico, debido a la progresión de la infección y la progresión de la enfermedad subyacente, más que cualquier toxicidad específica (149).

Posterior al estudio DEFEAT, los autores analizaron los factores clínicos de los 20 pacientes incluidos para identificar aquellos asociados con la mortalidad a los 90 días. Once pacientes (55 %) fallecieron. La edad, la diabetes mellitus, el estado del trasplante y el tratamiento antifúngico no se asociaron con la mortalidad. Sin embargo, la neoplasia maligna activa o la neutropenia en el momento de la inscripción se relacionaron con un aumento de la mortalidad, al igual que las concentraciones séricas más altas de hierro y ferritina también se asociaron con la mortalidad (149).

El deferasirox es potencialmente tóxico para la médula ósea y los riñones, por lo que no se recomienda en pacientes neutropénicos con mucormicosis, debido al daño potencial; en contraste con los pacientes diabéticos para los que existe una justificación biológica para reducir los niveles de hierro (61).

Debido a los resultados obtenidos en estudios en pacientes con neoplasias tratados con deferasirox, tanto la Conferencia Europea sobre Infecciones por Leucemia (ECIL-6), como la Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas (ESCMID) y la Confederación Europea de Micología Médica, han desaconsejado el uso de deferasirox en estos pacientes (2).

Aunque la administración de deferasirox parece carecer de beneficio en pacientes con neoplasia maligna hematológica y mucormicosis, sigue siendo una terapia plausible en otros pacientes de alto riesgo, como los pacientes diabéticos, especialmente aquellos con

cetoacidosis, donde el pH bajo aumenta los niveles de hierro tisular no unido, promoviendo así el crecimiento de Mucorales (397).

El siguiente esquema resume el tratamiento recomendado para la mucormicosis (figura 48)

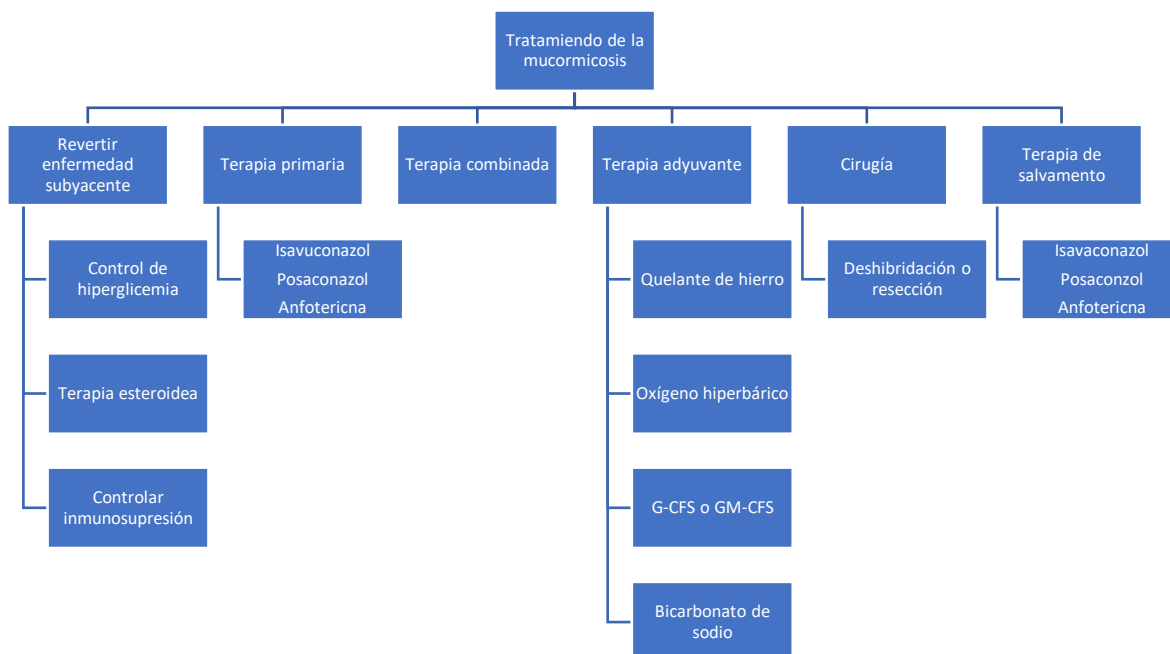


Figura 48. Esquema para el tratamiento de la mucormicosis. Fuente: Elaboración propia con base en la referencia (425).

8.4 Direcciones futuras

Varios antifúngicos se encuentran actualmente en ensayos clínicos de fase II/III, que incluyen fármacos existentes o que muestran un mecanismo de actividad similar con

propiedades farmacológicas mejoradas como la rezafungina, tetrazoles, ibrexafungerp y anfotericina B encolectada. Otros fármacos se componen de moléculas de primera clase con mecanismos de acción novedosos como el fosmanogepix, el olorofim y el VT-1161 (que está en investigación) (2,391,404)

Fosmanogepix (FMGX, anteriormente APX001 y E1211) es un profármaco N-fosfonooximetileno de primera clase que es rápida y completamente metabolizado por las fosfatasas sistémicas a la fracción activa, manogepix (MGX, anteriormente APX001A y E1210) (426). El APX001A es un inhibidor de la enzima fúngica Gwt1 una proteína que desempeña un papel importante en la integridad de la pared celular fúngica (figura 49). Durante la biosíntesis de glicofosfatidilinositol (GPI) fúngico necesario para el anclaje de las manoproteínas en la membrana y la pared celulares (391), el APX001A es capaz de inhibir el paso de acilación del inositol, dando lugar a defectos en varios pasos de la biosíntesis de la pared celular. También altera el crecimiento de la pared celular, la elongación de las hifas y la unión de células fúngicas a sustratos biológicos (427).

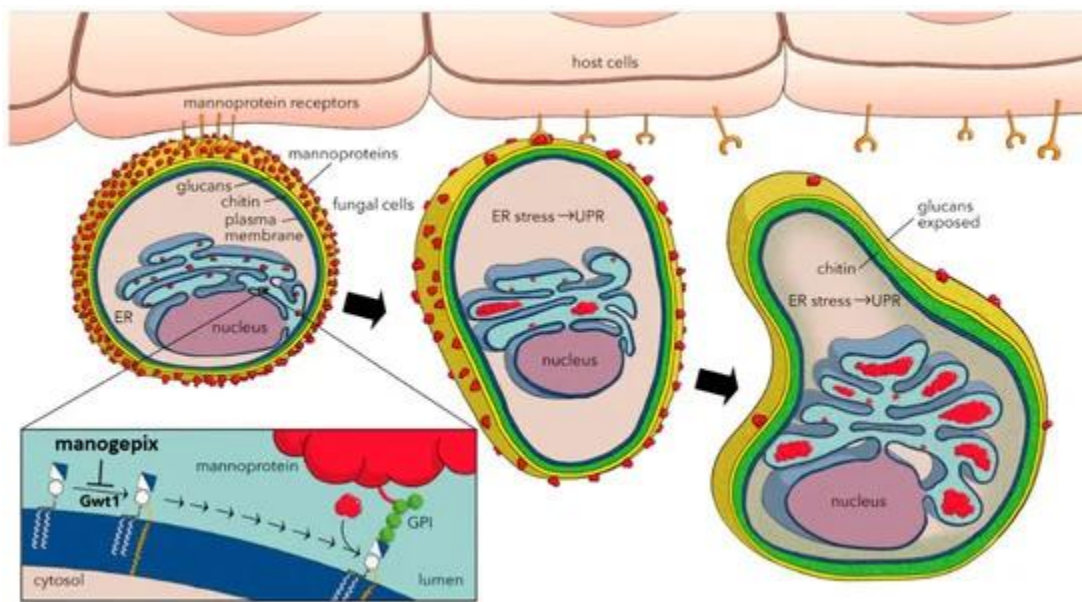


Figura 49. El mecanismo de acción de la manogepix. Gwt1 es una enzima que cataliza una reacción de transferencia de grupo acilo, una parte esencial de la vía de biosíntesis GPI. Esto ocurre en la luz del retículo endoplásmico. Gwt1 cataliza la acilación de inositol de glucosaminil fosfatidilinositol (GlcN-PI), lo que da lugar a la formación de glucosaminil(ácil)fosfatidilinositol (GlcN(ácil)PI), un intermediario en la biosíntesis de los anclajes GPI. Fuente: Tomado de (426)

En ensayos clínicos, FMGX demostró una alta biodisponibilidad (> 90 %), por lo que actualmente se están desarrollando formulaciones tanto intravenosas como orales (391).

El Manogepix es activo contra patógenos que demuestran resistencia intrínseca a otras clases de fármacos, como *Scedosporium*, *Lomentospora prolificans* y *Fusarium*. Sin embargo, tiene una actividad in vitro limitada contra Mucorales con MIC50 (es decir, que abarca el 50 % de los aislados) de 4 a 16 mg/L (426).

Gebremariam et al. evaluaron la actividad in vivo del FMGX frente a dos cepas de *R. arrhizus* con valores altos (4.0 µg/ml) y bajos (0.25 µg/ml) de concentración mínima efectiva (MEC). En ambos modelos de infección pulmonar invasiva, el tratamiento de ratones con 78 mg/kg o 104 mg/kg de fosmanogepix, junto con 1-aminobenzotriazol para mejorar la vida media sérica de MGX en ratones, aumentó significativamente el tiempo medio de supervivencia y prolongó la supervivencia general hasta el día 21 después de la infección en comparación con el placebo. Además, el efecto del FMGX fue comparable al del isavuconazol (428).

En otro experimento, se buscó evaluar el beneficio del tratamiento combinado de FMGX más anfotericina B liposomal, en ratones infectados con *R. arrhizus*. En dicha investigación se obtuvo que el FMGX fue igual de eficaz que AmB-L para prolongar la supervivencia de los ratones infectados con mucormicosis invasiva, aspergilosis pulmonar invasiva y fusariosis invasiva, sin embargo, la terapia combinada fue superior a la monoterapia en los tres modelos. Los hallazgos fueron validados por mayores reducciones en las cargas fúngicas tisulares (determinadas por PCR cuantitativa) de los órganos diana en los tres modelos, en comparación con las cargas en ratones infectados tratados con vehículo (placebo) o tratados con monoterapia (428).

Si bien fosmanogepix muestra algunas propiedades interesantes, como su biodisponibilidad oral y su buena penetración en el sistema nervioso central, su potencial para una futura aplicación en el tratamiento de la MI parece limitado (391).

La rezafungina (CD101) es una equinocandina intravenosa de próxima generación (es decir, un inhibidor de la β-glucano sintasa), con una estructura química similar a la anidulafungina. Posee mayor estabilidad y solubilidad y una tasa lenta de eliminación (vida media > 130 horas), lo que da como resultado una actividad prolongada y un modo conveniente de administración de solo una vez por semana (en comparación con la

dosificación una vez al día de otras equinocandinas). A pesar de todas sus características no presenta una actividad significativa contra los Mucorales (429).

Ibrexafungerp (SCY-078 o MK-3118) es un antifúngico triterpenoide derivado del producto natural enfumafungina. Es estructuralmente distinto de las equinocandinas, pero comparte el mismo mecanismo de acción al inhibir la 1,3- β -d-glucano sintasa, sin embargo, al igual que la rezafungina no tiene actividad significativa contra los Mucorales (430,431).

Olorofim (anteriormente F901318) es el primer miembro de la clase de antifúngicos orotomida, que se evalúa clínicamente para el tratamiento de infecciones invasivas por hongos. Este agente inhibe la dihidroorotato deshidrogenasa, una enzima clave en la biosíntesis de pirimidinas, la inhibición de la biosíntesis de pirimidina da como resultado la inhibición de la formación de uridina-5'-monofosfato (UMP) y uridina-5'-trifosfato (UTP), las cuales son importantes para varios procesos celulares. Por lo tanto, la inhibición de la síntesis de pirimidina por parte del olorofim puede afectar la pared celular del hongo y dar lugar a la lisis celular. El olorofim tiene actividad contra muchos mohos y hongos dimórficos, incluidas las especies que son resistentes a los azoles y a la anfotericina B, pero carece de actividad contra las levaduras y los Mucorales (431).

En la tabla 5 se resumen los nuevos antifúngicos y su actividad.

Tabla 5. Actividad in vitro de nuevos agentes antifúngicos frente a los patógenos fúngicos.

Antifúngico	<i>Candida spp.</i>		<i>Aspergillus spp.</i>		Mucorales	<i>Fusarium spp.</i>	<i>Scedosporium / Lomentospora spp.</i>
	Wild-type	Resistencia equinocandina	Wild-type	Resistencia azoles			
Rezafungina	Excepto <i>C. parapsilosis</i> (MIC elevada)						
Ibrexafungerp							
Olorofim						Actividad contra <i>F. oxysporum</i> >> <i>F. solani</i>	
Manogepix	Excepto <i>P. kudriavzevii</i> (MIC elevada)					Algunos aislados resistentes (<i>F. oxysporum</i> , <i>F. verticilloides</i>)	Pocos aislados resistentes (<i>S. apiospermum</i>)
Actividad contra mayoría aislamientos		Actividad variable		Actividad marginal		Sin actividad significativa	

Fuente: Elaboración propia con base en la referencia (429).

La novedosa formulación de AmB encocleado (CAmB) a base de nanopartículas, encapsula, protege y libera su molécula de carga AmB en el interior de un cristal anhidro de fosfolípidos de calcio. Al proteger el AmB de las condiciones ambientales adversas y la degradación gastrointestinal, el CAmB ofrece disponibilidad oral junto con una toxicidad reducida (432). Dos estudios de fase II han evaluado su eficacia para el tratamiento de la candidiasis mucocutánea y vulvovaginal crónica. Sin embargo, actualmente se carece de datos preclínicos y clínicos de la eficacia de la anfotericina B encocleada por vía oral para el tratamiento de la mucormicosis invasiva (391).

Los azoles inhiben la biosíntesis de ergosterol al dirigirse al lanosterol 14- α -desmetilasa (también conocido como Cyp51). La inhibición de la biosíntesis de ergosterol conduce a la acumulación de precursores tóxicos de esteroides, la reducción de la integridad de la membrana celular fúngica y la detención del crecimiento de los hongos. Sin embargo, los azoles no son 100 % selectivos para unirse al sitio activo e inhibir la lanosterol 14- α -desmetilasa, y también pueden unirse e inhibir las enzimas del citocromo 450 de los mamíferos, que son responsables del metabolismo de varias sustancias, incluidos otros fármacos (433).

El VT-1161 es un nuevo inhibidor de la 14- α -lanosterol desmetilasa (CYP51), específico de los hongos, con una potente actividad contra levaduras y dermatofitos. El VT-1161 utiliza un 1-tetrazol para unirse al hierro hemo dentro de CYP51, lo cual es fundamental para establecer una mayor selectividad para el CYP51 fúngico, en comparación con el citocromo humano P 450 (CYP) que no es la diana (434), lo que resulta en menos hepatotoxicidad e interacciones farmacológicas (391).

Para evaluar la eficacia del VT-1161 en el tratamiento de la mucormicosis pulmonar, ratones inmunosuprimidos fueron infectados intratraquealmente con esporas de *R. arrhizus*. Posteriormente, se inició un tratamiento una vez al día, por sonda nasogástrica oral con VT-1161 7.5 o 15 mg/kg 16 h después de la infección y se continuó durante siete días. La eficacia de las dos dosis se comparó con una dosis alta de anfotericina B liposomal en el tratamiento de las mucormicosis, que se considera el tratamiento estándar para las mucormicosis en este modelo (434).

La tasa de supervivencia de estos ratones aumentó con el tratamiento VT-1161, con una disminución de 1 log en la carga fúngica pulmonar y cerebral en comparación con los ratones tratados con placebo. Los datos obtenidos por los investigadores mostraron que,

VT-1161 fue tan eficaz como AmB-L en el tratamiento de la mucormicosis murina por *R. arrhizus*. Sin embargo, vale la pena señalar que VT-1161 tuvo valores más altos de MIC frente a *R. arrhizus var. delemar*. Por lo tanto, se requieren estudios adicionales para evaluar la actividad de VT-1161 contra *R. arrhizus var. delemar* y otros Mucorales (434).

El VT-1598 es un nuevo inhibidor del Cyp51, basado en tetrazol, que interrumpe la vía biosintética del ergosterol al impedir la conversión de lanosterol en ergosterol, similar a los inhibidores del Cyp51 basados en imidazol y triazol. Sin embargo, debido a su estructura química única, este agente es significativamente más específico para las enzimas fúngicas Cyp51 en comparación con las enzimas del citocromo P450 de los mamíferos (435).

Wiederhold et al. utilizaron distintos aislamientos clínicos de varias especies de *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, y *R. arrhizus*, entre otros hongos a los cuales se les realizaron pruebas de susceptibilidad a varios antifúngicos como el fluconazol, caspofungina, posaconazol, voriconazol y anfotericina B, además del VT-1598. Este último antifúngico demostró una actividad in vitro contra levaduras y mohos similar o mayor que la de los otros antifúngicos probados. El VT-1598 demostró actividad contra varios aislados de *R. arrhizus*, con valores de MIC que oscilaron entre 0.5 y > 16 mg/L. Cuatro de los aislados analizados tenían MICs > 16 mg/L y tres de ellos fueron confirmados como *R. arrhizus var. delemar* mediante análisis de código de barras ITS, lo cual muestra una potencia disminuida en aislados de *R. arrhizus var delemar* (435).

