

Resistencia antifúngica y variabilidad fenotípica en micosis pulmonares en pacientes críticos con COVID-19

Antifungal resistance and phenotypic variability in pulmonary mycoses in critically ill patients with COVID-19

Rolando Paredes-Gago^{1,a}, Pedro Gustavo Valencia-Vásquez^{1b,2}, Flor Cecilia Úrcia-Ausejo^{1,a}, Oscar Roberto Escalante-Maldonado^{1b,c}, Ronald Espiritu Ayala-Mendivil^{1b,d}

¹ Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú.

² Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

^a Biólogo.

^b Médico Infectólogo, Magister en Salud Pública.

^c Biólogo, PhD. en Ciencias Médicas.

^d Médico Cirujano, Doctor en Medicina.

Información del artículo

Citar como: Paredes-Gago R, Valencia-Vásquez PG, Úrcia-Ausejo FC, Escalante-Maldonado OR, Ayala-Mendivil RE. Resistencia antifúngica y variabilidad fenotípica en micosis pulmonares en pacientes críticos con COVID-19. Health Care & Global Health.2024;8(2). DOI: 10.22258/hgh.2025.91.182.

Autor correspondiente

Rolando Paredes Gago
Dirección: Av. Defensores del Morro
2268 (Ex Huaylas) Chorrillos.
Email: rolo.paredes.gago@gmail.com
Teléfono: 987266183

Historial

Recibido: 23/12/2024
Revisado: 28/12/2024
Aceptado: 16/02/2025
En línea: 06/03/2025
Revisión por pares interna: Si
Revisión por pares externa: Si



Resumen

Objetivo. Este estudio analizó el perfil fenotípico y de resistencia antifúngica en hongos aislados de infecciones pulmonares en pacientes críticos con COVID-19. **Materiales y métodos:** Se obtuvo información sobre cepas fúngicas aisladas en el Laboratorio de Referencia Nacional de Micología (LRNM) de pacientes hospitalizados con COVID-19. Los hongos fueron identificados mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF) y técnicas moleculares, clasificando los fenotipos y evaluando la sensibilidad a antifúngicos conforme a los estándares del Instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI). Se probaron antifúngicos como anidulafungina, micafungina, caspofungina, voriconazol, fluconazol, itraconazol y anfotericina B. **Resultados:** En levaduras, *Candida albicans* fue la especie predominante (73,5%), seguida de *Candida tropicalis* (19,3%). En hongos filamentosos, *Aspergillus fumigatus* fue el más frecuente (78,3%), seguido de *Aspergillus terreus* (17,4%). La mayoría de las cepas de *Candida albicans* fueron sensibles a los antifúngicos, con un pequeño porcentaje resistente al fluconazol. En *Aspergillus fumigatus*, voriconazol fue eficaz en el 77,8% de los casos, con algunas cepas categorizadas como intermedias o resistentes. En general, las cepas de *Candida* y *Aspergillus* mostraron sensibilidad a equinocandinas y azoles, con resistencia mínima. La variabilidad en las concentraciones mínimas inhibitorias de las distintas especies se reflejó en los datos obtenidos. **Conclusiones:** *Candida albicans* y *Aspergillus fumigatus* fueron los hongos predominantes, con sensibilidad general a equinocandinas y azoles, aunque se observaron algunas cepas resistentes, especialmente a fluconazol y voriconazol. Estos hallazgos resaltan la importancia de un diagnóstico preciso y una gestión terapéutica adecuada en infecciones fúngicas, subrayando la necesidad de personalizar los tratamientos según la especie y su perfil de sensibilidad.

Palabras clave: COVID-19; Micosis Pulmonar; Farmacorresistencia Fúngica; *Aspergillus* (Fuente: DeCS, BIREME).