El MGCD290 es un compuesto que muestra actividad a través de la inhibición de la histona desacetilasa Hos2 (436). Las histonas desacetilasas (HDAC) son una familia de enzimas que desacetilan las lisinas en las histonas centrales y otras proteínas celulares, además, desempeñan un papel importante en la regulación génica y también en el control de otras funciones celulares, como la proliferación, la muerte celular y la mortalidad (437).

El MGCD290 ha mostrado actividad antifúngica modesta per se; sinergismo con azoles frente a *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., *Aspergillus* spp., Mucorales, *Fusarium* spp. y *Scedosporium* spp. (429). En un estudio realizado por Phaller et al. se realizó una combinación de azoles y MGCD290 mediante el método de tablero de ajedrez, se determinaron las concentraciones inhibitorias fraccionales y se definieron como < 0.5 para la sinergia, ≥ 0.5 pero < 4 para la indiferencia y ≥ 4 para el antagonismo. Se analizaron 91 aislamientos de los cuales 10 eran de *Rhizopus* spp., y cinco de *Mucor* spp. Dentro de los resultados obtenidos se demostró sinergia con posaconazol más MGCD290 contra 14/15

Mucorales (nueve aislados de *Rhizopus* spp., y cinco aislados de *Mucor* spp.), además, se observó un cambio categórico en el 87 % de los aislamientos de dichos hongos que aumentó la susceptibilidad a un triazol cuando se probó el triazol en combinación con MGCD290 (436).

Las nanopartículas de plata biosintetizadas (AgNPs) exhiben altas características antibacterianas, antiinflamatorias, antibiofilmes y anticancerígenas, dichas capacidades antimicrobianas se utilizan para revertir infecciones contra microorganismos dañinos como las bacterias y virus (438). Varios mecanismos, como la desintegración de la pared celular, la degradación de las proteínas de superficie, el daño del ácido nucleico por la creación y acumulación de especies reactivas de nitrógeno y oxígeno, y el bloqueo de la bomba de protones, pueden ser responsables de la eficacia antimicrobiana de las AgNP contra los microorganismos (439).

Un estudio realizado por Varaiya et al. mostró que cuando se evaluaron las AgNPs contra *M. racemosus*, *R. microsporus* y *S. racemosum*., se encontró que estas nanopartículas preparadas a partir de la bacteria del suelo *Pseudomonas indica*, tienen potentes propiedades antifúngicas y antioxidantes con una citotoxicidad mínima en la línea celular Vero, lo cual es de suma importancia ya que, la evaluación de la citotoxicidad de compuestos en líneas celulares humanas normales se considera el primer paso para detectar su seguridad. La MIC de AgNPs se evaluó mediante el método de microdilución en caldo frente a todas las cepas fúngicas ensayadas. Los resultados revelaron que la MIC de las AgNPs estaba en el rango de 50 - 100 µg/mL según la cepa fúngica, donde la MIC fue de 50 µg/mL hacia *R. microsporus* y *S. racemosum*, mientras que fue de 100 µg/mL contra *M. racemosus* (439).

En otro estudio realizado por Medda et al. evaluaron las propiedades antifúngicas de las nanopartículas de plata sintetizadas verdes a partir del extracto de hoja de Aloe vera, frente a dos hongos patógenos, *Rhizopus* spp. y *Aspergillus* spp. Las nanopartículas de plata sintetizadas mostraron mayor actividad antifúngica frente a *Aspergillus* spp. que *Rhizopus* spp. mediante la aplicación de 100 µL de nanopartículas de plata 1 M. Sin embargo, la observación microscópica reveló que las nanopartículas sintetizadas causaban efectos perjudiciales sobre la germinación de los conidios, junto con otras deformaciones como la estructura de la membrana celular, e inhibían el proceso normal de gemación de ambas especies probadas (440).

En una investigación reciente, se analizó el efecto inhibitor de los hongos endófitos contra la actividad de hongos causantes de mucormicosis para determinar su eficacia antifúngica. Se utilizaron hojas sanas de *Moringa oleifera* para aislar el *Aspergillus terreus* endófito. Los hongos endófitos tienen actividad antimicrobiana, además, de su actividad antioxidante a través de la síntesis de una variedad de compuestos fenólicos. Mediante cromatografía de gases y espectrofotometría de masas se encontró que el extracto fúngico contenía 16 compuestos bioactivos principales que resultaron en una actividad antifúngica prometedora contra *R. arrhizus*, *Mucor racemosus* y *Syncephalastrum racemosum*. Los compuestos de *A. terreus* causaron alteraciones ultraestructurales permanentes tanto en las estructuras del esporangio como en las de las hifas, además, la peroxidación lipídica de la membrana celular ocasionó daños en la integridad estructural (441). Los datos obtenidos por estos investigadores justifican una evaluación adicional en la producción de compuestos biológicos que pueden usarse para la inhibición de los hongos causantes de mucormicosis.

CAPÍTULO 9. CONCLUSIONES

Las mucormicosis se caracterizan por afectar principalmente a pacientes con factores predisponentes que compromete su sistema inmune, como por ejemplo la diabetes mellitus, cetoacidosis, malignidad hematológica, trasplante de órganos, uso prolongado de terapia inmunosupresora, sobrecarga de hierro, infección por SARS-CoV-2, prematuridad al nacer, etc. Sin embargo, los pacientes inmunocompetentes también pueden verse afectados por Mucorales después de un traumatismo durante un accidente de tránsito, heridas de combate, desastres naturales, entre otros.

Los principales agentes causales son: *R. arrhizus* que es el agente más común de mucormicosis en todo el mundo, seguido de las especies *Lichtheimia*, *Apophysomyces*, *Rhizomucor*, *Mucor* y *Cunninghamella*. Estos hongos son ubicuos por lo que están presentes y distribuidos por todo el planeta.

Las distintas formas clínicas de las mucormicosis tienen una tasa de mortalidad alta, la cual varía de acuerdo con el agente fúngico, sitio anatómico afectado, el estado de salud y las condiciones predisponentes del paciente, y a pesar de que ha ido disminuyendo, sus números aún son elevados. El cambio de la epidemiología observado a través de los años, mediante el aumento de la incidencia, nuevos agentes causales y la población susceptible, puede deberse al incremento de los pacientes inmunocomprometidos y mayor sobrevivencia de los pacientes con neoplasias hematológicas o trasplantados. Así mismo, el mejor conocimiento de la enfermedad, la optimización en el diagnóstico y el tratamiento adecuado pueden contribuir con este cambio epidemiológico.

Los seres humanos inhalamos las esporas de los Mucorales, las cuales son expulsadas del sistema respiratorio gracias a la acción del epitelio respiratorio y a células especializadas. En caso contrario y ante un trastorno de fondo, la infección se adquiere principalmente mediante la inhalación de esporangiosporas fúngicas, las cuales pueden evadir los mecanismos de defensa de las vías respiratorias superiores pudiendo llegar hasta los espacios alveolares o instaurar una micosis rino-orbita-cerebral. Otras vías de entrada son la ingestión de alimentos contaminados y la inoculación directa del hongo en la piel alterada. Una propiedad característica de los Mucorales es su tendencia y capacidad de invadir los vasos sanguíneos y causar trombosis y necrosis de los tejidos infectados.

Los principales tipos de enfermedad causada por estos microorganismos son: la mucormicosis rino-orbito-cerebral, con síntomas como el dolor facial, fiebre, congestión nasal, edema, eritema, ulceración, dolor ocular, necrosis, etc. La mucormicosis pulmonar presenta síntomas como fiebre, tos, dolor torácico, disnea, sibilancias, hemoptisis, entre otros. Estas dos presentaciones son las más frecuentes seguidas de la mucormicosis cutánea y gastrointestinal, y en menor medida se presentan casos de mucormicosis diseminada y formas raras de la enfermedad.

Los Mucorales al igual que otros hongos tienen factores de virulencia que les permite sobrevivir y crecer en un ambiente con condiciones adversas como las del ser humano. Algunos factores de virulencia incluyen la capacidad de adherirse a los tejidos del huésped como las proteínas CotH, las cuales les permiten unirse al receptor celular GRP78 y la consiguiente invasión. La producción de enzimas como la mucoricina causan daño tisular, mientras que la rizoferrina y la ferrioxamina (ambos sideróforos), junto con el gen TFR1 están implicados en la capacidad de obtener hierro de las formas de almacenamiento o transporte. El dimorfismo presente en algunas especies de *Mucor*, no solo determina su morfología sino también el tipo de metabolismo y el potencial de virulencia, siendo el crecimiento de las hifas un fenotipo más virulento en parte debido a una mayor invasión tisular, además, también afecta el tamaño de las esporas, mostrando una correlación positiva entre el tamaño de la espora y el potencial de virulencia. La evasión del sistema inmune y la resistencia a algunos antifúngicos contribuyen con la supervivencia de estos hongos.

La respuesta inmune innata es la más importante en el combate de las mucormicosis. La piel intacta y las mucosas impiden la entrada de estos agentes fúngicos. Las células epiteliales liberan péptidos, enzimas y citocinas antimicrobianas que contribuyen con la eliminación de los hongos, además, colaboran con el microambiente a través de la señalización con las citocinas. El reconocimiento de los PAMPs es un paso crítico y esto se logra gracias a los PRR como los TLR, CLR y NLR. La señalización resultante repercute en la internalización del hongo a través de la fagocitosis por parte de los macrófagos y neutrófilos, la producción de citoquinas que reclutan y estimulan células inflamatorias; y/o la producción de especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno. Las células NK tienen actividad antifúngica directa mediante la liberación de moléculas citotóxicas como la perforina y granzima B, mientras la actividad indirecta se da a través de citoquinas y

quimiocinas como el INF- γ , TNF- α y GM-CSF, que afectan la actividad de otras células inmunitarias.

Las plaquetas muestran actividad antimicrobiana mediadas por la liberación de gránulos con péptidos antimicrobianos como las trobocidinas y citoquinas pro y anti inflamatorias, y que, además, tienen propiedades quimiotáticas hacia el reclutamiento de fagocitos. La agregación plaquetaria y la adherencia a la pared fúngica pueden impedir la diseminación hematológica. Las células dendríticas sobresalen por su capacidad fagocítica y de presentar antígenos a las células T, así mismo, son capaces de liberar citoquinas como la IL-23 la cual impulsa una respuesta Th-17.

Con respecto al sistema inmune adaptativo, los linfocitos T tienen un rol preponderante contra las mucormicosis, liberando citoquinas como IL-4, IFN- γ , IL-10 e IL-17. Los linfocitos T específicos producen INF- γ capaz de inducir daño en las hifas de Mucorales, además, estimulan otras células como los fagocitos aumentando su actividad antifúngica. Las respuestas principalmente inducidas durante esta micosis son la Th17 y la Th1, mientras que la respuesta Th2 aumenta la susceptibilidad a las infecciones fúngicas. Se han hecho investigaciones en ratones utilizando anticuerpos monoclonales contra péptidos CoH. Este tratamiento, confirió protección a los ratones tratados, disminuyendo la mortalidad y aumentando la actividad microbicida de los PMN, convirtiéndose en un tratamiento prometedor, sin embargo, se requiere más investigación.

Las mucormicosis pueden afectar cualquier parte del cuerpo humano, con una gran variedad de manifestaciones clínicas. Se pueden obtener distintas muestras para identificar esta micosis, como las biopsias de piel o tejidos/órganos afectados y lavados bronco alveolares. Las técnicas diagnósticas van desde los procedimientos más básicos como el examen directo, el cultivo y la histopatología; hasta la imagenología, las técnicas moleculares y espectrofotometría de masas como el MALDI-TOF. La sospecha junto con el diagnóstico clínico es fundamental en esta micosis debido a su alta tasa de mortalidad y a la rapidez con la que se disemina este hongo.

El tratamiento antifúngico y el desbridamiento quirúrgico son la piedra angular de esta micosis, ya que ante la más mínima sospecha se debe iniciar la administración temprana de los agentes antifúngicos y realizar un manejo estricto de factores predisponentes como la diabetes mellitus no controlada y la neutropenia. El desbridamiento previene la invasión progresiva del tejido y sus secuelas como la deformidad por una cirugía extensa. La

anfotericina B liposomal se considera el fármaco por elección, aunque el isavuconazol y el posaconazol juegan un rol importante en el tratamiento de esta micosis. Los tratamientos adyuvantes como el bicarbonato de sodio, los quelantes de hierro, el oxígeno hiperbárico y la administración de GM-CSF, pueden favorecer la actividad de los fármacos antifúngicos mediante su acción sobre las condiciones biológicas de infección en el huésped.

La no obligatoriedad del reporte de esta micosis favorece el subregistro, por lo que el papel del micólogo se vuelve transcendental contribuyendo en la generación de conocimiento a través de la información transmitida en el ambiente hospitalario como las sesiones médicas o a través de la publicación de casos. El laboratorio clínico mediante un diagnóstico certero tiene la posibilidad de mejorar la calidad de vida del paciente quien es nuestra razón de ser como profesionales en la salud.

10. RECOMENDACIONES

Conocer las condiciones clínicas del paciente, las cuales pueden generar alta sospecha en los profesionales en salud. La mucormicosis es más frecuente en pacientes inmunodeficientes, con malignidades hematológicas y en pacientes con diabetes mal controlada, especialmente si hay cetoacidosis. En casos de mucormicosis probable o comprobada se debe controlar la enfermedad subyacente incluido el manejo de la cetoacidosis y la hiperglucemia en pacientes diabéticos, la modulación de los corticosteroides y los fármacos inmunosupresores.

Sospechar de mucormicosis rino-órbito-cerebral en pacientes diabéticos con las siguientes manifestaciones: dolor, fiebre, celulitis orbitaria, proptosis, oftalmoplejía, pérdida de la visión, rinorrea purulenta y necrosis de las mucosas. Las lesiones necróticas aparecen en la mucosa nasal o en el paladar. Aunque es un signo característico, la escara necrótica no siempre está presente en casos de mucormicosis, sin embargo, ante la presencia de este signo se debe actuar rápidamente tomando una biopsia e iniciar el tratamiento profiláctico con Anfotericina B liposomal (hasta 10mg/kg). En caso de disfunción renal se debe utilizar isavuconazol o posaconazol según las dosis recomendadas. Por otro lado, se debe realizar desbridamiento quirúrgico de la zona afectada

Realizar diagnóstico diferencial de aspergilosis pulmonar invasiva y mucormicosis pulmonar. Para ello se dispone de herramientas diagnósticas como el signo de halo inverso que es más frecuente en la MP. La presencia de derrames pleurales y más de 10 nódulos es más sugestiva de MP que de API, además, las pruebas 1,3-Beta-D-glucano son negativas en la mucormicosis pulmonar. La mucormicosis pulmonar predomina en pacientes con neoplasias malignas.

Sospechar mucormicosis gastrointestinal en casos de niños prematuros con enterocolitis necrotizante, dolor, náuseas, vómito, diarrea acuosa o sanguinolenta. Valorar factores de riesgo como la desnutrición, la hiperglicemia, la acidosis, la asfixia, el uso de corticosteroides, la cirugía reciente, la instrumentación con sondas orogástricas o nasogástricas y la exposición a productos contaminados.

Ante la sospecha de mucormicosis, en el laboratorio no se deben triturar las biopsias. Revisar cuidadosamente del montaje en KOH y/o blanco de calcoflúor, en búsqueda de

hifas anchas, sin septos, o espaciadamente septadas, con ramificaciones en ángulos de 90°.

Las colonias son de rápido crecimiento y en muchas ocasiones son consideradas contaminantes. Por lo que, antes de considerarlas como un contaminante, se debe valorar el diagnóstico del paciente, la clínica, los factores predisponentes y mantener una comunicación continua con el médico tratante. Buscar las estructuras características de los Mucorales (esporangio, esporangióforo, rizoides, columella, estolón, apósisis).