Abstract

Objective. This study analyzed the phenotypic and antifungal resistance profile of fungi isolated from pulmonary infections in critically patients with COVID-19. **Materials and methods:** Information was obtained on fungal strains isolated at the National Reference Laboratory of Mycology (LRNM) from hospitalized patients with COVID-19. The Fungi were identified by mass spectrometry (MALDI-TOF) and molecular techniques, classifying phenotypes and evaluating antifungal sensitivity according to the Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). Antifungals such as anidulafungin, micafungin, caspofungin, voriconazole, fluconazole, itraconazole and amphotericin B were tested. **Results:** In yeasts, *Candida albicans* was the predominant species (73,5%), followed by *Candida tropicalis* (19,3%). In filamentous fungi, *Aspergillus fumigatus* was the most frequent (78,3%), followed by *Aspergillus terreus* (17,4%). Most strains of *Candida albicans* were sensitive to antifungals, with a small percentage resistant to fluconazole. In *Aspergillus fumigatus*, voriconazole was effective in 77.8% of cases, with some strains categorized as intermediate or resistant. In general, *Candida* and *Aspergillus* strains showed sensitivity to echinocandins and azoles, with minimal resistance. The variability in the minimum inhibitory concentrations of the different species was reflected in the data obtained. **Conclusions:** *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus* were the predominant fungi, with general sensitivity to echinocandins and azoles, although some resistant strains were observed, especially to fluconazole and voriconazole. These findings highlight the importance of accurate diagnosis and appropriate therapeutic management in fungal infections, underlining the need to customize treatments according to the species and its sensitivity profile.

Keywords: COVID-19; Lung Diseases, Fungal; Drug Resistance, Fungal; *Aspergillus* (Source: MeSH, NLM).

Introducción

La pandemia de COVID-19, originada por el virus SARS-CoV-2, ha sido un desafío sanitario global desde su inicio en 2019, con millones de muertes reportadas hasta principios de 2022 ^[1]. En su fase grave, el COVID-19 puede llevar a neumonía severa y síndrome respiratorio agudo, requiriendo ventilación mecánica y cuidados intensivos ^[2]. Los pacientes críticos presentan altas tasas de complicaciones infecciosas secundarias, tanto bacterianas como fúngicas, que aumentan el riesgo de mortalidad ^[3]. Las coinfecciones fúngicas, especialmente en pacientes hospitalizados y ventilados, destacan como un factor de complicación importante, subrayando la necesidad de estudiar las cepas fúngicas asociadas a estas infecciones ^[4].

Diversos estudios durante los primeros meses de la pandemia reportaron que un 5% de los pacientes con COVID-19 sufrían infecciones fúngicas, especialmente en pacientes críticos ^[5]. A nivel global, las coinfecciones microbianas fueron comunes, con un 7% de pacientes hospitalizados con COVID-19, afectando hasta un 14% en unidades de cuidados intensivos ^[4]. Las especies de *Candida* y *Aspergillus*, en particular *Candida albicans*, han sido responsables de colonizaciones pulmonares y complicaciones en estos pacientes ^{[6][7]}.

La aparición de infecciones fúngicas ha sido preocupante debido a su impacto negativo en el pronóstico de los pacientes. Las infecciones pulmonares asociadas con *Aspergillus* presentan una alta mortalidad en pacientes en Unidades de Cuidados intensivos (UCI), con tasas que superan el 50% ^{[8][9]}. Además, la prevalencia de estas infecciones varía considerablemente, con reportes de hasta un 26,8% y preocupa la resistencia creciente de *Aspergillus fumigatus* a los antifúngicos, en especial a los azoles ^{[10][11]}.

En América Latina, los informes sobre infecciones fúngicas en pacientes con COVID-19 son más limitados, pero varios países han documentado casos alarmantes. En Brasil, se reportaron altas tasas de mortalidad por infecciones fúngicas, especialmente con especies de *Candida non-albicans* ^[12]. En Perú, se observó una coinfección pulmonar por *Candida albicans* y *Aspergillus fumigatus* ^[13], y en otros países como Chile y Argentina también se registraron infecciones graves de estos hongos ^{[14][15]}.

La caracterización adecuada de las cepas fúngicas involucradas en estas infecciones pulmonares es esencial, al igual que la evaluación de su resistencia a los antifúngicos, dado el aumento en el uso indiscriminado de estos tratamientos durante la pandemia, favorece la selección de cepas resistentes ^[16]. Este estudio busca analizar las cepas fúngicas aisladas de muestras respiratorias de pacientes hospitalizados con COVID-19 para proporcionar información relevante sobre sus características y resistencia antifúngica en un contexto clínico.

Una identificación precisa de las especies fúngicas y su perfil de resistencia es crucial para mejorar el manejo de

las infecciones pulmonares en pacientes críticos. Además, los hallazgos de este estudio pueden ayudar a optimizar estrategias de diagnóstico y tratamiento en esta población vulnerable, mejorando la respuesta sanitaria frente a futuros brotes y al tratamiento de pacientes inmunocomprometido.

Materiales y métodos

El presente estudio se basa en un enfoque observacional, descriptivo y transversal.

Diseño Muestral

Las muestras utilizadas para el estudio fueron obtenidas de la Micoteca del Laboratorio de Referencia de Micología (LRNM) del Instituto Nacional de Salud (INS), las cuales provenían de aislamientos de muestras respiratorias (aspirado bronquial, aspirado traqueal, esputo, lavado broncoalveolar y secreción faríngea) de pacientes diagnosticados críticos con COVID-19. Estas cepas fueron conservadas mediante el método de Castellani a temperatura ambiente desde diciembre del 2020 hasta mayo del 2022, las cuales fueron reactivadas y caracterizadas mediante análisis de espectro proteico (MALDI-TOF) durante el segundo semestre del 2023. Las cepas previamente identificadas como *Aspergillus fumigatus* (Sensu lato) fueron sometidas a una prueba de PCR en tiempo real para su identificación molecular (Sensu stricto). Además, se realizó un análisis de susceptibilidad antifúngica usando el sistema colorimétrico SENSITITRE Yeast One Y010, tanto para hongos levaduriformes como para hongos filamentosos.

El análisis se centró en las cepas fúngicas asociadas a sobreinfecciones pulmonares, y la población del estudio estuvo compuesta por todas las cepas fúngicas pertenecientes a la Micoteca del Laboratorio de Referencia Nacional de Micología. Se analizaron un total de 107 registros completos de cepas aisladas desde diciembre del 2020 a mayo del 2022 (18 meses). La unidad de análisis del estudio fue cada una de las cepas fúngicas, ya sean levaduriformes o filamentosas, aisladas de muestras respiratorias de los pacientes. Para la recolección de los datos, se utilizaron registros obtenidos de las fichas de vigilancia clínico-epidemiológica, así como registros del cuaderno interno del Laboratorio Referencial Nacional de Micología (LRNM). Se excluyeron cepas repetidas, aquellas cuyo aislamiento no fue posible por problemas de contaminación o falta de pureza, y aquellas fichas de vigilancia con información incompleta o errónea.

Para la recopilación de datos, se utilizó una ficha de recolección anonimizada, en la que se registraron los datos sobre las características de las cepas y su perfil de susceptibilidad. Posteriormente, los datos fueron organizados mediante el software Microsoft Excel. Se aplicaron técnicas de limpieza de datos, eliminando duplicados y asegurando que los datos fueran coherentes con los criterios establecidos para el estudio. Además, se realizó un control de calidad de los datos, descartando aquellos que no cumplían con los requisitos de precisión para el análisis.

Identificación de perfil fenotípico

En cuanto a la identificación de las especies fúngicas, se utilizó un enfoque microbiológico (agar cromogénico) y perfil proteico (MALDI-TOF). Para los hongos levaduriformes, se sembraron las cepas en agar cromogénico y se incubaron a 37°C, lo que permitió la identificación presuntiva de las especies basándose en el color y se realizó la identificación final por la técnica de espectrometría de masas MALDI-TOF, misma que fue utilizada que para la identificación de los hongos filamentosos obteniendo una identificación más precisa de todos los hongos.