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Serris A, Danion F, Lanternier F. Disease Entities in Mucormycosis. *Journal of Fungi*. 2019 Mar 14;5(1):23.
2. Skiada A, Lass-Floerl C, Klimko N, Ibrahim A, Roilides E, Petrikos G. Challenges in the diagnosis and treatment of mucormycosis. *Med Mycol* [Internet]. 2018 Apr 1;56(suppl_1):S93–101. Available from: https://academic.oup.com/mmy/article/56/suppl_1/S93/4925966
3. Prakash H, Chakrabarti A. Global Epidemiology of Mucormycosis. *Journal of Fungi* [Internet]. 2019 Mar 21;5(1):26. Available from: <https://www.mdpi.com/2309-608X/5/1/26>
4. Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. Alerta Epidemiológica Mucormicosis asociada a la COVID-19. 2021 Jun.
5. Reid G, Lynch JP, Fishbein MC, Clark NM. Mucormycosis. *Semin Respir Crit Care Med*. 2020 Feb 30;41(01):099–114.
6. Skiada A, Pavleas I, Drogari-Apiranthitou M. Epidemiology and Diagnosis of Mucormycosis: An Update. *Journal of Fungi* [Internet]. 2020 Nov 2;6(4):265. Available from: <https://www.mdpi.com/2309-608X/6/4/265>
7. Castillo L. Experiencia de mucormicosis en el Hospital Juárez de México. *Revista del Hospital de Juarez de México*. 2004;71(1):3–13.
8. Baker RD. MUCORMYCOSIS—A NEW DISEASE? *J Am Med Assoc*. 1957 Mar 9;163(10):805.
9. Ibrahim AS, Edwards JE, Filler SG, Spellberg B. Mucormycosis and Entomophthoromycosis (Zygomycosis). In: *Essentials of Clinical Mycology*. New York, NY: Springer New York; 2011. p. 265–80.
10. Spatafora JW, Chang Y, Benny GL, Lazarus K, Smith ME, Berbee ML, et al. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia*. 2016 Sep 20;108(5):1028–46.
11. Tedersoo L, Sánchez-Ramírez S, Kõljalg U, Bahram M, Döring M, Schigel D, et al. High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. *Fungal Divers*. 2018 May 16;90(1):135–59.
12. Ziaee A, Zia M, Bayat M, Hashemi J. Identification of Mucorales isolates from soil using morphological and molecular methods. *Curr Med Mycol*. 2016 Mar 1;2(1):13–9.
13. Bonifaz A. Mucormicosis y entomoftromicosis (zigomicosis). In: Fraga JPM, editor. *Micología Médica Básica*. 4 th. México D.F.: McGrawHill; 2012. p. 399–415.
14. Washburn R, Kennedy D, Begley M, Henderson D, Bennett J. Chronic Fungal Sinusitis in Apparently Normal Host. *Medicine*. 1988;67(4):231–47.

15. Waizel S, Cohn F, Vargas A, Ramirez R, Vivar E. Mucormicosis rinocerebral invasora crónica. *Cirugía y Cirujanos*. 2003 Mar;71:149–149.
16. Julián Castrejón A, Crespo Reinoso PA. Mucormicosis rinocerebral: reporte de un caso y revisión de la literatura. *Revista Mexicana de Cirugía Bucal y Maxilofacial*. 2020;16(1):22–6.
17. Collins DM, Dillard TA, Grathwohl KW, Giacoppe GN, Arnold BF. Bronchial Mucormycosis With Progressive Air Trapping. *Mayo Clin Proc*. 1999 Jul;74(7):698–701.
18. BAKER RD. Pulmonary mucormycosis. *Am J Pathol*. 1956;32(2):287–313.
19. Chick E, Evans J, Baker R. Treatment of experimental mucormycosis (*Bhizopus oryzae* infection) in Babbits with amphotericin B. *Antibiot Chemother (1971)*. 1958;8:394–9.
20. Vignale R, Mackinnon JE, de Vilaboa EC, Burgoa F. Chronic, destructive, mucocutaneous phycomycosis in man. *Med Mycol*. 1964 Jan;3(2):143–7.
21. Uppuluri P, Alqarihi A, Ibrahim AS. Mucormycoses. In: *Encyclopedia of Mycology*. Elsevier; 2021. p. 600–12.
22. Gomes MZR, Lewis RE, Kontoyiannis DP. Mucormycosis Caused by Unusual Mucormycetes, Non-Rhizopus, -Mucor, and -Lichtheimia Species. *Clin Microbiol Rev*. 2011 Apr;24(2):411–45.
23. Mendoza L, Vilela R, Voelz K, Ibrahim AS, Voigt K, Lee SC. Human Fungal Pathogens of Mucorales and Entomophthorales. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015 Apr 1;5(4):a019562–a019562.
24. Hassan MIA, Voigt K. Pathogenicity patterns of mucormycosis: epidemiology, interaction with immune cells and virulence factors. *Med Mycol*. 2019 Apr 1;57(Supplement_2):S245–56.
25. Antachopoulos C, Petraitiene R, Roilides E, Walsh T. Mucormycosis. In: Hospenthal DRMWT, editor. *Diagnosis and Treatment of Fungal Infections*. Third. Gewerbestrasse: Springer; 2023. p. 221–35.
26. Larone D, Westblade L, Burd E, Lockhart S, Procop G, Walsh T. Identification of Fungi in Culture. In: Larone DWLBELPG, editor. *Larone's MEDICALLY IMPORTANT FUNGI a guide to identification*. 7 th. American Society for Microbiology and John Wiley & Sons; 2023.
27. Walther, Wagner, Kurzai. Updates on the Taxonomy of Mucorales with an Emphasis on Clinically Important Taxa. *Journal of Fungi*. 2019 Nov 14;5(4):106.
28. Ríos-López AL, González GM, Flores-Maldonado OE. Mucor: el ascenso y caída de un antiguo patógeno en tiempos de COVID-19. *Revista Ciencia UANL*. 2023 Nov 9;26(119):44–9.
29. Nicolás FE, Murcia L, Navarro E, Navarro-Mendoza MI, Pérez-Arques C, Garre V. Mucorales Species and Macrophages. *Journal of Fungi*. 2020 Jun 26;6(2):94.

30. Walther G, Wagner L, Kurzai O. Outbreaks of Mucorales and the Species Involved. *Mycopathologia*. 2019 Nov 16;
31. Nguyen TTT, Jeon YJ, Mun HY, Goh J, Chung N, Lee HB. Isolation and Characterization of Four Unrecorded *Mucor* Species in Korea. *Mycobiology*. 2020 Jan 2;48(1):29–36.
32. Walther G, Wagner L, Kurzai O. Outbreaks of Mucorales and the Species Involved. *Mycopathologia*. 2019 Nov 16;
33. Vellanki S, Navarro-Mendoza MI, Garcia A, Murcia L, Perez-Arques C, Garre V, et al. *Mucor circinelloides* : Growth, Maintenance, and Genetic Manipulation. *Curr Protoc Microbiol*. 2018 May 27;49(1).
34. Gross N, Salas I. Métodos diagnósticos en micología médica. Primera. Editorial Universidad de Costa Rica; 2012. 64–68 p.
35. Samaddar A, Sharma A, Maurya VK, Tak V. Necrotizing fasciitis caused by *Apophysomyces variabilis* in a burn patient. *IDCases*. 2019;18:e00660.
36. Guarro J, Chander J, Alvarez E, Stchigel AM, Robin K, Dalal U, et al. *Apophysomyces variabilis* Infections in Humans. *Emerg Infect Dis*. 2011 Jan;17(1):134–5.
37. Ribes JA, Vanover-Sams CL, Baker DJ. Zygomycetes in Human Disease. *Clin Microbiol Rev*. 2000 Apr;13(2):236–301.
38. Arenas R. Micosis oportunistas. In: Fraga JRGPMRBRA, editor. *Micología Médica Ilustrada*. Cuarta. México D.F.: Mc Graw Hill; 2011. p. 221–80.
39. Hallur V, Prakash H, Sable M, Preetam C, Purushotham P, Senapati R, et al. *Cunninghamella arunalokei* a New Species of Cunninghamella from India Causing Disease in an Immunocompetent Individual. *Journal of Fungi*. 2021 Aug 19;7(8):670.
40. Harada M, Yasuda K, Uruchida K, Yamashita R, Morikawa K, Ito Y, et al. An autopsy case of disseminated *Cunninghamella bertholletiae* infection in an immunocompetent patient: a case report. *BMC Pulm Med*. 2023 Mar 17;23(1):88.
41. Saksena SB. A New Genus of the Mucorales. *Mycologia* [Internet]. 1953 May 13;45(3):426–36. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00275514.1953.12024280>
42. Davidson N, Campbell K, Foroughi F, Tayal V, Lynar S, Crawford LC, et al. Disseminated Saksenaia infection in an immunocompromised host associated with a good clinical outcome: a case report and review of the literature. *BMC Infect Dis*. 2020 Dec 14;20(1):755.
43. Schober S, Cabanillas Stanchi KM, Riecker A, Pfeiffer M, Tsiflikas I, Wiegand G, et al. Fulminant *Rhizomucor pusillus* mucormycosis during anti-leukemic treatment with blinatumomab in a child: A case report and review of the literature. *Med Mycol Case Rep*. 2021 Jun;32:4–9.

44. Freifeld A, Iwen P. Zygomycosis. *Semin Respir Crit Care Med* [Internet]. 2004 Apr 19;25(02):221–31. Available from: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-2004-824905>
45. Schneider M, Kobayashi K, Uldry E, Demartines N, Golshayan D, Halkic N. *Rhizomucor* hepatosplenic abscesses in a patient with renal and pancreatic transplantation. *The Annals of The Royal College of Surgeons of England*. 2021 Apr;103(4):e131–5.
46. Maatallah F, Mtibaa L, Stambouli H, Baccouchi N, Ghdira H, Souid H, et al. First case of pulmonary mucormycosis caused by *Rhizomucor miehei*. *Journal of Clinical Images and Medical Case Reports*. 2022 Feb 28;3(2).
47. Hagemann JB, Furitsch M, Wais V, Bunjes D, Walther G, Kurzai O, et al. First case of fatal *Rhizomucor miehei* endocarditis in an immunocompromised patient. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2020 Oct;98(2):115106.
48. Mangaraj S, Sethy G, Patro M, Padhi S. A rare case of subcutaneous mucormycosis due to *Syncephalastrum racemosum*: Case report and review of literature. *Indian J Med Microbiol*. 2014 Oct;32(4):448–51.
49. Gulati N, Gupta P, Nayyar C, Sherwal B, Kumar S. *Syncephalastrum racemosum* as a Rare Agent of Rhino-orbital Mucormycosis: A Case Report and Review. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*. 2021;
50. Kabtani J, Boulanouar F, Gaye PM, Militello M, Ranque S. *Syncephalastrum massiliense* sp. nov. and *Syncephalastrum timoneanum* sp. nov. Isolated from Clinical Samples. *Journal of Fungi*. 2024 Jan 13;10(1):64.
51. Taghizadeh Armaki M, Jafarzadeh J, Omran SM, Bayani M, Tavassoli A, Faeli L, et al. First report of rhino-orbital Mucormycosis caused by *Syncephalastrum racemosum* in a diabetic patient with COVID-19 in Iran and review of recent literature. *Curr Med Mycol*. 2022 Aug 21;
52. Irshad M, Nasir N, Hashmi UH, Farooqi J, Mahmood SF. Invasive pulmonary infection by *Syncephalastrum* species: Two case reports and review of literature. *IDCases*. 2020;21:e00913.
53. Petrikos G, Tsioutis C. Recent Advances in the Pathogenesis of Mucormycoses. *Clin Ther*. 2018 Jun;40(6):894–902.
54. Roilides E, Antachopoulos C, Simitsopoulou M. Pathogenesis and host defence against Mucorales: the role of cytokines and interaction with antifungal drugs. *Mycoses*. 2014 Dec 31;57(s3):40–7.
55. Slavin M, van Hal S, Sorrell TC, Lee A, Marriott DJ, Daveson K, et al. Invasive infections due to filamentous fungi other than *Aspergillus*: epidemiology and determinants of mortality. *Clinical Microbiology and Infection*. 2015 May;21(5):490.e1-490.e10.

56. Bitar D, Van Cauteren D, Lanternier F, Dannaoui E, Che D, Dromer F, et al. Increasing Incidence of Zygomycosis (Mucormycosis), France, 1997–2006. *Emerg Infect Dis*. 2009 Sep;15(9):1395–401.
57. Prakash H, Ghosh AK, Rudramurthy SM, Singh P, Xess I, Savio J, et al. A prospective multicenter study on mucormycosis in India: Epidemiology, diagnosis, and treatment. *Med Mycol*. 2019 Jun 1;57(4):395–402.
58. Jeong W, Keighley C, Wolfe R, Lee WL, Slavin MA, Kong DCM, et al. The epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis: a systematic review and meta-analysis of case reports. *Clinical Microbiology and Infection [Internet]*. 2019 Jan;25(1):26–34. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X18305299>
59. Chakrabarti A, Das A, Mandal J, Shivaprakash MR, George VK, Tarai B, et al. The rising trend of invasive zygomycosis in patients with uncontrolled diabetes mellitus. *Med Mycol*. 2006 Jan;44(4):335–42.
60. Sigera LSM, Denning DW. A Systematic Review of the Therapeutic Outcome of Mucormycosis. *Open Forum Infect Dis*. 2024 Jan 2;11(1).
61. Cornely OA, Alastruey-Izquierdo A, Arenz D, Chen SCA, Dannaoui E, Hochhegger B, et al. Global guideline for the diagnosis and management of mucormycosis: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Lancet Infect Dis [Internet]*. 2019 Dec;19(12):e405–21. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1473309919303123>
62. Danion F, Coste A, Le Hyaric C, Melenotte C, Lamoth F, Calandra T, et al. What Is New in Pulmonary Mucormycosis? *Journal of Fungi*. 2023 Feb 28;9(3):307.
63. Lecointe K, Cornu M, Leroy J, Coulon P, Sendid B. Polysaccharides Cell Wall Architecture of Mucorales. *Front Microbiol*. 2019 Mar 19;10.
64. Gomes MZR, Lewis RE, Kontoyiannis DP. Mucormycosis Caused by Unusual Mucormycetes, Non-Rhizopus, -Mucor, and -Lichtheimia Species. *Clin Microbiol Rev [Internet]*. 2011 Apr;24(2):411–45. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00056-10>
65. Skiada A, Pagano L, Groll A, Zimmerli S, Dupont B, Lagrou K, et al. Zygomycosis in Europe: analysis of 230 cases accrued by the registry of the European Confederation of Medical Mycology (ECMM) Working Group on Zygomycosis between 2005 and 2007. *Clinical Microbiology and Infection*. 2011 Dec;17(12):1859–67.
66. Chakrabarti A, Singh R. The emerging epidemiology of mould infections in developing countries. *Curr Opin Infect Dis*. 2011 Dec;24(6):521–6.
67. Lanternier F, Dannaoui E, Morizot G, Elie C, Garcia-Hermoso D, Huerre M, et al. A Global Analysis of Mucormycosis in France: The RetroZygo Study (2005–2007). *Clinical Infectious Diseases [Internet]*. 2012 Feb 1;54(suppl 1):S35–43. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/cir880>

68. Stemler J, Hamed K, Salmanton-García J, Rezaei-Matehkolaei A, Gräfe SK, Sal E, et al. Mucormycosis in the Middle East and North Africa: Analysis of the FungiScope[®] registry and cases from the literature. *Mycoses* [Internet]. 2020 Oct 29;63(10):1060–8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/myc.13123>
69. Nucci M, Engelhardt M, Hamed K. Mucormycosis in South America: A review of 143 reported cases. *Mycoses*. 2019 Sep 11;62(9):730–8.
70. Meis JF, Chakrabarti A. Changing epidemiology of an emerging infection: zygomycosis. *Clinical Microbiology and Infection*. 2009;15:10–4.
71. Roden MM, Zaoutis TE, Buchanan WL, Knudsen TA, Sarkisova TA, Schaufele RL, et al. Epidemiology and Outcome of Zygomycosis: A Review of 929 Reported Cases. *Clinical Infectious Diseases*. 2005 Sep 1;41(5):634–53.
72. Salmanton-García J, Seidel D, Koehler P, Mellinghoff SC, Herbrecht R, Klimko N, et al. Matched-paired analysis of patients treated for invasive mucormycosis: standard treatment versus posaconazole new formulations (MoveOn). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2019 Nov 1;74(11):3315–27.
73. Richardson M. The ecology of the Zygomycetes and its impact on environmental exposure. *Clinical Microbiology and Infection* [Internet]. 2009;15:2–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X14607205>
74. Kennedy KJ, Daveson K, Slavin MA, van Hal SJ, Sorrell TC, Lee A, et al. Mucormycosis in Australia: contemporary epidemiology and outcomes. *Clinical Microbiology and Infection*. 2016 Sep;22(9):775–81.
75. Mantadakis E, Samonis G. Clinical presentation of zygomycosis. *Clinical Microbiology and Infection* [Internet]. 2009;15:15–20. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X14607229>
76. Lelievre L, Garcia-Hermoso D, Abdoul H, Hivelin M, Chouaki T, Toubas D, et al. Posttraumatic Mucormycosis A Nationwide Study in France and Review of the Literature. *Medicine*. 2014 Nov;93(24):395–404.
77. Austin CL, Finley PJ, Mikkelsen DR, Tibbs B. Mucormycosis. *Journal of Burn Care & Research*. 2014;35(3):e164–71.
78. Abdel-Hafez SII. Composition of the fungal flora of four cereal grains in Saudi Arabia. *Mycopathologia*. 1984;85(1–2):53–7.
79. Rydjord B, Eduard W, Stensby B, Sandven P, Michaelsen TE, Wiker HG. Antibody Response to Long-term and High-dose Mould-exposed Sawmill Workers. *Scand J Immunol*. 2007 Dec 5;66(6):711–8.
80. Mitchell S, Gray J, Morgan M, Hocking M, Durbin G. Nosocomial infection with *Rhizopus microsporus* in preterm infants: association with wooden tongue depressors. *The Lancet*. 1996 Aug;348(9025):441–3.