Procedimiento de Identificación por MALDI-TOF

Se realizó la identificación de levaduras y hongos filamentosos siguiendo los procedimientos de extracción proteica recomendados por el fabricante Bruker Daltonik MALDI-Biotyper. Para las levaduras, se incubó la cepa en 3 mL de caldo Sabouraud durante 24 horas a 37°C. Posteriormente, se colectó 1.5 mL del pellet formado, el cual se centrifugó y lavó con agua HPLC, etanol absoluto y ácido fórmico para proceder con la extracción. Para los hongos filamentosos, la cepa se incubó en caldo Sabouraud glucosado por 48 horas a temperatura ambiente. El proceso de centrifugado y lavado fue similar al de las levaduras, con una mayor cantidad de ácido fórmico (30-50 µL) y acetronitrilo. Tras la preparación, las muestras se dispusieron en la placa MALDI target, se aplicó la matriz HCCA y se realizó la lectura en el equipo MALDI-Biotyper donde la identificación se realizó mediante el análisis de los espectros proteicos generados, considerando como correcta la identificación de género y especie cuando el score obtenido fue superior a 2.

Identificación Molecular de *Aspergillus fumigatus* Extracción de ADN

La extracción y purificación del ADN se realizó utilizando el Mini Kit QIAamp DNA (Qiagen). Para mejorar la eficiencia de la lisis celular y la liberación del ADN, se añadió Proteinasa K al inicio del procedimiento. La muestra se incubó a 60 °C durante 60 minutos, lo que permitió la degradación de proteínas estructurales y otros componentes celulares. Posteriormente, se continuó con los pasos estándar del protocolo del kit. La concentración de ADN se determinó mediante la medición de la absorción a 260 nm, considerando ideal una concentración superior a 100 ng/mL.

PCR en Tiempo real para identificación de especie *Aspergillus fumigatus* (*Sensu stricto*)

La identificación molecular se llevó a cabo según lo descrito por Das et al. en su estudio sobre PCR en tiempo real para especies de *Aspergillus* [17]. La PCR específica para *Aspergillus fumigatus* utilizó un conjunto de cebadores dirigidos al gen de beta-tubulina: cebador forward A. fum-For 5'-GGAAACACGGAAAACAAGGA-3' y cebador reverse A. fum-Rev 5'-CGTTGGCCTAGTAGCGAGTC-3', que amplifican un fragmento de 230 pb. Además, se empleó una sonda pan-Asp-Probe 5'-FAM-TATTCGGAACATCTCACG-BHQ-1-3', con el fluoróforo FAM en el extremo 5' y quencher BHQ1 en el 3'. La mezcla de PCR fue optimizada a un volumen total de 25 µL, que contenía 250 mM de cada cebador (0,6 µl), 150 nM de la

sonda (0,4 µl), 5 µl de ADN, 12,5 µl de mastermix y 5,9 µl de agua de PCR. La amplificación se realizó en el termociclador Rotor Gene Q (Qiagen), con 40 ciclos que incluyeron desnaturalización a 95 °C por 30 s, hibridación a 60 °C por 60 s y extensión a 72 °C por 8 s. Al final de cada ciclo de amplificación, la señal fluorescente emitida por la sonda, tras la hibridación con el producto amplificado, fue registrada y monitoreada en tiempo real, permitiendo la detección precisa del ADN amplificado durante todo el proceso.

Evaluación del Perfil de Resistencia

La susceptibilidad antifúngica fue determinada utilizando el sistema Sensititre YeastOne de Thermo Scientific, que incluye las placas AST YO10 y el equipo necesario para la lectura de los resultados de los diferentes antifúngicos. Este sistema fue empleado tanto para cepas de levaduras como para hongos filamentosos. Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los antifúngicos anidulafungina, caspofungina, micafungina, fluconazol y voriconazol para los hongos levaduriformes y los antifúngicos voriconazol, itraconazol, caspofungina y anfotericina B para los hongos filamentosos, los cuales se interpretaron categóricamente de acuerdo a los puntos de corte clínicos y epidemiológicos establecidos por el CLSI de acuerdo a los documentos M27M44 (3rd Edition) y CLSI M57 (1st Edition) para evaluar el perfil de resistencia de las cepas fúngicas.

Análisis de los Datos

Los datos obtenidos se analizaron utilizando R Studio versión 4.3.0. Se calcularon frecuencias absolutas y relativas para las variables tipo de hongos (hongo levaduriforme u hongo filamentosos), especie de hongo, interpretación antifúngica y se emplearon medidas de tendencia central y medias para la variable concentración mínima inhibitoria (CMI) de los antifúngicos.