81. Cheng VCC, Chan JFW, Ngan AHY, To KKW, Leung SY, Tsoi HW, et al. Outbreak of Intestinal Infection Due to *Rhizopus microsporus*. *J Clin Microbiol*. 2009 Sep;47(9):2834–43.
82. Andresen D, Donaldson A, Choo L, Knox A, Klaassen M, Ursic C, et al. Multifocal cutaneous mucormycosis complicating polymicrobial wound infections in a tsunami survivor from Sri Lanka. *The Lancet*. 2005 Mar;365(9462):876–8.
83. Walsh TJ, Hospenthal DR, Petraitis V, Kontoyiannis DP. Necrotizing Mucormycosis of Wounds Following Combat Injuries, Natural Disasters, Burns, and Other Trauma. *Journal of Fungi*. 2019 Jul 4;5(3):57.
84. Lewis RE. Cutaneous Mucormycosis in Tornado Survivors. *Curr Fungal Infect Rep*. 2011 Dec 27;5(4):187–9.
85. Paolino KM, Henry JA, Hospenthal DR, Wortmann GW, Hartzell JD. Invasive Fungal Infections Following Combat-Related Injury. *Mil Med*. 2012 Jun;177(6):681–5.
86. Rodriguez CJ, Weintrob AC, Shah J, Malone D, Dunne JR, Weisbrod AB, et al. Risk Factors Associated with Invasive Fungal Infections in Combat Trauma. *Surg Infect (Larchmt)*. 2014 Oct;15(5):521–6.
87. Becker WK. Fungal Burn Wound Infection. *Archives of Surgery*. 1991 Jan 1;126(1):44.
88. Devauchelle P, Jeanne M, Fréalle E. Mucormycosis in Burn Patients. *Journal of Fungi*. 2019 Mar 21;5(1):25.
89. Kyriopoulos EJ, Kyriakopoulos A, Karonidis A, Gravvanis A, Gamatsi I, Tsironis C, et al. Burn injuries and soft tissue traumas complicated by mucormycosis infection: a report of six cases and review of the literature. *Ann Burns Fire Disasters*. 2015 Dec 31;28(4):280–7.
90. Rogers TR. Treatment of zygomycosis: current and new options. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2008 Jan 1;61(Supplement 1):i35–40.
91. Reyes F, Pérez M, Alfonso E, Ramírez M, Jiménez Y. Tratamiento actual de la diabetes mellitus tipo 2. *Scielo*. 2016;20(1):98–212.
92. Jerez Fernández CI, Medina Pereira YA, Ortiz Chang AS, González Olmedo SI, Aguirre Gaete MC. Fisiopatología y alteraciones clínicas de la diabetes mellitus tipo 2. *Nova*. 2022 Sep 13;20(38):65–103.
93. LEVY L, ZEICHNER JA. Dermatologic manifestation of diabetes. *J Diabetes*. 2012 Mar 23;4(1):68–76.
94. Valenzuela P. Infecciones y diabetes. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*. 2012;10(1):151–3.
95. Nithyanandam S, Jacob M, Battu R, Thomas R, Correa M, D’Souza O. Rhino-Orbito-Cerebral Mucormycosis. A Retrospective Analysis of Clinical Features and Treatment Outcomes. *Indian J Ophthalmol*. 2004;51(3):231–6.

96. Vergel M, Azkoul J, Meza M, Salas A, Velásquez E. Cetoacidosis diabética en adultos y estado hiperglucémico hiperosmolar: Diagnóstico y tratamiento. *Rev Venez Endocrinol Metab.* 2012;10(3):170–5.
97. Ramírez S, Sierra D, Contreras D, Araiza J, Ponce R, Guarro J, et al. Mucormicosis rino-órbito-cerebral causada por *Rhizomucor pusillus* en paciente diabético descompensado. *Dermatol Rev Mex.* 2012;56(1):132–6.
98. Elguera-Falcón F, Cumpa-Quiróz R. Mucormicosis en pacientes diabéticos post infección por COVID-19. *Revista de la Sociedad Peruana de Medicina Interna.* 2020 Dec 19;33(4):176–82.
99. Khanna M, Challa S, Kabeil AS, Inyang B, Gondal FJ, Abah GA, et al. Risk of Mucormycosis in Diabetes Mellitus: A Systematic Review. *Cureus.* 2021 Oct 16;
100. Rammaert B, Lanternier F, Poirée S, Kania R, Lortholary O. Diabetes and mucormycosis: A complex interplay. *Diabetes Metab.* 2012 Jun;38(3):193–204.
101. Arora U, Priyadarshi M, Katiyar V, Soneja M, Garg P, Gupta I, et al. Risk factors for Coronavirus disease-associated mucormycosis. *Journal of Infection.* 2022 Mar;84(3):383–90.
102. Spellberg B, Edwards J, Ibrahim A. Novel Perspectives on Mucormycosis: Pathophysiology, Presentation, and Management. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2005 Jul;18(3):556–69. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.18.3.556-569.2005>
103. De Locht M, Boelaert JR, Schneider YJ. Iron uptake from ferrioxamine and from ferrirhizoferrin by germinating spores of *Rhizopus microsporus*. *Biochem Pharmacol.* 1994 May;47(10):1843–50.
104. Boelaert JR, de Locht M, Van Cutsem J, Kerrels V, Cantinieaux B, Verdonck A, et al. Mucormycosis during deferoxamine therapy is a siderophore-mediated infection. In vitro and in vivo animal studies. *Journal of Clinical Investigation.* 1993 May 1;91(5):1979–86.
105. Ibrahim AS, Spellberg B, Edwards J. Iron acquisition: a novel perspective on mucormycosis pathogenesis and treatment. *Curr Opin Infect Dis.* 2008 Dec;21(6):620–5.
106. Kontoyiannis DP, Lewis RE. How I treat mucormycosis. *Blood.* 2011 Aug 4;118(5):1216–24.
107. Phulpin-Weibel A, Rivier A, Leblanc T, Bertrand Y, Chastagner P. Focus on invasive mucormycosis in paediatric haematology oncology patients: a series of 11 cases. *Mycoses.* 2013 May;56(3):236–40.
108. Chamilos G, Lewis RE, Kontoyiannis DP. Delaying Amphotericin B–Based Frontline Therapy Significantly Increases Mortality among Patients with Hematologic Malignancy Who Have Zygomycosis. *Clinical Infectious Diseases.* 2008 Aug 15;47(4):503–9.
109. Pagano L, Offidami M, Fianchi L, Nosari A, Candoni A, Picardi M. Mucormycosis in hematologic patients. *Haematologia (Budap).* 2004 Feb;89(2):207–14.

110. Petrikkos G, Skiada A, Lortholary O, Roilides E, Walsh TJ, Kontoyiannis DP. Epidemiology and Clinical Manifestations of Mucormycosis. *Clinical Infectious Diseases*. 2012 Feb 1;54(suppl_1):S23–34.
111. Pak J, Tucci V, Vincent A, Sandin R, Greene J. Mucormycosis in immunochallenged patients. *J Emerg Trauma Shock*. 2008;1(2):106.
112. Chayakulkeeree M, Ghannoum MA, Perfect JR. Zygomycosis: the re-emerging fungal infection. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2006 Apr 28;25(4):215–29.
113. Claustre J, Larcher R, Jouve T, Truche AS, Nseir S, Cadiet J, et al. Mucormycosis in intensive care unit: surgery is a major prognostic factor in patients with hematological malignancy. *Ann Intensive Care*. 2020 Dec 8;10(1):74.
114. Noorifard M, Sekhavati E, Jalaei Khoo H, Hazraty I, Tabrizi R. Epidemiology and clinical manifestation of fungal infection related to Mucormycosis in hematologic malignancies. *J Med Life*. 2015;8(Spec Iss 2):32–7.
115. Lewis RE, Georgiadou SP, Sampsonas F, Chamilos G, Kontoyiannis DP. Risk factors for early mortality in haematological malignancy patients with pulmonary mucormycosis. *Mycoses*. 2014 Jan 12;57(1):49–55.
116. Valentine JC, Morrissey CO, Tacey MA, Liew D, Patil S, Ananda-Rajah M. A population-based analysis of attributable hospitalisation costs of invasive fungal diseases in haematological malignancy patients using data linkage of state-wide registry and costing databases: 2009-2015. *Mycoses*. 2020 Feb 4;63(2):162–71.
117. Guinea J, Escribano P, Vena A, Muñoz P, Martínez-Jiménez M del C, Padilla B, et al. Increasing incidence of mucormycosis in a large Spanish hospital from 2007 to 2015: Epidemiology and microbiological characterization of the isolates. *PLoS One*. 2017 Jun 7;12(6):e0179136.
118. Yang N, Zhang L, Feng S. Clinical Features and Treatment Progress of Invasive Mucormycosis in Patients with Hematological Malignancies. *Journal of Fungi*. 2023 May 19;9(5):592.
119. Lewis RE, Cahyame-Zuniga L, Leventakos K, Chamilos G, Ben-Ami R, Tamboli P, et al. Epidemiology and sites of involvement of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies: a 20-year autopsy study. *Mycoses*. 2013 Nov 4;56(6):638–45.
120. Pagano L, Ricci P, Tonso A, Nosari A, Cudillo L, Montillo M, et al. Mucormycosis in patients with haematological malignancies: a retrospective clinical study of 37 cases. *Br J Haematol*. 1997 Nov 29;99(2):331–6.
121. Valentine JC, Morrissey CO, Tacey MA, Liew D, Patil S, Peleg AY, et al. A population-based analysis of invasive fungal disease in haematology-oncology patients using data linkage of state-wide registries and administrative databases: 2005 - 2016. *BMC Infect Dis*. 2019 Dec 21;19(1):274.

122. Madney Y, Khedr R, Ahmed N, El-Mahallawy H, Youssef A, Taha H, et al. Overview and outcome of mucormycosis among children with cancer: Report from the Children's Cancer Hospital Egypt. *Mycoses*. 2019 Nov 26;62(11):984–9.
123. Lozada-Requena I, Núñez Ponce C. COVID-19: respuesta inmune y perspectivas terapéuticas. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2020 May 1;37(2):312–9.
124. Liang M, Xu J, Luo Y, Qu J. Epidemiology, pathogenesis, clinical characteristics, and treatment of mucormycosis: a review. *Ann Med*. 2024 Dec 31;56(1).
125. Nagalli S, Shankar Kikkeri N. Mucormycosis in COVID-19: A systematic review of literature. *Infezioni in Medicina*. 2021 Dec 10;29(4).
126. Sterne JAC, Diaz J, Villar J, Murthy S, Slutsky AS, Perner A, et al. Corticosteroid therapy for critically ill patients with COVID-19: A structured summary of a study protocol for a prospective meta-analysis of randomized trials. *Trials*. 2020 Dec 24;21(1):734.
127. Singh AK, Singh R, Joshi SR, Misra A. Mucormycosis in COVID-19: A systematic review of cases reported worldwide and in India. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. 2021 Jul;15(4):102146.
128. Selarka L, Sharma S, Saini D, Sharma S, Batra A, Waghmare VT, et al. Mucormycosis and COVID-19: An epidemic within a pandemic in India. *Mycoses*. 2021 Oct 24;64(10):1253–60.
129. Pal R, Singh B, Bhadada SK, Banerjee M, Bhogal RS, Hage N, et al. COVID-19-associated mucormycosis: An updated systematic review of literature. *Mycoses*. 2021 Dec 25;64(12):1452–9.
130. Pasrija R, Naime M. The deregulated immune reaction and cytokines release storm (CRS) in COVID-19 disease. *Int Immunopharmacol*. 2021 Jan;90:107225.
131. Pasrija R, Naime M. Resolving the equation between mucormycosis and COVID-19 disease. *Mol Biol Rep*. 2022 Apr 22;49(4):3349–56.
132. Sundaram N, Bhende T, Yashwant R, Jadhav S, Jain A. Mucormycosis in COVID-19 patients. *Indian J Ophthalmol*. 2021;69(12):3728.
133. Boelaert JR, de Locht M, Van Cutsem J, Kerrels V, Cantinieaux B, Verdonck A, et al. Mucormycosis during deferoxamine therapy is a siderophore-mediated infection. In vitro and in vivo animal studies. *Journal of Clinical Investigation*. 1993 May 1;91(5):1979–86.
134. Howard DH. Acquisition, Transport, and Storage of Iron by Pathogenic Fungi. *Clin Microbiol Rev*. 1999 Jul;12(3):394–404.
135. Boelaert JR, de Locht M, Van Cutsem J, Kerrels V, Cantinieaux B, Verdonck A, et al. Mucormycosis during deferoxamine therapy is a siderophore-mediated infection. In vitro and in vivo animal studies. *Journal of Clinical Investigation*. 1993 May 1;91(5):1979–86.
136. Patel A, Agarwal R, Rudramurthy SM, Shevkani M, Xess I, Sharma R, et al. Multicenter Epidemiologic Study of Coronavirus Disease–Associated Mucormycosis, India. *Emerg Infect Dis*. 2021 Sep;27(9):2349–59.

137. Muthu V, Agarwal R, Dhooria S, Sehgal IS, Prasad KT, Rudramurthy SM, et al. Mucormycosis in Human Immunodeficiency Virus-Infected Individuals: A Systematic Review of Case Reports. *Mycopathologia*. 2023 Oct 27;188(5):755–63.
138. Nagarakanti S. Mucormycosis in an HIV-infected renal transplant patient: A case report and review of the literature. *American Journal of Case Reports*. 2014;15:74–8.
139. Nagy-Agren S, Peiguo C, Walker S, Hetty W, Frederick A. Zygomycosis (Mucormycosis) and HIV Infection: Report of Three Cases and Review. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology*. 1995;10(4):441–9.
140. Moreira J, Ridolfi F, Almeida-Paes R, Varon A, Lamas CC. Cutaneous mucormycosis in advanced HIV disease. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2016 Nov;20(6):637–40.
141. Moreira J, Varon A, Galhardo MC, Santos F, Lyra M, Castro R, et al. The burden of mucormycosis in HIV-infected patients: A systematic review. *Journal of Infection*. 2016 Sep;73(3):181–8.
142. Chen X, Cao Y, Chen M, Wang H, Du P, Li H, et al. HIV-infected patients rarely develop invasive fungal diseases under good immune reconstitution after ART regardless high prevalence of pathogenic filamentous fungi carriage in nasopharynx/oropharynx. *Front Microbiol*. 2022 Nov 2;13.
143. Nichols L, Ocque RZ, Daly I. Zygomycosis Associated with HIV Infection and Liver Transplantation. *Patholog Res Int*. 2011 Jan 23;2011:1–4.
144. Sanchez MR, Ponge-Wilson I, Moy JA, Rosenthal S. Zygomycosis and HIV infection. *J Am Acad Dermatol*. 1994 May;30(5):904–8.
145. Van den Saffele JK, Boelaert JR. Zygomycosis in HIV-positive patients: a review of the literature. *Mycoses*. 1996 Mar 24;39(3–4):77–84.
146. Shi X, Sims MD, Hanna MM, Xie M, Gulick PG, Zheng YH, et al. Neutropenia during HIV Infection: Adverse Consequences and Remedies. *Int Rev Immunol*. 2014 Nov 2;33(6):511–36.
147. Zhang H, Wang K, Chen H, Sun L, Wang Z, Fei S, et al. The Double-Edged Sword of Immunosuppressive Therapy in Kidney Transplantation: A Rare Case Report of Pulmonary Mucormycosis Post-Transplant and Literature Review. *Front Med (Lausanne)*. 2020 Sep 23;7.
148. Cai S, Chandraker A. Cell Therapy in Solid Organ Transplantation. *Curr Gene Ther*. 2019 Aug 20;19(2):71–80.
149. Ibrahim AS, Spellberg B, Walsh TJ, Kontoyiannis DP. Pathogenesis of Mucormycosis. *Clinical Infectious Diseases*. 2012 Feb 1;54(suppl_1):S16–22.
150. Díaz L. Infección por mucormicosis en paciente postrasplantado. Reporte de un caso. *Revista Mexicana de Trasplantes*. 2016;5(3):126–9.

151. Ruping MJGT, Heinz WJ, Kindo AJ, Rickerts V, Lass-Flörl C, Beisel C, et al. Forty-one recent cases of invasive zygomycosis from a global clinical registry. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2010 Feb 1;65(2):296–302.
152. Rammaert B, Lanternier F, Zahar JR, Dannaoui E, Bougnoux ME, Lecuit M, et al. Healthcare-Associated Mucormycosis. *Clinical Infectious Diseases*. 2012 Feb 1;54(suppl_1):S44–54.
153. Shoham S, Hinestrosa F, Moore J, O'Donnell S, Ruiz M, Light J. Invasive filamentous fungal infections associated with renal transplant tourism. *Transplant Infectious Disease*. 2010 Aug;12(4):371–4.
154. Lanternier F, Sun HY, Ribaud P, Singh N, Kontoyiannis DP, Lortholary O. Mucormycosis in Organ and Stem Cell Transplant Recipients. *Clinical Infectious Diseases*. 2012 Jun 1;54(11):1–8.
155. Song Y, Qiao J, Giovanni G, Liu G, Yang H, Wu J, et al. Mucormycosis in renal transplant recipients: review of 174 reported cases. *BMC Infect Dis*. 2017 Dec 18;17(1):283.
156. Kinnunen S, Karhapää P, Juutilainen A, Finne P, Helanterä I. Secular Trends in Infection-Related Mortality after Kidney Transplantation. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2018 May;13(5):755–62.
157. Patel MH, Patel RD, Vanikar A V., Kanodia K V., Suthar KS, Nigam LK, et al. Invasive fungal infections in renal transplant patients: a single center study. *Ren Fail*. 2017 Jan 1;39(1):294–8.
158. Almyroudis NG, Sutton DA, Linden P, Rinaldi MG, Fung J, Kusne S. Zygomycosis in Solid Organ Transplant Recipients in a Tertiary Transplant Center and Review of the Literature. *American Journal of Transplantation*. 2006 Oct;6(10):2365–74.
159. Singh N, Aguado JM, Bonatti H, Forrest G, Gupta KL, Safdar N, et al. Zygomycosis in Solid Organ Transplant Recipients: A Prospective, Matched Case-Control Study to Assess Risks for Disease and Outcome. *J Infect Dis*. 2009 Sep 15;200(6):1002–11.
160. Baldin C, Ibrahim AS. Molecular mechanisms of mucormycosis—The bitter and the sweet. *PLoS Pathog*. 2017 Aug 3;13(8):e1006408.
161. Safi M, Ang MJ, Patel P, Silkiss RZ. Rhino-orbital-cerebral mucormycosis (ROCM) and associated cerebritis treated with adjuvant retrobulbar amphotericin B. *Am J Ophthalmol Case Rep*. 2020 Sep;19:100771.
162. Liu M, Spellberg B, Phan QT, Fu Y, Fu Y, Lee AS, et al. The endothelial cell receptor GRP78 is required for mucormycosis pathogenesis in diabetic mice. *Journal of Clinical Investigation*. 2010 Jun 1;120(6):1914–24.
163. AK A, Gupta V. *Rhino-Orbital Cerebral Mucormycosis*. StatPearls StatPearls Publishing, Treasure Island. 2023;
164. Maini A, Tomar G, Khanna D, Kini Y, Mehta H, Bhagyasree V. Sino-orbital mucormycosis in a COVID-19 patient: A case report. *Int J Surg Case Rep*. 2021 May;82:105957.

165. Brunke S, Mogavero S, Kasper L, Hube B. Virulence factors in fungal pathogens of man. *Curr Opin Microbiol*. 2016 Aug;32:89–95.
166. Siscar-Lewin S, Hube B, Brunke S. Emergence and evolution of virulence in human pathogenic fungi. *Trends Microbiol*. 2022 Jul;30(7):693–704.
167. Cross AS. What is a virulence factor? *Crit Care*. 2008;12(6):197.
168. Camacho E, Niño-Vega GA. *Paracoccidioides* Spp.: Virulence Factors and Immune-Evasion Strategies. *Mediators Inflamm*. 2017;2017:1–19.
169. Iyalla C. A review of the virulence factors of pathogenic fungi. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*. 2016 Dec 14;18(1):53.
170. KUROKAWA CS, SUGIZAKI MF, PERAÇOLI MTS. Virulence Factors IN Fungi OF Systemic Mycoses. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1998 May;40(3):125–36.
171. Navarro-Mendoza MI, Pérez-Arques C, Murcia L, Martínez-García P, Lax C, Sanchis M, et al. Components of a new gene family of ferroxidases involved in virulence are functionally specialized in fungal dimorphism. *Sci Rep*. 2018 May 16;8(1):7660.
172. Ibrahim AS, Gebremariam T, Lin L, Luo G, Husseiny MI, Skory CD, et al. The high affinity iron permease is a key virulence factor required for *Rhizopus oryzae* pathogenesis. *Mol Microbiol*. 2010 Aug 18;77(3):587–604.
173. Haas H. Molecular genetics of fungal siderophore biosynthesis and uptake: the role of siderophores in iron uptake and storage. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2003 Sep 1;62(4):316–30.
174. Thielen A, Winkelmann G. Rhizoferrin: A complexone type siderophore of the mucorales and entomophthorales (Zygomycetes). *FEMS Microbiol Lett*. 1992 Jul;94(1–2):37–41.
175. Liu M, Lin L, Gebremariam T, Luo G, Skory CD, French SW, et al. Fob1 and Fob2 Proteins Are Virulence Determinants of *Rhizopus oryzae* via Facilitating Iron Uptake from Ferrioxamine. *PLoS Pathog*. 2015 May 14;11(5):e1004842.
176. Alqarihi A, Gebremariam T, Gu Y, Swidergall M, Alkhazraji S, Soliman SSM, et al. GRP78 and Integrins Play Different Roles in Host Cell Invasion during Mucormycosis. *mBio*. 2020 Jun 30;11(3).
177. Watkins TN, Gebremariam T, Swidergall M, Shetty AC, Graf KT, Alqarihi A, et al. Inhibition of EGFR Signaling Protects from Mucormycosis. Wheeler RT, Lorenz M, editors. *mBio* [Internet]. 2018 Sep 5;9(4). Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/mBio.01384-18>
178. Alqarihi A, Kontoyiannis DP, Ibrahim AS. Mucormycosis in 2023: an update on pathogenesis and management. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023 Sep 21;13.
179. Alspaugh JA. Hostile takeover: fungal protein promotes host cell invasion. *Journal of Clinical Investigation*. 2014 Jan 2;124(1):74–6.

180. Gebremariam T, Liu M, Luo G, Bruno V, Phan QT, Waring AJ, et al. CotH3 mediates fungal invasion of host cells during mucormycosis. *Journal of Clinical Investigation*. 2014 Jan 2;124(1):237–50.
181. Chibucos MC, Soliman S, Gebremariam T, Lee H, Daugherty S, Orvis J, et al. An integrated genomic and transcriptomic survey of mucormycosis-causing fungi. *Nat Commun*. 2016 Jul 22;7(1):12218.
182. Lax C, Pérez-Arques C, Navarro-Mendoza M, Cánovas-Márquez J, Tahiri G, Pérez-Ruiz J, et al. Genes, Pathways, and Mechanisms Involved in the Virulence of Mucorales. *Genes (Basel)*. 2020 Mar 16;11(3):317.
183. Lee SC, Li A, Calo S, Heitman J. Calcineurin Plays Key Roles in the Dimorphic Transition and Virulence of the Human Pathogenic Zygomycete *Mucor circinelloides*. *Andrianopoulos A*, editor. *PLoS Pathog* [Internet]. 2013 Sep 5;9(9):e1003625. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.ppat.1003625>
184. Orłowski M. *Mucor* dimorphism. *Microbiol Rev*. 1991 Jun;55(2):234–58.
185. Vellanki S, Billmyre RB, Lorenzen A, Campbell M, Turner B, Huh EY, et al. A Novel Resistance Pathway for Calcineurin Inhibitors in the Human-Pathogenic Mucorales *Mucor circinelloides*. *Lorenz M*, editor. *mBio* [Internet]. 2020 Feb 25;11(1). Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/mBio.02949-19>
186. Lee SC, Li A, Calo S, Inoue M, Tonthat NK, Bain JM, et al. Calcineurin orchestrates dimorphic transitions, antifungal drug responses and host–pathogen interactions of the pathogenic mucoralean fungus <scp> *Mucor circinelloides*. *Mol Microbiol*. 2015 Sep 17;97(5):844–65.
187. Ocampo J, Fernandez Nuñez L, Silva F, Pereyra E, Moreno S, Garre V, et al. A Subunit of Protein Kinase A Regulates Growth and Differentiation in the Fungus *Mucor circinelloides*. *Eukaryot Cell*. 2009 Jul;8(7):933–44.
188. Cánovas-Márquez JT, Lax C, Tahiri G, Navarro E, Nicolás FE, Garre V. Advances in understanding infections caused by the basal fungus *Mucor*. *PLoS Pathog*. 2023 Jun 1;19(6):e1011394.
189. Li CH, Cervantes M, Springer DJ, Boekhout T, Ruiz-Vazquez RM, Torres-Martinez SR, et al. Sporangiospore Size Dimorphism Is Linked to Virulence of *Mucor circinelloides*. *PLoS Pathog*. 2011 Jun 16;7(6):e1002086.
190. Vellanki S. Fungal Morphology in resistance to calcineurin inhibitors and host – pathogen interactions [doctor of philosophy in cell and molecular biology]. [Texas]: THE UNIVERSITY OF TEXAS AT SAN ANTONIO; 2020.
191. Inglesfield S, Jasiulewicz A, Hopwood M, Tyrrell J, Youlden G, Mazon-Moya M, et al. Robust Phagocyte Recruitment Controls the Opportunistic Fungal Pathogen *Mucor circinelloides* in Innate Granulomas *In Vivo*. *mBio*. 2018 May 2;9(2).

192. Pérez-Arques C, Navarro-Mendoza MI, Murcia L, Lax C, Martínez-García P, Heitman J, et al. *Mucor circinelloides* Thrives inside the Phagosome through an Atf-Mediated Germination Pathway. *mBio*. 2019 Feb 26;10(1).
193. López-Muñoz A, Nicolás FE, García-Moreno D, Pérez-Oliva AB, Navarro-Mendoza MI, Hernández-Oñate MA, et al. An Adult Zebrafish Model Reveals that Mucormycosis Induces Apoptosis of Infected Macrophages. *Sci Rep*. 2018 Aug 24;8(1):12802.
194. Andrianaki AM, Kyrmizi I, Thanopoulou K, Baldin C, Drakos E, Soliman SSM, et al. Iron restriction inside macrophages regulates pulmonary host defense against *Rhizopus* species. *Nat Commun*. 2018 Aug 20;9(1):3333.
195. Casadevall A. Evolution of Intracellular Pathogens. *Annu Rev Microbiol*. 2008 Oct 1;62(1):19–33.
196. Groll AH, Gea-Banacloche JC, Glasmacher A, Just-Nuebling G, Maschmeyer G, Walsh TJ. Clinical pharmacology of antifungal compounds. *Infect Dis Clin North Am*. 2003 Mar;17(1):159–91.
197. Lass-Flörl C. Triazole Antifungal Agents in Invasive Fungal Infections. *Drugs*. 2011 Dec;71(18):2405–19.
198. Dannaoui E. Antifungal resistance in mucorales. *Int J Antimicrob Agents*. 2017 Nov;50(5):617–21.
199. Caramalho R, Tyndall JDA, Monk BC, Larentis T, Lass-Flörl C, Lackner M. Intrinsic short-tailed azole resistance in mucormycetes is due to an evolutionary conserved amino acid substitution of the lanosterol 14 α -demethylase. *Sci Rep*. 2017 Nov 21;7(1):15898.
200. Vitale RG, de Hoog GS, Schwarz P, Dannaoui E, Deng S, Machouart M, et al. Antifungal Susceptibility and Phylogeny of Opportunistic Members of the Order Mucorales. *J Clin Microbiol*. 2012 Jan;50(1):66–75.
201. Sun R, Li C, Zhang J, Li F, Ma L, Tan Y, et al. Differential expression of microRNAs during fiber development between fuzzless-lintless mutant and its wild-type allotetraploid cotton. *Sci Rep*. 2017 Jan 31;7(1):3.
202. Calo S, Shertz-Wall C, Lee SC, Bastidas RJ, Nicolás FE, Granek JA, et al. Antifungal drug resistance evoked via RNAi-dependent epimutations. *Nature*. 2014 Sep 27;513(7519):555–8.
203. Nithyanandam S, Jacob M, Battu R, Thomas R, Correa M, D'Souza O. Rhino-orbito-cerebral mucormycosis A retrospective analysis of clinical features and treatment outcomes. *Indian Journal of Ophthalmol*. 2003 Sep;51(3):231–6.
204. Reed C, Bryant R, Ibrahim AS, Edwards Jr, J, Filler SG, Goldberg R, et al. Combination Polyene-Caspofungin Treatment of Rhino-Orbital-Cerebral Mucormycosis. *Clinical Infectious Diseases*. 2008 Aug;47(3):364–71.

205. Binder U, Maurer E, Lass-Flörl C. Mucormycosis – from the pathogens to the disease. *Clinical Microbiology and Infection*. 2014 Jun;20:60–6.
206. Darwish RM, AlMasri M, Al-Masri MM. Mucormycosis: The hidden and forgotten disease. *J Appl Microbiol*. 2022 Jun 1;132(6):4042–57.
207. Acosta-España JD, Voigt K. Mini Review: Risk Assessment, Clinical Manifestation, Prediction, and Prognosis of Mucormycosis: Implications for Pathogen- and Human-Derived Biomarkers. *Front Microbiol*. 2022 Jun 20;13.
208. Skiada A, Lanternier F, Groll AH, Pagano L, Zimmerli S, Herbrecht R, et al. Diagnosis and treatment of mucormycosis in patients with hematological malignancies: guidelines from the 3rd European Conference on Infections in Leukemia (ECIL 3). *Haematologica*. 2013 Apr 1;98(4):492–504.
209. Petrikos G, Skiada A, Sambatakou H, Toskas A, Vaiopoulos G, Giannopoulou M, et al. Mucormycosis: Ten-Year Experience at a Tertiary-Care Center in Greece. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2003 Dec 1;22(12):753–6.
210. Son JH, Lim H Bin, Lee SH, Yang JW, Lee SB. Early Differential Diagnosis of Rhino-Orbito-Cerebral Mucormycosis and Bacterial Orbital Cellulitis: Based on Computed Tomography Findings. *PLoS One*. 2016 Aug 8;11(8):e0160897.
211. Talmi YP, Goldschmied-Reouven A, Bakon M, Barshack I, Wolf M, Horowitz Z, et al. Rhino-Orbital and Rhino-Orbito-Cerebral Mucormycosis. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*. 2002 Jul;127(1):22–31.
212. Peng M, Meng H, Sun Y, Xiao Y, Zhang H, Lv K, et al. Clinical features of pulmonary mucormycosis in patients with different immune status. *J Thorac Dis*. 2019 Dec;11(12):5042–52.
213. Qu J, Liu X, Lv X. Pulmonary Mucormycosis as the Leading Clinical Type of Mucormycosis in Western China. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021 Nov 22;11.
214. Agrawal R, Yeldandi A, Savas H, Parekh ND, Lombardi PJ, Hart EM. Pulmonary Mucormycosis: Risk Factors, Radiologic Findings, and Pathologic Correlation. *RadioGraphics*. 2020 May;40(3):656–66.
215. Jung J, Kim MY, Lee HJ, Park YS, Lee SO, Choi SH, et al. Comparison of computed tomographic findings in pulmonary mucormycosis and invasive pulmonary aspergillosis. *Clinical Microbiology and Infection*. 2015 Jul;21(7):684.e11-684.e18.
216. Skiada A, Drogari-Apiranthitou M, Pavleas I, Daikou E, Petrikos G. Global Cutaneous Mucormycosis: A Systematic Review. *Journal of Fungi*. 2022 Feb 16;8(2):194.
217. Skiada A, Rigopoulos D, Larios G, Petrikos G, Katsambas A. Global epidemiology of cutaneous zygomycosis. *Clin Dermatol*. 2012 Nov;30(6):628–32.

218. Rodríguez JY, Morales-López SE, Rodríguez GJ, Álvarez-Moreno CA, Ocampo W, Cepeda ML, et al. Necrotizing fasciitis caused by *Apophysomyces variabilis* in an immunocompetent patient. *Med Mycol Case Rep*. 2018 Jun;20:4–6.
219. Chander J, Stchigel AM, Alastruey-Izquierdo A, Jayant M, Bala K, Rani H, et al. Fungal necrotizing fasciitis, an emerging infectious disease caused by *Apophysomyces* (Mucorales). *Rev Iberoam Micol*. 2015 Apr;32(2):93–8.
220. Davoudi S, Graviss LS, Kontoyiannis DP. Healthcare-associated outbreaks due to Mucorales and other uncommon fungi. *Eur J Clin Invest*. 2015 Jul 29;45(7):767–73.
221. Neblett Fanfair R, Benedict K, Bos J, Bennett SD, Lo YC, Adebajo T, et al. Necrotizing Cutaneous Mucormycosis after a Tornado in Joplin, Missouri, in 2011. *New England Journal of Medicine*. 2012 Dec 6;367(23):2214–25.
222. Warkentien T, Rodriguez C, Lloyd B, Wells J, Weintrob A, Dunne JR, et al. Invasive Mold Infections Following Combat-related Injuries. *Clinical Infectious Diseases*. 2012 Dec 1;55(11):1441–9.
223. Skiada A, Pagano L, Groll A, Zimmerli S, Dupont B, Lagrou K, et al. Zygomycosis in Europe: analysis of 230 cases accrued by the registry of the European Confederation of Medical Mycology (ECMM) Working Group on Zygomycosis between 2005 and 2007. *Clinical Microbiology and Infection*. 2011 Dec;17(12):1859–67.
224. Spellberg B. Gastrointestinal mucormycosis: an evolving disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2012 Feb;8(2):140–2.
225. Shankaralingappa S. Unsuspected invasive gastrointestinal mucormycosis masquerading as inflammatory bowel disease: A pathologist's perspective. *Indian J Pathol Microbiol*. 2019;62(2):332–4.
226. Addasi Y, Nguyen AH, Sabri A, Ahmad F, Rangray R, Velagapudi M. Gastrointestinal Mucormycosis: A Clinical Review. *Gastroenterology Res*. 2023 Oct;16(5):249–53.
227. Didehdar M, chegini Z, Moradabadi A, Anoushirvani AA, Tabaeian SP, Yousefimashouf M, et al. Gastrointestinal mucormycosis: A periodic systematic review of case reports from 2015 to 2021. *Microb Pathog*. 2022 Feb;163:105388.
228. Vallabhaneni S, Mody RK. Gastrointestinal Mucormycosis in Neonates: a Review. *Curr Fungal Infect Rep*. 2015 Dec 21;9(4):269–74.
229. Marr KA, Carter RA, Crippa F, Wald A, Corey L. Epidemiology and Outcome of Mould Infections in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients. *Clinical Infectious Diseases*. 2002 Apr;34(7):909–17.
230. Marty FM, Cosimi LA, Baden LR. Breakthrough Zygomycosis after Voriconazole Treatment in Recipients of Hematopoietic Stem-Cell Transplants. *New England Journal of Medicine*. 2004 Feb 26;350(9):950–2.