Resultados

Perfil fenotípico

Hongos Levaduriformes

En cuanto a las infecciones por *Candida*, se encontró que la candidiasis fue la más común, presentándose en todos los casos analizados. La especie *Candida albicans* predominó, representando un 73,5% (n=61) de los casos, mientras que otras especies de *Candida* también fueron detectadas, tales como *Candida tropicalis* con 19,3% (n=16). Además, se identificaron de forma aislada *Candida auris*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* y *Candida parapsilosis*. Asimismo, se reportó una infección por *Geotrichum capitatum*, lo que subraya la importancia de considerar la diversidad fenotípica de los patógenos fúngicos en este contexto clínico.

Hongos Filamentosos

En relación con las infecciones por *Aspergillus*, se identificaron diversas especies, siendo *Aspergillus fumigatus* el agente patógeno más frecuente, representando el 78,3% (n=18) de los casos de aspergilosis, seguido de *Aspergillus terreus* con un 17,4% (n=4) y *Aspergillus flavus* con un 4,3%

(n=1), lo que refleja una notable diversidad fenotípica dentro de este grupo de hongos.

En general para todos los hongos tanto levaduriformes como filamentosos, *Candida albicans* fue la especie más predominante (57%), seguido de *Aspergillus fumigatus* (16,6%), *Candida tropicalis* (15%), *Aspergillus terreus* (3,7%) y otros con menor número de aislamientos obtuvieron menor porcentaje (Figura 1).

Identificación Molecular de *Aspergillus fumigatus*

Se realizó una comparación entre las identificaciones microbiológicas (sensu lato) y moleculares (sensu stricto) de las 23 cepas sospechosas de causar Aspergilosis Invasiva asociada a COVID-19. De estas, 18 cepas fueron correctamente identificadas como *Aspergillus fumigatus* mediante PCR en tiempo real (*Aspergillus fumigatus* “Sensu stricto”), lo que coincidió en un 100% con los resultados obtenidos mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF). En cambio, las cepas de *Aspergillus terreus* (4 muestras) y *Aspergillus flavus* (1 muestra) no mostraron resultados positivos en la PCR especie específica para *Aspergillus fumigatus* (Figura 2).

Perfil de Resistencia

Hongos levaduriformes

Las cepas de *Candida albicans* mostraron una alta sensibilidad a anidulafungina con un 98,4%, mientras que para micafungina y caspofungina un 100% de sensibilidad. Para voriconazol, el 95,1% fue sensible y el 4,9% intermedio, mientras que, para fluconazol, el 90,2% fue sensible, con algunos aislados mostrando resistencia o sensibilidad dosis dependiente (SDD). En *Candida tropicalis*, todas las cepas fueron sensibles a las equinocandinas. Sin embargo, para voriconazol, el 75% fue sensible y el 25% resistente, y el

81,3% fue sensible a fluconazol, con el resto mostrando sensibilidad dosis dependiente. Las cepas de *Candida glabrata* también fueron sensibles a las equinocandinas y presentaron sensibilidad dosis dependiente al fluconazol, mientras que no se pudo categorizar la sensibilidad a voriconazol debido a la ausencia de puntos de corte. *Candida parapsilosis* mostró un solo aislado sensible a todos los antifúngicos probados, mientras que *Candida krusei* presentó un aislado resistente a las equinocandinas, sensible al voriconazol y con resistencia natural al fluconazol. Por último, *Candida auris* y *Geotrichum capitatum* no fueron categorizados debido a la falta de puntos de corte clínicos (Figura 3).

Se presentan los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de cinco antifúngicos (fluconazol, voriconazol, anidulafungina, micafungina y caspofungina) para diversas especies de *Candida* y *Geotrichum* (Tabla 1). Las medias geométricas de las concentraciones muestran una variabilidad en la efectividad de los antifúngicos según la especie. Fluconazol y voriconazol mostraron una amplia gama de eficacia, con valores más bajos en *Candida parapsilosis*, mientras que en *Candida auris* el fluconazol obtuvo concentraciones muy altas, pero para voriconazol se mantuvieron bajas, sin embargo, las concentraciones en general de estos dos antifúngicos fueron más altas frente a especies resistentes o menos susceptibles, como *Candida krusei* y *Candida glabrata*. Las equinocandinas mostraron una eficacia bastante uniforme en la mayoría de las especies de *Candida*, con concentraciones más altas frente a *Candida krusei*, una especie con resistencia intrínseca a estas clases de antifúngicos.

Hongos Filamentosos

Los resultados muestran variabilidad en la respuesta de los hongos a diferentes antifúngicos. En *Aspergillus fumigatus*,

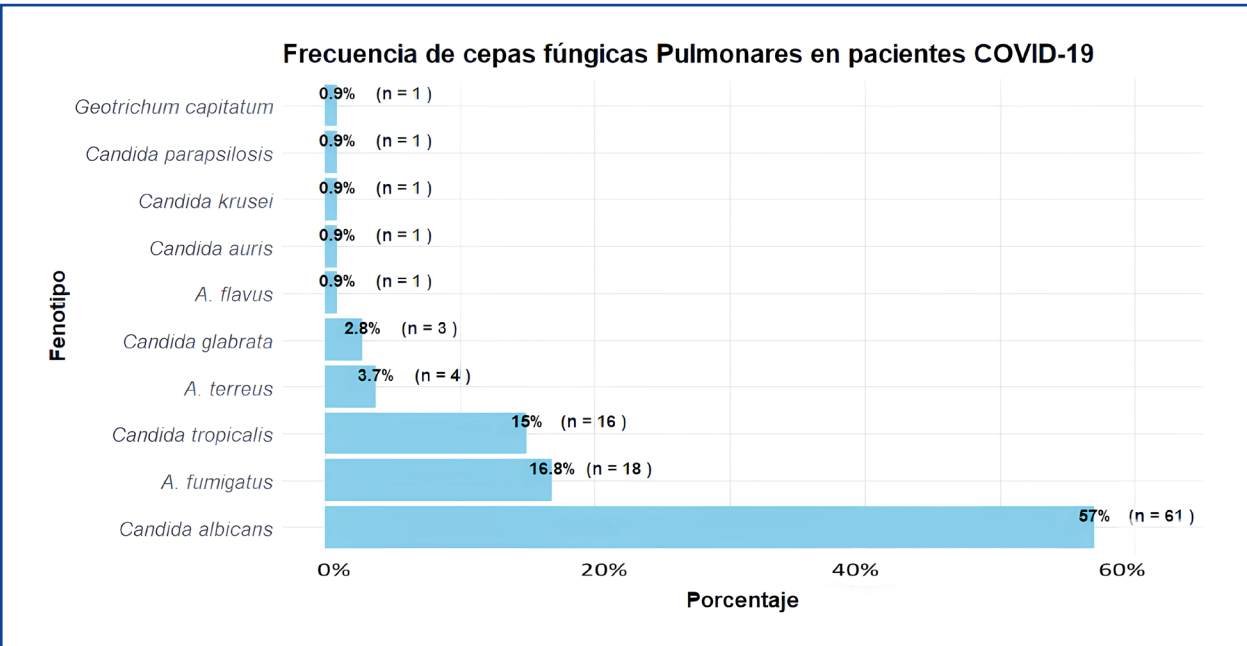


Figura 1. Distribución porcentual por género y especie de hongos relacionados con sobreinfecciones/colonizaciones pulmonares en pacientes con COVID-19.