231. Imhof A, Balajee SA, Fredricks DN, Englund JA, Marr KA. Breakthrough Fungal Infections in Stem Cell Transplant Recipients Receiving Voriconazole. *Clinical Infectious Diseases*. 2004 Sep 1;39(5):743–6.
232. Siwek GT, Dodgson KJ, de Margarida MS, Bartelt LA, Kilborn SB, Hoth PL, et al. Invasive Zygomycosis in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients Receiving Voriconazole Prophylaxis. *Clinical Infectious Diseases*. 2004 Aug 15;39(4):584–7.
233. Cinteza E, Nicolescu A, Ciomartan T, Gavriliu LC, Voicu C, Carabas A, et al. Disseminated *Cunninghamella* spp. Endocarditis in a Beta-Thalassemia Patient after Asymptomatic COVID-19 Infection. *Diagnostics*. 2022 Mar 8;12(3):657.
234. Mitchell M, McManus M, Dietz J, Camitta B, Szabo S, Havens P. *Absidia corymbifera* endocarditis: Survival after treatment of disseminated mucormycosis with radical resection of tricuspid valve and right ventricular free wall. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2010 Apr;139(4).
235. González L, Martínez E, Rascón A. Endocarditis por Mucormicosis. *Bol Clin Hosp Infant Edo Son* . 2012;29(2):77–80.
236. Hoellinger B, Magnus L, Ruch Y, Ohana M, Hansmann Y, Letscher-Bru V, et al. Case Report and Literature Review of Prosthetic Cardiovascular Mucormycosis. *Emerg Infect Dis*. 2023 Nov;29(11).
237. Jackman JD, Simonsen RL. The Clinical Manifestations of Cardiac Mucormycosis. *Chest*. 1992 Jun;101(6):1733–6.
238. Asperges E, Albi G, Truffelli F, Salvaderi A, Puci F, Sangani A, et al. Fungal Osteomyelitis: A Systematic Review of Reported Cases. *Microorganisms*. 2023 Jul 17;11(7):1828.
239. Taj-Aldeen S, Walsh T. BONE AND JOINT INFECTIONS BY MUCORMYCETES . In: Berhardt L, editor. *Advances in Medicine and Biology*. Nova Science Publishers, Inc. ; 2016. p. 12–21.
240. Highton D, Trugman F, Guarracino J, Murrini A, Navarro M, Carnovale S, et al. OSTEOMIELITIS POR *MUCOR CIRCINELLOIDES* EN UN GRAN QUEMADO PEDIATRICO: a propósito de un caso. *Comunicaciones Breves* . 2022 Sep;29(3):247–9.
241. Taj-Aldeen SJ, Gamaletsou MN, Rammaert B, Sipsas N V., Zeller V, Roilides E, et al. Bone and joint infections caused by mucormycetes: A challenging osteoarticular mycosis of the twenty-first century. *Med Mycol*. 2017 Jan 3;myw136.
242. Koehler P, Tacke D, Cornely OA. Bone and joint infections by *Mucorales*, *Scedosporium*, *Fusarium* and even rarer fungi. *Crit Rev Microbiol*. 2016 Jan 2;42(1):158–71.
243. Anand S, Kainth D, Dhua AK, Sehgal M, Bajpai M, Das P, et al. Isolated Renal Mucormycosis in Children: A Case Report and Review of the Literature. *J Indian Assoc Pediatr Surg*. 2021;26(5):338–41.

244. Didehdar M, Chegini Z, Khoshbayan A, Moradabadi A, Shariati A. Clinical presentations, diagnosis, management, and outcomes of renal mucormycosis: An overview of case reports. *Front Med (Lausanne)*. 2022 Aug 24;9.
245. Shimoyama K, Niwa T, Furukawa S, Morishita N, Nagakura Y, Yonezawa H, et al. Behçet's Disease with Bilateral Renal Infarction Due to Mucormycosis. *Internal Medicine*. 2022 Apr 1;61(7):7462–21.
246. Sharma R, Shivanand G, Kumar R, Prem S, Kandpal H, Das CJ, et al. Isolated renal mucormycosis: an unusual cause of acute renal infarction in a boy with aplastic anaemia. *Br J Radiol*. 2006 Jul;79(943):e19–21.
247. Prakash H, Ghosh AK, Rudramurthy SM, Singh P, Xess I, Savio J, et al. A prospective multicenter study on mucormycosis in India: Epidemiology, diagnosis, and treatment. *Med Mycol*. 2019 Jun 1;57(4):395–402.
248. Bhadauria D, Eтта P, Chelappan A, Gurjar M, Kaul A, Sharma RK, et al. Isolated bilateral renal mucormycosis in apparently immunocompetent patients—a case series from India and review of the literature. *Clin Kidney J*. 2018 Jun 2;
249. Saran S, Naranje K, Gurjar M, Bhadauria D, Kaul A, Poddar B. Isolated Renal Mucormycosis in Immunocompetent Children: A Report of Two Cases. *Indian J Crit Care Med*. 2017 Jul;21(7):457–9.
250. Male D, Peebles S, Male V. Introducción al sistema inmunitario. In: GEA CONSULTORÍA EDITORIAL, editor. *Inmunología*. 9th ed. Barcelona: ELSERVIER; 2021. p. 1–39.
251. Monserrat Sanz J, Gómez Lahoz AM, Sosa Reina MD, Prieto Martín A. Introducción al sistema inmune. Componentes celulares del sistema inmune innato. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*. 2017 Jan;12(24):1369–78.
252. Lewis RE, Kontoyiannis DP. Epidemiology and Treatment of Mucormycosis. *Future Microbiol*. 2013 Sep 10;8(9):1163–75.
253. Petrikos G, Tsioutis C. Recent Advances in the Pathogenesis of Mucormycoses. *Clin Ther*. 2018 Jun;40(6):894–902.
254. Collado V, Porrás R, Cutuli T, Gómez E. EL SISTEMA INMUNE INNATO I: SUS MECANISMOS. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*. 2008;2(1):1–16.
255. Paola TP. Visión panorámica del sistema inmune. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 2012 Jul;23(4):446–57.
256. O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep*. 2006 Jul;7(7):688–93.
257. Ghuman H, Voelz K. Innate and Adaptive Immunity to Mucorales. *Journal of Fungi*. 2017 Sep 5;3(3):48.
258. Samaddar A, Sharma A, Maurya VK, Tak V. Necrotizing fasciitis caused by *Apophysomyces variabilis* in a burn patient. *IDCases*. 2019;18:e00660.

259. Rammaert B, Lanternier F, Zahar JR, Dannaoui E, Bougnoux ME, Lecuit M, et al. Healthcare-Associated Mucormycosis. *Clinical Infectious Diseases*. 2012 Feb 1;54(suppl_1):S44–54.
260. Bouchara JP, Oumeziane NA, Lissitzky JC, Larcher G, Tronchin G, Chabasse D. Attachment of spores of the human pathogenic fungus *Rhizopus oryzae* to extracellular matrix components. *Eur J Cell Biol*. 1996 May;70(1):76–83.
261. Roilides E, Kontoyiannis DP, Walsh TJ. Host Defenses Against Zygomycetes. *Clinical Infectious Diseases*. 2012 Feb 1;54(suppl_1):S61–6.
262. Heung LJ, Wiesner DL, Wang K, Rivera A, Hohl TM. Immunity to fungi in the lung. *Semin Immunol*. 2023 Mar;66:101728.
263. Park SJ, Mehrad B. Innate Immunity to *Aspergillus* Species. *Clin Microbiol Rev*. 2009 Oct;22(4):535–51.
264. Spreer A, Rüchel R, Reichard U. Characterization of an extracellular subtilisin protease of *Rhizopus microsporus* and evidence for its expression during invasive rhinoorbital mycosis. *Med Mycol*. 2006 Jan;44(8):723–31.
265. Muthu V, Dhaliwal M, Sharma A, Nair D, Kumar HM, Rudramurthy SM, et al. Serum glucose-regulated protein 78 (GRP78) levels in COVID-19-associated mucormycosis: results of a case–control study. *Mycopathologia*. 2022 Aug 21;187(4):355–62.
266. Gebremariam T, Lin L, Liu M, Kontoyiannis DP, French S, Edwards JE, et al. Bicarbonate correction of ketoacidosis alters host-pathogen interactions and alleviates mucormycosis. *Journal of Clinical Investigation*. 2016 May 9;126(6):2280–94.
267. Ibrahim IM, Elfiky AA, Elgohary AM. Recognition through GRP78 is enhanced in the UK, South African, and Brazilian variants of SARS-CoV-2; An in silico perspective. *Biochem Biophys Res Commun*. 2021 Jul;562:89–93.
268. Ibrahim IM, Abdelmalek DH, Elshahat ME, Elfiky AA. COVID-19 spike-host cell receptor GRP78 binding site prediction. *Journal of Infection*. 2020 May;80(5):554–62.
269. Soliman SSM, Baldin C, Gu Y, Singh S, Gebremariam T, Swidergall M, et al. Mucoricin is a ricin-like toxin that is critical for the pathogenesis of mucormycosis. *Nat Microbiol*. 2021 Jan 18;6(3):313–26.
270. Papon N, Naglik JR, Hube B, Goldman GH. Fungal pathogenesis: A new venom. *Current Biology*. 2021 Apr;31(8):R391–4.
271. Plato A, Hardison SE, Brown GD. Pattern recognition receptors in antifungal immunity. *Semin Immunopathol*. 2015 Mar 25;37(2):97–106.
272. Akdis M, Aab A, Altunbulakli C, Azkur K, Costa RA, Cramer R, et al. Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor β , and TNF- α : Receptors, functions, and roles in diseases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2016 Oct;138(4):984–1010.
273. Montañaño DE, Hartung S, Wich M, Ali R, Jungnickel B, von Lilienfeld-Toal M, et al. The TLR-NF- κ B axis contributes to the monocytic inflammatory response against a virulent strain of

- Lichtheimia corymbifera, a causative agent of invasive mucormycosis. *Front Immunol.* 2022 Oct 13;13.
274. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen Recognition and Innate Immunity. *Cell.* 2006 Feb;124(4):783–801.
 275. Gordon S. Pattern Recognition Receptors. *Cell.* 2002 Dec;111(7):927–30.
 276. Chamilos G, Lewis RE, Lamaris G, Walsh TJ, Kontoyiannis DP. *Zygomycetes* Hyphae Trigger an Early, Robust Proinflammatory Response in Human Polymorphonuclear Neutrophils through Toll-Like Receptor 2 Induction but Display Relative Resistance to Oxidative Damage. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008 Feb;52(2):722–4.
 277. Chamilos G, Lewis RE, Hu J, Xiao L, Zal T, Gilliet M, et al. *Drosophila melanogaster* as a model host to dissect the immunopathogenesis of zygomycosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2008 Jul 8;105(27):9367–72.
 278. Pathakumari B, Liang G, Liu W. Immune defence to invasive fungal infections: A comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy* [Internet]. 2020 Oct;130:110550. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332220307435>
 279. Chamilos G, Ganguly D, Lande R, Gregorio J, Meller S, Goldman WE, et al. Generation of IL-23 Producing Dendritic Cells (DCs) by Airborne Fungi Regulates Fungal Pathogenicity via the Induction of TH-17 Responses. *PLoS One.* 2010 Sep 23;5(9):e12955.
 280. Taylor PR, Tsoni SV, Willment JA, Dennehy KM, Rosas M, Findon H, et al. Dectin-1 is required for β -glucan recognition and control of fungal infection. *Nat Immunol.* 2007 Jan 10;8(1):31–8.
 281. Medwid RD, Grant DW. Germination of *Rhizopus oligosporus* Sporangiospores. *Appl Environ Microbiol.* 1984 Dec;48(6):1067–71.
 282. Ibrahim AS, Voelz K. The mucormycete–host interface. *Curr Opin Microbiol.* 2017 Dec;40:40–5.
 283. Sheldon WH, Bauer H. ACTIVATION OF QUIESCENT MUCORMYCOTIC GRANULOMATA IN RABBITS BY INDUCTION OF ACUTE ALLOXAN DIABETES. *J Exp Med.* 1958 Jul 1;108(1):171–8.
 284. Espinosa V, Jhingran A, Dutta O, Kasahara S, Donnelly R, Du P, et al. Inflammatory Monocytes Orchestrate Innate Antifungal Immunity in the Lung. *PLoS Pathog.* 2014 Feb 20;10(2):e1003940.
 285. Akdis M, Aab A, Altunbulakli C, Azkur K, Costa RA, Cramer R, et al. Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor β , and TNF- α : Receptors, functions, and roles in diseases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2016 Oct;138(4):984–1010.
 286. Voelz K, Gratacap RL, Wheeler RT. A zebrafish larval model reveals early tissue-specific innate immune responses to *Mucor circinelloides*. *Dis Model Mech.* 2015 Jan 1;

287. Waldorf AR, Levitz SM, Diamond RD. In Vivo Bronchoalveolar Macrophage Defense Against *Rhizopus oryzae* and *Aspergillus fumigatus*. *Journal of Infectious Diseases*. 1984 Nov 1;150(5):752–60.
288. Gil-Lamaignere C, Simitsopoulou M, Roilides E, Maloukou A, Winn RM, Walsh TJ. Interferon- γ and Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor Augment the Activity of Polymorphonuclear Leukocytes against Medically Important Zygomycetes. *J Infect Dis*. 2005 Apr;191(7):1180–7.
289. Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med*. 2000 Jul;109(1):33–44.
290. Ramanathan B, Davis EG, Ross CR, Blecha F. Cathelicidins: microbicidal activity, mechanisms of action, and roles in innate immunity. *Microbes Infect*. 2002 Mar;4(3):361–72.
291. Waldorf AR. Pulmonary defense mechanisms against opportunistic fungal pathogens. *Immunol Ser*. 1989;47:243–71.
292. Levitz SM, Selsted ME, Ganz T, Lehrer RI, Diamond RD. In Vitro Killing of Spores and Hyphae of *Aspergillus fumigatus* and *Rhizopus oryzae* by Rabbit Neutrophil Cationic Peptides and Bronchoalveolar Macrophages. *Journal of Infectious Diseases*. 1986 Sep 1;154(3):483–9.
293. Waldorf Alayn, Diamond R. Neutrophil Chemotactic Responses Induced by Fresh anSwollen *Rhizopus oryzae* Spores and *Aspergillus fumigatus* Conidia. *Infect Immun*. 1985;8(2):458–63.
294. Liles WC, Huang JE, van Burik JH, Bowden RA, Dale DC. Granulocyte Colony-Stimulating Factor Administered In Vivo Augments Neutrophil-Mediated Activity against Opportunistic Fungal Pathogens. *J Infect Dis*. 1997 Apr;175(4):1012–5.
295. Fernández N, Hernández P, Forrellat M. Espectro funcional de las plaquetas: de la hemostasia a la medicina regenerativa. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. 2012;28(3):200–16.
296. Watson CN, Kerrigan SW, Cox D, Henderson IR, Watson SP, Arman M. Human platelet activation by *Escherichia coli* : roles for Fc γ RIIA and integrin α IIb β 3. *Platelets*. 2016 Aug 17;27(6):535–40.
297. Semple JW, Italiano JE, Freedman J. Platelets and the immune continuum. *Nat Rev Immunol*. 2011 Apr 25;11(4):264–74.
298. Speth C, Rambach G, Lass-Flörl C. Platelet immunology in fungal infections. *Thromb Haemost*. 2014 Nov 20;112(10):632–9.
299. Appay V, Rowland-Jones SL. RANTES: a versatile and controversial chemokine. *Trends Immunol*. 2001 Feb;22(2):83–7.
300. Bruserud Ø. Bidirectional crosstalk between platelets and monocytes initiated by Toll-like receptor: An important step in the early defense against fungal infections? *Platelets*. 2013 Mar 30;24(2):85–97.

301. Perkhofer S, Kainzner B, Kehrel BE, Dierich MP, Nussbaumer W, Lass-Flörl C. Potential Antifungal Effects of Human Platelets against Zygomycetes In Vitro. *J Infect Dis.* 2009 Oct;200(7):1176–9.
302. Ghuman H, Shepherd-Roberts A, Watson S, Zuidschewoude M, Watson SP, Voelz K. *Mucor circinelloides* induces platelet aggregation through integrin α IIb β 3 and Fc γ RIIA. *Platelets.* 2019 Feb 17;30(2):256–63.
303. LeBlanc DM, Barousse MM, Fidel PL. Role for Dendritic Cells in Immunoregulation during Experimental Vaginal Candidiasis. *Infect Immun.* 2006 Jun;74(6):3213–21.
304. Wurster S, Thielen V, Weis P, Walther P, Elias J, Waaga-Gasser AM, et al. Mucorales spores induce a proinflammatory cytokine response in human mononuclear phagocytes and harbor no rodlet hydrophobins. *Virulence.* 2017 Nov 17;8(8):1708–18.
305. Belic S, Page L, Lazariotou M, Waaga-Gasser AM, Dragan M, Springer J, et al. Comparative Analysis of Inflammatory Cytokine Release and Alveolar Epithelial Barrier Invasion in a Transwell® Bilayer Model of Mucormycosis. *Front Microbiol.* 2019 Jan 8;9.
306. Cózar B, Greppi M, Carpentier S, Narni-Mancinelli E, Chiossone L, Vivier E. Tumor-Infiltrating Natural Killer Cells. *Cancer Discov.* 2021 Jan 1;11(1):34–44.
307. Murphy K, Weaver C. *Janeway's Immunobiology.* 9th ed. Monica TBAACZEDD, editor. Nueva York: Garland Publishing; 2017. 77–137 p.
308. Schmidt S, Tramsen L, Lehrnbecher T. Natural Killer Cells in Antifungal Immunity. *Front Immunol.* 2017 Nov 22;8.
309. Schmidt S, Tramsen L, Perkhofer S, Lass-Flörl C, Hanisch M, Röger F, et al. *Rhizopus oryzae* hyphae are damaged by human natural killer (NK) cells, but suppress NK cell mediated immunity. *Immunobiology.* 2013 Jul;218(7):939–44.
310. Kawakami K, Koguchi Y, Qureshi MH, Yara S, Kinjo Y, Uezu K, et al. NK Cells Eliminate *Cryptococcus neoformans* by Potentiating the Fungicidal Activity of Macrophages Rather than by Directly Killing Them upon Stimulation with IL-12 and IL-18. *Microbiol Immunol.* 2000 Dec 14;44(12):1043–50.
311. Schmidt S, Schneider A, Demir A, Lass-Flörl C, Lehrnbecher T. Natural killer cell-mediated damage of clinical isolates of mucormycetes. *Mycoses.* 2016 Jan 18;59(1):34–8.
312. Berrón R, Penagos M, Zaragoza J, Rodríguez J, Blancas L. El sistema del complemento. Vías clásica y de la lectina que se une a la manosa. *Alergia, Asmas e Inmunología Pediátricas.* 2003 May;12(2):46–52.
313. Tsoni SV, Kerrigan AM, Marakalala MJ, Srinivasan N, Duffield M, Taylor PR, et al. Complement C3 Plays an Essential Role in the Control of Opportunistic Fungal Infections. *Infect Immun.* 2009 Sep;77(9):3679–85.
314. Rambach G, Würznner R, Speth C. Complement: An Efficient Sword of Innate Immunity. In: *Trends in Innate Immunity.* Basel: KARGER; 2008. p. 78–100.

315. Zmetek L, Pinto L, Souza J, Amancio C, Sales D, Campos G, et al. Spores and Yeasts of *Mucor polymorphosporus* and their ability to Activate Human Complement System *in vitro*. Arch Clin Microbiol. 2016 Jan;7(1).
316. Granja LFZ, Pinto L, Almeida CA, Alviano DS, Da Silva MH, Ejzenberg R, et al. Spores of *Mucor ramosissimus*, *Mucor plumbeus* and *Mucor circinelloides* and their ability to activate human complement system *in vitro*. Med Mycol. 2010 Mar;48(2):278–84.
317. Sauter R, Sauter M, Obrich M, Emschermann F, Nording H, Patzelt J, et al. Anaphylatoxin Receptor C3aR Contributes to Platelet Function, Thrombus Formation and *In Vivo* Haemostasis. Thromb Haemost. 2019 Jan 31;119(01):179–82.
318. Wiedmer T, Sims P. Participation of protein kinases in complement C5b-9-induced shedding of platelet plasma membrane vesicles. Blood. 1991 Dec 1;78(11):2880–6.
319. Koupenova M, Livada AC, Morrell CN. Platelet and Megakaryocyte Roles in Innate and Adaptive Immunity. Circ Res. 2022 Jan 21;130(2):288–308.
320. Harpf V, Rambach G, Parth N, Neurauter M, Fleischer V, Lackner M, et al. Complement, but Not Platelets, Plays a Pivotal Role in the Outcome of Mucormycosis *In Vivo*. Journal of Fungi. 2023 Jan 25;9(2):162.
321. Kozel TR. Activation of the complement system by pathogenic fungi. Clin Microbiol Rev. 1996 Jan;9(1):34–46.
322. Montañó DE, Voigt K. Host Immune Defense upon Fungal Infections with Mucorales: Pathogen-Immune Cell Interactions as Drivers of Inflammatory Responses. Journal of Fungi. 2020 Sep 17;6(3):173.
323. Raphael I, Nalawade S, Eagar TN, Forsthuber TG. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases. Cytokine. 2015 Jul;74(1):5–17.
324. Richardson JP, Moyes DL. Adaptive immune responses to *Candida albicans* infection. Virulence. 2015 May 19;6(4):327–37.
325. Kasten KR, Prakash PS, Unsinger J, Goetzman HS, England LG, Cave CM, et al. Interleukin-7 (IL-7) Treatment Accelerates Neutrophil Recruitment through $\gamma\delta$ T-Cell IL-17 Production in a Murine Model of Sepsis. Infect Immun. 2010 Nov;78(11):4714–22.
326. Potenza L, Vallerini D, Barozzi P, Riva G, Forghieri F, Zanetti E, et al. Mucorales-specific T cells emerge in the course of invasive mucormycosis and may be used as a surrogate diagnostic marker in high-risk patients. Blood. 2011 Nov 17;118(20):5416–9.
327. Sun L, Wan Z, Li R, Yu J. Impairment of Th cell response in Card9 knockout mice with cutaneous mucormycosis caused by *Rhizopus arrhizus*. Exp Dermatol. 2019 Nov 4;28(11):1244–51.
328. Schmidt S, Tramsen L, Perkhofer S, Lass-Flörl C, Röger F, Schubert R, et al. Characterization of the Cellular Immune Responses to *Rhizopus oryzae* With Potential Impact on

- Immunotherapeutic Strategies in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *J Infect Dis*. 2012 Jul 1;206(1):135–9.
329. Castillo P, Wright KE, Kontoyiannis DP, Walsh T, Patel S, Chorvinsky E, et al. A New Method for Reactivating and Expanding T Cells Specific for *Rhizopus oryzae*. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2018 Jun;9:305–12.
 330. Murphy K. THE ADAPTIVE IMMUNE RESPONSE. In: Scobie JLEMILGGB, editor. *JANEWAYS IMMUNOBIOLOGY*. 8th ed. New York: Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC; 2012. p. 387–429.
 331. Verma A, Wuthrich M, Deepe G, Klein B. Adaptive Immunity to Fungi. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015 Mar 1;5(3):a019612–a019612.
 332. Gebremariam T, Alkhazraji S, Soliman SSM, Gu Y, Jeon HH, Zhang L, et al. Anti-CoTH3 antibodies protect mice from mucormycosis by prevention of invasion and augmenting opsonophagocytosis. *Sci Adv*. 2019 Jun;5(6).
 333. Casadevall A, Pirofski L. Immunoglobulins in Defense, Pathogenesis, and Therapy of Fungal Diseases. *Cell Host Microbe*. 2012 May;11(5):447–56.
 334. Shi L, Albuquerque PC, Lazar-Molnar E, Wang X, Santambrogio L, Gácsér A, et al. A Monoclonal Antibody to *Histoplasma capsulatum* Alters the Intracellular Fate of the Fungus in Murine Macrophages. *Eukaryot Cell*. 2008 Jul;7(7):1109–17.
 335. McClelland EE, Nicola AM, Prados-Rosales R, Casadevall A. Ab binding alters gene expression in *Cryptococcus neoformans* and directly modulates fungal metabolism. *Journal of Clinical Investigation*. 2010 Apr 1;120(4):1355–61.
 336. Roilides E, Lyman CA, Panagopoulou P, Chanock S. Immunomodulation of invasive fungal infections. *Infect Dis Clin North Am*. 2003 Mar;17(1):193–219.
 337. Pham D, Howard-Jones AR, Sparks R, Stefani M, Sivalingam V, Halliday CL, et al. Epidemiology, Modern Diagnostics, and the Management of Mucorales Infections. *Journal of Fungi*. 2023 Jun 12;9(6):659.
 338. Aerts R, Bevers S, Beuselinck K, Schauwvlieghe A, Lagrou K, Maertens J. Blood Mucorales PCR to track down *Aspergillus* and Mucorales co-infections in at-risk hematology patients: A case-control study. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022 Dec 8;12.
 339. Pandey M, Xess I, Sachdev J, Yadav U, Singh G, Pradhan D, et al. Development of a Sensitive and Specific Novel qPCR Assay for Simultaneous Detection and Differentiation of Mucormycosis and Aspergillosis by Melting Curve Analysis. *Frontiers in Fungal Biology*. 2022 Jan 24;2.
 340. Walsh TJ, Gamaletsou MN, McGinnis MR, Hayden RT, Kontoyiannis DP. Early Clinical and Laboratory Diagnosis of Invasive Pulmonary, Extrapulmonary, and Disseminated Mucormycosis (Zygomycosis). *Clinical Infectious Diseases*. 2012 Feb 1;54(suppl_1):S55–60.

341. Vaezi A, Fakhim H, Ilkit M, Faali L, Fakhar M, Alinejad V, et al. Rapid and Low-Cost Culture-Based Method for Diagnosis of Mucormycosis Using a Mouse Model. *Front Microbiol.* 2020 Mar 20;11.
342. Corzo-León DE, Chora-Hernández LD, Rodríguez-Zulueta AP, Walsh TJ. Diabetes mellitus as the major risk factor for mucormycosis in Mexico: Epidemiology, diagnosis, and outcomes of reported cases. *Med Mycol.* 2018 Jan 1;56(1):29–43.
343. Jiang X, Yang T, Li Q, Zhu X, Su X, Li J, et al. Liquid-Based Cytopathology Test: A Novel Method for Diagnosing Pulmonary Mucormycosis in Bronchial Brushing Samples. *Front Microbiol.* 2018 Nov 27;9.
344. Cornely OA, Arikan-Akdagli S, Dannaoui E, Groll AH, Lagrou K, Chakrabarti A, et al. ESCMID† and ECMM‡ joint clinical guidelines for the diagnosis and management of mucormycosis 2013. *Clinical Microbiology and Infection.* 2014 Apr;20:5–26.
345. Lass-Flörl C. Zygomycosis: conventional laboratory diagnosis. *Clinical Microbiology and Infection.* 2009;15:60–5.
346. Guarner J, Brandt ME. Histopathologic Diagnosis of Fungal Infections in the 21st Century. *Clin Microbiol Rev.* 2011 Apr;24(2):247–80.
347. Mansoor S, Ahmed TI, Happa K, Sultan M, Manhas S, Shamas S. Spectrum of Mucormycosis Before and During COVID-19: Epidemiology, Diagnosis, and Current Therapeutic Interventions. *Curr Fungal Infect Rep.* 2022 Dec 10;16(4):131–42.
348. Shen Y, Zhang X, Lin W, Wan C, Li Q, Jiang Y. Liquid-based cytopathology test as a novel method to identify *Aspergillus* in patients with pulmonary aspergillosis. *Sci Rep.* 2017 Aug 8;7(1):7528.
349. Marvin LF, Roberts MA, Fay LB. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry in clinical chemistry. *Clin Chim Acta.* 2003 Nov;337(1–2):11–21.
350. Cassagne C, Ranque S, Normand AC, Fourquet P, Thiebault S, Planard C, et al. Mould routine identification in the clinical laboratory by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *PLoS One.* 2011;6(12):e28425.
351. Lau AF. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight for Fungal Identification. *Clin Lab Med.* 2021 Jun;41(2):267–83.
352. Normand AC, Becker P, Gabriel F, Cassagne C, Accoceberry I, Gari-Toussaint M, et al. Validation of a New Web Application for Identification of Fungi by Use of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry. *J Clin Microbiol.* 2017 Sep;55(9):2661–70.
353. De Carolis E, Posteraro B, Lass-Flörl C, Vella A, Florio A, Torelli R, et al. Species identification of *Aspergillus*, *Fusarium* and *Mucorales* with direct surface analysis by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Mycology.* 2012 May;18(5):475–84.

354. Becker P, Delphine A, Ranque S, Piarroux R, Cassagne C, Detandt M, et al. Identification of filamentous fungi isolates by MALDI-TOF mass spectrometry: clinical evaluation of an extended reference spectra library. *Med Mycol*. 2014 Feb;52(8):826–34.
355. Bruker Daltonics GmbH & Co. KG. MBT HT Filamentous Fungi IVD Module User Manual. Germany; 2022 Nov.
356. BIOMERIEUX. VITEK MS RUO, User Manual Supplent. Vol. 4. Lyon; 2021. p. 1–86.
357. Juan YH, Saboo SS, Lin YC, Conner JR, Jacobson FL, Khandelwal A. Reverse halo sign in pulmonary mucormycosis. *QJM*. 2014 Sep 1;107(9):777–8.
358. Legouge C, Caillot D, Chrétien ML, Lafon I, Ferrant E, Audia S, et al. The Reversed Halo Sign: Pathognomonic Pattern of Pulmonary Mucormycosis in Leukemic Patients With Neutropenia? *Clinical Infectious Diseases*. 2014 Mar 1;58(5):672–8.
359. Caillot D, Valot S, Lafon I, Basmaciyan L, Chretien ML, Sautour M, et al. Is It Time to Include CT “Reverse Halo Sign” and qPCR Targeting Mucorales in Serum to EORTC-MSG Criteria for the Diagnosis of Pulmonary Mucormycosis in Leukemia Patients? *Open Forum Infect Dis*. 2016 Oct 1;3(4).
360. Chamilos G, Marom EM, Lewis RE, Lionakis MS, Kontoyiannis DP. Predictors of Pulmonary Zygomycosis versus Invasive Pulmonary Aspergillosis in Patients with Cancer. *Clinical Infectious Diseases*. 2005 Jul 1;41(1):60–6.
361. Herrera DA, Dublin AB, Ormsby EL, Aminpour S, Howell LP. Imaging findings of rhinocerebral mucormycosis. *Skull Base*. 2009 Mar;19(2):117–25.
362. Therakathu J, Prabhu S, Irodi A, Sudhakar SV, Yadav VK, Rupa V. Imaging features of rhinocerebral mucormycosis: A study of 43 patients. *The Egyptian Journal of Radiology and Nuclear Medicine*. 2018 Jun;49(2):447–52.
363. Mossa-Basha M, Ilica A, Maluf F, Karakoç Ö, İzbudak I, Aygün N. The many faces of fungal disease of the paranasal sinuses: CT and MRI findings. *Diagnostic and Interventional Radiology* . 2013 May;19:195–200.
364. Lass-Flörl C, Samardzic E, Knoll M. Serology anno 2021—fungal infections: from invasive to chronic. *Clinical Microbiology and Infection*. 2021 Sep;27(9):1230–41.
365. Burnham-Marusich AR, Hubbard B, Kvam AJ, Gates-Hollingsworth M, Green HR, Soukup E, et al. Conservation of Mannan Synthesis in Fungi of the Zygomycota and Ascomycota Reveals a Broad Diagnostic Target. *mSphere*. 2018 Jun 27;3(3).
366. Davies GE, Thornton CR. Development of a Monoclonal Antibody and a Serodiagnostic Lateral-Flow Device Specific to *Rhizopus arrhizus* (Syn. *R. oryzae*), the Principal Global Agent of Mucormycosis in Humans. *Journal of Fungi*. 2022 Jul 21;8(7):756.
367. Potenza L, Vallerini D, Barozzi P, Riva G, Gilioli A, Forghieri F, et al. Mucorales-Specific T Cells in Patients with Hematologic Malignancies. *PLoS One*. 2016 Feb 12;11(2):e0149108.