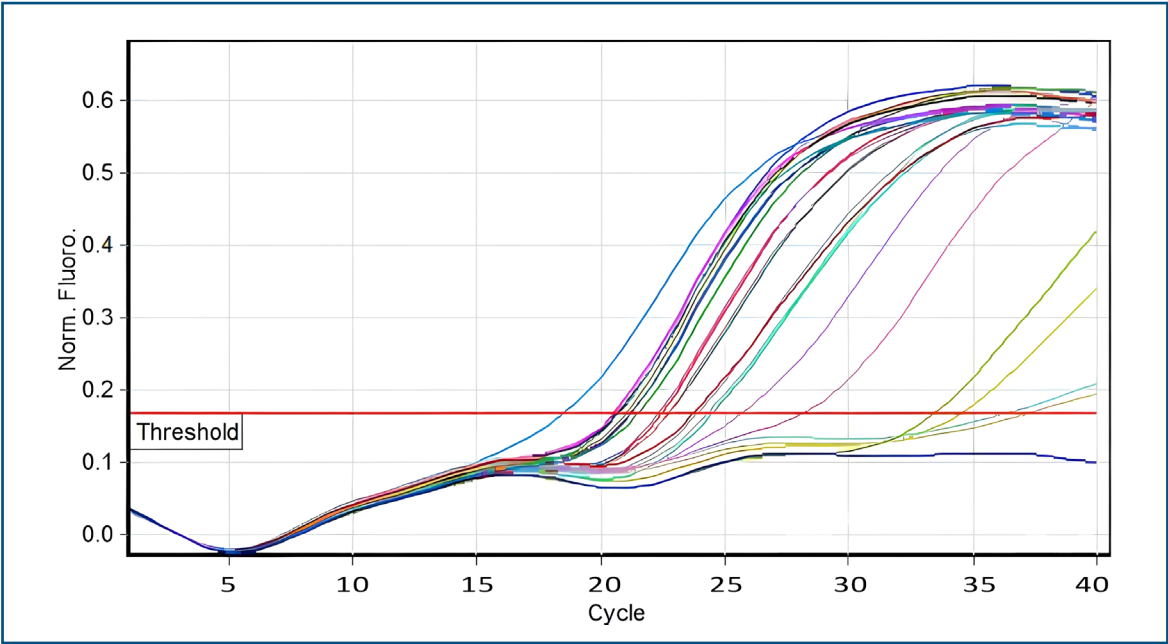


Figura 2. Identificación de *Aspergillus fumigatus* 'Sensu Stricto' mediante PCR en Tiempo Real.

el 77,8% de las cepas fueron sensibles a voriconazol, mientras que el 16,7% presentó resistencia intermedia y el 5,6% resistencia. Los demás antifúngicos como itraconazol, caspofungina y anfotericina B se clasificaron en función de si las cepas eran salvajes (WT) o no salvajes (NWT). En *Aspergillus terreus*, todas las cepas fueron clasificadas como cepas salvajes para voriconazol, itraconazol y anfotericina B, pero caspofungina mostró una mayor proporción de cepas no salvajes. En *Aspergillus flavus*, todas las cepas fueron categorizadas como salvajes para voriconazol e itraconazol, mientras que caspofungina y anfotericina B fueron no salvajes (Figura 4).

Los resultados muestran la concentración mínima inhibitoria (CMI) de cuatro antifúngicos para diversas especies de *Aspergillus*. Voriconazol es más eficaz contra *Aspergillus flavus*, con una efectividad moderada en *Aspergillus terreus* y *Aspergillus fumigatus*. Itraconazol presenta alta efectividad en *Aspergillus flavus* y *Aspergillus terreus*, y moderada en *Aspergillus fumigatus*. Caspofungina muestra una eficacia más baja en *Aspergillus flavus* y *Aspergillus terreus*, pero mayor efectividad contra *Aspergillus fumigatus*. Anfotericina B tiene una eficacia reducida en *Aspergillus flavus* y *Aspergillus terreus*, y una efectividad intermedia en *Aspergillus fumigatus* (Tabla 2).