368. Sato K, Oinuma KI, Niki M, Yamagoe S, Miyazaki Y, Asai K, et al. Identification of a Novel Rhizopus-specific Antigen by Screening with a Signal Sequence Trap and Evaluation as a Possible Diagnostic Marker of Mucormycosis. *Med Mycol.* 2017 Oct 1;55(7):713–9.
369. Thornton CR, Davies GE, Dougherty L. Development of a monoclonal antibody and a lateral-flow device for the rapid detection of a Mucorales-specific biomarker. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023 Dec 8;13.
370. Millon L, Scherer E, Rocchi S, Bellanger AP. Molecular Strategies to Diagnose Mucormycosis. *Journal of Fungi.* 2019 Mar 20;5(1):24.
371. Nyilasi I, Papp T, Cserecsics Á, Krizsán K, Nagy E, Vágvölgyi C. High-affinity iron permease (FTR1) gene sequence-based molecular identification of clinically important Zygomycetes. *Clinical Microbiology and Infection.* 2008 Apr;14(4):393–7.
372. Xu R, Li D, Zhao J, Zhong H, Chen H, Jia Y, et al. Rapid detection of Mucorales based on recombinase polymerase amplification and real-time PCR. *Front Microbiol.* 2023 Oct 20;14.
373. Sparks R, Halliday CL, Green W, Chen SCA. Panfungal PCR on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue: to proceed or not proceed? *Pathology.* 2023 Aug;55(5):669–72.
374. Trubiano J, Dennison A, Morrissey C, Chua K, Halliday C, Chen SA, et al. Clinical utility of panfungal polymerase chain reaction for the diagnosis of invasive fungal disease: a single center experience. *Med Mycol.* 2016 Feb 1;54(2):138–46.
375. Legrand M, Gits-Muselli M, Boutin L, Garcia-Hermoso D, Maurel V, Soussi S, et al. Detection of Circulating Mucorales DNA in Critically Ill Burn Patients: Preliminary Report of a Screening Strategy for Early Diagnosis and Treatment. *Clinical Infectious Diseases.* 2016 Nov 15;63(10):1312–7.
376. Springer J, Lackner M, Ensinger C, Risslegger B, Morton CO, Nachbaur D, et al. Clinical evaluation of a Mucorales-specific real-time PCR assay in tissue and serum samples. *J Med Microbiol.* 2016 Dec 16;65(12):1414–21.
377. Caramalho R, Madl L, Rosam K, Rambach G, Speth C, Pallua J, et al. Evaluation of a Novel Mitochondrial Pan-Mucorales Marker for the Detection, Identification, Quantification, and Growth Stage Determination of Mucormycetes. *Journal of Fungi.* 2019 Oct 11;5(4):98.
378. Springer J, White PL, Kessel J, Wieters I, Teschner D, Korczynski D, et al. A Comparison of Aspergillus and Mucorales PCR Testing of Different Bronchoalveolar Lavage Fluid Fractions from Patients with Suspected Invasive Pulmonary Fungal Disease. *J Clin Microbiol.* 2018 Feb;56(2).
379. Scherer E, Iriart X, Bellanger AP, Dupont D, Guitard J, Gabriel F, et al. Quantitative PCR (qPCR) Detection of Mucorales DNA in Bronchoalveolar Lavage Fluid To Diagnose Pulmonary Mucormycosis. *J Clin Microbiol.* 2018 Aug;56(8).
380. Guegan H, Iriart X, Bougnoux ME, Berry A, Robert-Gangneux F, Gangneux JP. Evaluation of MucorGenius® mucorales PCR assay for the diagnosis of pulmonary mucormycosis. *Journal of Infection.* 2020 Aug;81(2):311–7.

381. Zaman K, Rudramurthy SM, Das A, Panda N, Honnavar P, Kaur H, et al. Molecular diagnosis of rhino-orbito-cerebral mucormycosis from fresh tissue samples. *J Med Microbiol*. 2017 Aug 1;66(8):1124–9.
382. K. Hussain K, Malavia D, M. Johnson E, Littlechild J, Winlove CP, Vollmer F, et al. Biosensors and Diagnostics for Fungal Detection. *Journal of Fungi*. 2020 Dec 8;6(4):349.
383. Thevenot DR, Tóth K, Durst RA, Wilson GS. Electrochemical Biosensors: Recommended Definitions and Classification. *Pure and Applied Chemistry*. 1999 Jan 1;71(12):2333–48.
384. Cai Z, Kwak DH, Punihaole D, Hong Z, Velankar SS, Liu X, et al. A Photonic Crystal Protein Hydrogel Sensor for *Candida albicans*. *Angewandte Chemie International Edition*. 2015 Oct 26;54(44):13036–40.
385. Martín Gómez MT, Salavert Lletí M. Mucormycosis: perspectiva de manejo actual y de futuro. *Rev Iberoam Micol*. 2021 Apr;38(2):91–100.
386. Suberviola B. Seguridad clínica de la anfotericina B liposomal. *Rev Iberoam Micol*. 2021 Apr;38(2):56–60.
387. Andes D, Safdar N, Marchillo K, Conklin R. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Comparison of Amphotericin B (AMB) and Two Lipid-Associated AMB Preparations, Liposomal AMB and AMB Lipid Complex, in Murine Candidiasis Models. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006 Feb;50(2):674–84.
388. Rivera-Toledo E, Jiménez-Delgadillo AU, Manzano-Gayosso P. Antifúngicos poliénicos. Mecanismo de acción y aplicaciones. *Revista de la Facultad de Medicina*. 2020 Mar 25;63(2):7–17.
389. Delattin N, Cammue BP, Thevissen K. Reactive Oxygen Species-Inducing Antifungal Agents and Their Activity Against Fungal Biofilms. *Future Med Chem*. 2014 Jan 23;6(1):77–90.
390. Patel AA, Bork JT, Riedel DJ. Salvage Therapy for the Treatment of Mucormycosis. *Curr Treat Options Infect Dis*. 2021 Sep 25;13(3):111–22.
391. Lamoth F. Novel Approaches in the Management of Mucormycosis. *Curr Fungal Infect Rep*. 2023 Jun 8;17(2):98–107.
392. Li Y, Theuretzbacher U, Clancy CJ, Nguyen MH, Derendorf H. Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Profile of Posaconazole. *Clin Pharmacokinet*. 2010 Jun;49(6):379–96.
393. Chen L, Krekels EHJ, Verweij PaulE, Buil JB, Knibbe CAJ, Brüggemann RJM. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Posaconazole. *Drugs*. 2020 May 22;80(7):671–95.
394. Jansen AME, Snijdelaar K, Keizer RJ, Spriet I, Dreesen E, Brüggemann RJM, et al. Personalized Antifungal Therapy Through Model-Informed Precision Dosing of Posaconazole. *Clin Pharmacokinet*. 2024 May 26;63(5):645–56.
395. Wilby KJ. A Review of the Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Isavuconazole. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 2018 Jun 4;43(3):281–90.

396. Nocua-Báez LC, Uribe-Jerez P, Tarazona-Guaranga L, Robles R, Cortés JA. Azoles de antes y ahora: una revisión. *Revista chilena de infectología*. 2020 Jun;37(3):219–30.
397. Sipsas N V., Gamaletsou MN, Anastasopoulou A, Kontoyiannis DP. Therapy of Mucormycosis. *Journal of Fungi*. 2018 Jul 31;4(3):90.
398. Tissot F, Agrawal S, Pagano L, Petrikkos G, Groll AH, Skiada A, et al. ECIL-6 guidelines for the treatment of invasive candidiasis, aspergillosis and mucormycosis in leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. *Haematologica*. 2017 Mar;102(3):433–44.
399. Espinel-Ingroff A, Chakrabarti A, Chowdhary A, Cordoba S, Dannaoui E, Dufresne P, et al. Multicenter Evaluation of MIC Distributions for Epidemiologic Cutoff Value Definition To Detect Amphotericin B, Posaconazole, and Itraconazole Resistance among the Most Clinically Relevant Species of Mucorales. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015 Mar;59(3):1745–50.
400. Caramalho R, Maurer E, Binder U, Araújo R, Dolatabadi S, Lass-Flörl C, et al. Etest Cannot Be Recommended for *In Vitro* Susceptibility Testing of Mucorales. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015 Jun;59(6):3663–5.
401. Arendrup MC, Jensen RH, Meletiadis J. *In Vitro* Activity of Isavuconazole and Comparators against Clinical Isolates of the *Mucorales* Order. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015 Dec;59(12):7735–42.
402. Abidi MZ, Sohail MR, Cummins N, Wilhelm M, Wengenack N, Brumble L, et al. Stability in the cumulative incidence, severity and mortality of 101 cases of invasive mucormycosis in high-risk patients from 1995 to 2011: a comparison of eras immediately before and after the availability of voriconazole and echinocandin-amphotericin combination therapies. *Mycoses*. 2014 Nov 18;57(11):687–98.
403. Kyvernitakis A, Torres HA, Jiang Y, Chamilos G, Lewis RE, Kontoyiannis DP. Initial use of combination treatment does not impact survival of 106 patients with haematologic malignancies and mucormycosis: a propensity score analysis. *Clinical Microbiology and Infection*. 2016 Sep;22(9):811.e1-811.e8.
404. Lamoth F, Kontoyiannis DP. Therapeutic Challenges of Non- *Aspergillus* Invasive Mold Infections in Immunosuppressed Patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019 Nov;63(11).
405. Smith C, Lee SC. Current treatments against mucormycosis and future directions. *PLoS Pathog*. 2022 Oct 13;18(10):e1010858.
406. Marty FM, Ostrosky-Zeichner L, Cornely OA, Mullane KM, Perfect JR, Thompson GR, et al. Isavuconazole treatment for mucormycosis: a single-arm open-label trial and case-control analysis. *Lancet Infect Dis*. 2016 Jul;16(7):828–37.
407. Kim JH, Benefield RJ, Ditolla K. Utilization of posaconazole oral suspension or delayed-released tablet salvage treatment for invasive fungal infection. *Mycoses*. 2016 Nov 5;59(11):726–33.

408. Spellberg B, Ibrahim AS. Recent Advances in the Treatment of Mucormycosis. *Curr Infect Dis Rep*. 2010 Nov 10;12(6):423–9.
409. Farmakiotis D, Kontoyiannis DP. Mucormycoses. *Infect Dis Clin North Am*. 2016 Mar;30(1):143–63.
410. Vironneau P, Kania R, Herman P, Morizot G, Garcia-Hermoso D, Lortholary O, et al. Local control of rhino-orbito-cerebral mucormycosis dramatically impacts survival. *Clinical Microbiology and Infection*. 2014 May;20(5):O336–9.
411. Cag Y, Erdem H, Gunduz M, Komur S, Ankarali H, Ural S, et al. Survival in rhino-orbito-cerebral mucormycosis: An international, multicenter ID-IRI study. *Eur J Intern Med*. 2022 Jun;100:56–61.
412. Brunet K, Rammaert B. Mucormycosis treatment: Recommendations, latest advances, and perspectives. *J Mycol Med*. 2020 Sep;30(3):101007.
413. Multani A, Reveron-Thornton R, Garvert DW, Gomez CA, Montoya JG, Lui NS. Cut it out! Thoracic surgeon’s approach to pulmonary mucormycosis and the role of surgical resection in survival. *Mycoses*. 2019 Oct 6;62(10):893–907.
414. Cho H, Lee H, Jeon K, Suh GY, Shin S, Kim HK, et al. Factors affecting surgical resection and treatment outcomes in patients with pulmonary mucormycosis. *J Thorac Dis*. 2019 Mar;11(3):892–900.
415. Gebremariam T, Lin L, Liu M, Kontoyiannis DP, French S, Edwards JE, et al. Bicarbonate correction of ketoacidosis alters host-pathogen interactions and alleviates mucormycosis. *Journal of Clinical Investigation*. 2016 May 9;126(6):2280–94.
416. Saoulidis S, Simitsopoulou M, Dalakiouridou M, Walsh TJ, Wheat LJ, Papaioannidou P, et al. Antifungal activity of posaconazole and granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of disseminated zygomycosis (mucormycosis) in a neutropaenic murine model. *Mycoses*. 2011 Sep 29;54(5).
417. Chen TK, Batra JS, Michalik DE, Casillas J, Patel R, Ruiz ME, et al. Recombinant Human Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (rhu GM-CSF) as Adjuvant Therapy for Invasive Fungal Diseases. *Open Forum Infect Dis*. 2022 Nov 2;9(11).
418. Garcia-Diaz JB, Palau L, Pankey GA. Resolution of Rhinocerebral Zygomycosis Associated with Adjuvant Administration of Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor. *Clinical Infectious Diseases*. 2001 Jun 15;32(12):e166–70.
419. Damiani G, McCormick TS, Leal LO, Ghannoum MA. Recombinant human granulocyte macrophage-colony stimulating factor expressed in yeast (sargramostim): A potential ally to combat serious infections. *Clinical Immunology*. 2020 Jan;210:108292.
420. Tragiannidis A, Groll AH. Hyperbaric oxygen therapy and other adjunctive treatments for zygomycosis. *Clinical Microbiology and Infection*. 2009;15:82–6.

421. Ruiz Camps I, Salavert Lletí M. El tratamiento de la mucormicosis (cigomicosis) en el siglo xxi. *Rev Iberoam Micol.* 2018 Oct;35(4):217–21.
422. John BV, Chamilos G, Kontoyiannis DP. Hyperbaric oxygen as an adjunctive treatment for zygomycosis. *Clinical Microbiology and Infection.* 2005 Jul;11(7):515–7.
423. Barratt DM, Van Meter K, Asmar P, Nolan T, Trahan C, Garcia-Covarrubias L, et al. Hyperbaric Oxygen as an Adjunct in Zygomycosis: Randomized Controlled Trial in a Murine Model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001 Dec;45(12):3601–2.
424. CAPPELLINI M. Iron-chelating therapy with the new oral agent ICL670 (Exjade®). *Best Pract Res Clin Haematol.* 2005 Jun;18(2):289–98.
425. Sharma A, Goel A. Mucormycosis: risk factors, diagnosis, treatments, and challenges during COVID-19 pandemic. *Folia Microbiol (Praha).* 2022 Jun 26;67(3):363–87.
426. Shaw KJ, Ibrahim AS. Fosmanogepix: A Review of the First-in-Class Broad Spectrum Agent for the Treatment of Invasive Fungal Infections. *Journal of Fungi.* 2020 Oct 22;6(4):239.
427. Rivero-Menendez O, Cuenca-Estrella M, Alastruey-Izquierdo A. In vitro activity of APX001A against rare moulds using EUCAST and CLSI methodologies. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2019 May 1;74(5):1295–9.
428. Gebremariam T, Gu Y, Alkhazraji S, Youssef E, Shaw KJ, Ibrahim AS. The Combination Treatment of Fosmanogepix and Liposomal Amphotericin B Is Superior to Monotherapy in Treating Experimental Invasive Mold Infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2022 Jul 19;66(7).
429. Lamoth F, Lewis RE, Kontoyiannis DP. Investigational Antifungal Agents for Invasive Mycoses: A Clinical Perspective. *Clinical Infectious Diseases.* 2022 Aug 31;75(3):534–44.
430. Jallow S, Govender NP. Ibrexafungerp: A First-in-Class Oral Triterpenoid Glucan Synthase Inhibitor. *Journal of Fungi.* 2021 Feb 25;7(3):163.
431. Wiederhold NP. Review of the Novel Investigational Antifungal Olorofim. *Journal of Fungi.* 2020 Jul 30;6(3):122.
432. Aigner M, Lass-Flörl C. Encochleated Amphotericin B: Is the Oral Availability of Amphotericin B Finally Reached? *Journal of Fungi.* 2020 May 18;6(2):66.
433. Wiederhold NP. The antifungal arsenal: alternative drugs and future targets. *Int J Antimicrob Agents.* 2018 Mar;51(3):333–9.
434. Gebremariam T, Wiederhold NP, Fothergill AW, Garvey EP, Hoekstra WJ, Schotzinger RJ, et al. VT-1161 Protects Immunosuppressed Mice from *Rhizopus arrhizus* var. *arrhizus* Infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 Dec;59(12):7815–7.
435. Wiederhold NP, Patterson HP, Tran BH, Yates CM, Schotzinger RJ, Garvey EP. Fungal-specific Cyp51 inhibitor VT-1598 demonstrates in vitro activity against *Candida* and *Cryptococcus* species, endemic fungi, including *Coccidioides* species, *Aspergillus* species and *Rhizopus arrhizus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2018 Feb 1;73(2):404–8.

436. Pfaller MA, Messer SA, Georgopapadakou N, Martell LA, Besterman JM, Diekema DJ. Activity of MGCD290, a Hos2 Histone Deacetylase Inhibitor, in Combination with Azole Antifungals against Opportunistic Fungal Pathogens. *J Clin Microbiol.* 2009 Dec;47(12):3797–804.
437. Pfaller MA, Rhomberg PR, Messer SA, Castanheira M. In vitro activity of a Hos2 deacetylase inhibitor, MGCD290, in combination with echinocandins against echinocandin-resistant *Candida* species. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2015 Apr;81(4):259–63.
438. Salem SS, Ali OM, Reyad AM, Abd-Elsalam KA, Hashem AH. Pseudomonas indica-Mediated Silver Nanoparticles: Antifungal and Antioxidant Biogenic Tool for Suppressing Mucormycosis Fungi. *Journal of Fungi.* 2022 Jan 27;8(2):126.
439. Varaiya A, Sundaresan A. Emerging Mucormycosis: Problems and Treatments. In: *Fungi and Fungal Products in Human Welfare and Biotechnology.* Singapore: Springer Nature Singapore; 2023. p. 97–125.
440. Medda S, Hajra A, Dey U, Bose P, Mondal NK. Biosynthesis of silver nanoparticles from Aloe vera leaf extract and antifungal activity against *Rhizopus* sp. and *Aspergillus* sp. *Appl Nanosci.* 2015 Oct 11;5(7):875–80.
441. Hashem AH, Shehabeldine AM, Abdelaziz AM, Amin BH, Sharaf MH. Antifungal Activity of Endophytic *Aspergillus terreus* Extract Against Some Fungi Causing Mucormycosis: Ultrastructural Study. *Appl Biochem Biotechnol.* 2022 Aug 2;194(8):3468–82.