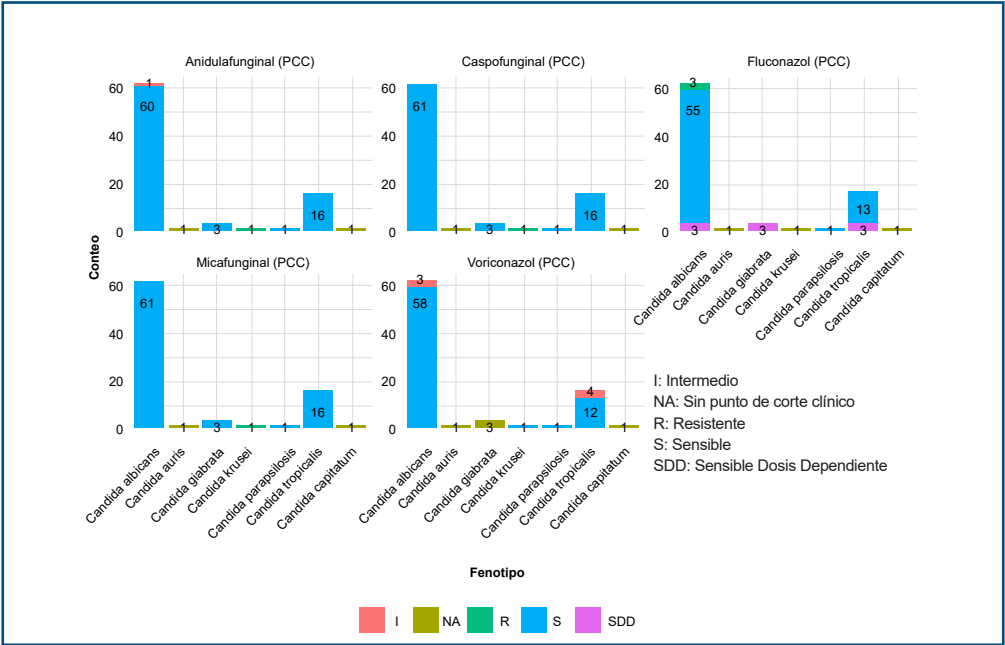


Figura 3. Distribución de cepas por categoría de susceptibilidad según los valores de referencia para hongos levaduriformes.

Tabla 1. Medias geométricas de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los antifúngicos (µg/mL) en relación con diversas especies de hongos levaduriformes.

Antifúngico / Fenotipo	FZ	VOR	AND	MF	CAS
<i>Candida albicans</i>	1,213	0,268	0,022	0,081	0,063
<i>Candida auris</i>	32,000	0,015	0,015	0,008	0,030
<i>Candida glabrata</i>	5,040	0,825	0,038	1,500	0,120
<i>Candida krusei</i>	8,000	0,120	1,000	2,000	1,000
<i>Candida parapsilosis</i>	1,000	1,500	0,250	0,500	0,250
<i>Candida tropicalis</i>	1,610	0,219	0,034	0,074	0,011
<i>Geotrichum capitatum</i>	16,00	0,250	0,500	0,250	0,250

(*) FZ: Fluconazol, VOR: Voriconazol, AND: Anidulafungina, MF: Micafungina, CAS: Caspofungina

Discusión

En nuestra investigación, la especie *Candida albicans* fue la más frecuente, representando el 73,5% de los casos,

lo cual concuerda con estudios previos que identificaron a *C. albicans* como el agente predominante en infecciones fúngicas asociadas al COVID-19 [18]. Sin embargo, también se observó una considerable diversidad de especies, lo que refleja la complejidad de las infecciones por levaduras en estos pacientes. *C. tropicalis* fue detectada en un 19,3% de los casos, y se encontraron casos aislados de *C. auris*, *C. glabrata*, *C. krusei* y *C. parapsilosis*, lo que subraya la necesidad de un enfoque diagnóstico completo y personalizado [11]. En comparación con otros estudios, como el de Shirvani & Fattahi, en el que *C. albicans* representó el 96% de las infecciones pulmonares asociadas al COVID-19, nuestros hallazgos coinciden parcialmente al identificar también *C. parapsilosis* en menor proporción [6]. Además, al comparar con un estudio realizado en pacientes con COVID-19 en ventilación mecánica, nuestros resultados son consistentes con la predominancia de *C. albicans* (79,7%) como agente fúngico principal en estos pacientes críticos [19].

El análisis comparativo con otros estudios, como el realizado en Irán, muestra una menor frecuencia de *C. albicans* (39,5%) en comparación con nuestro estudio, lo que podría deberse a diferencias en las metodologías de muestreo [20]. El estudio iraní incluyó pacientes críticos con COVID-19, pero también reportó algunos aislamientos de pacientes no infectados con COVID, mientras que nuestro estudio se centró exclusivamente en pacientes críticos con

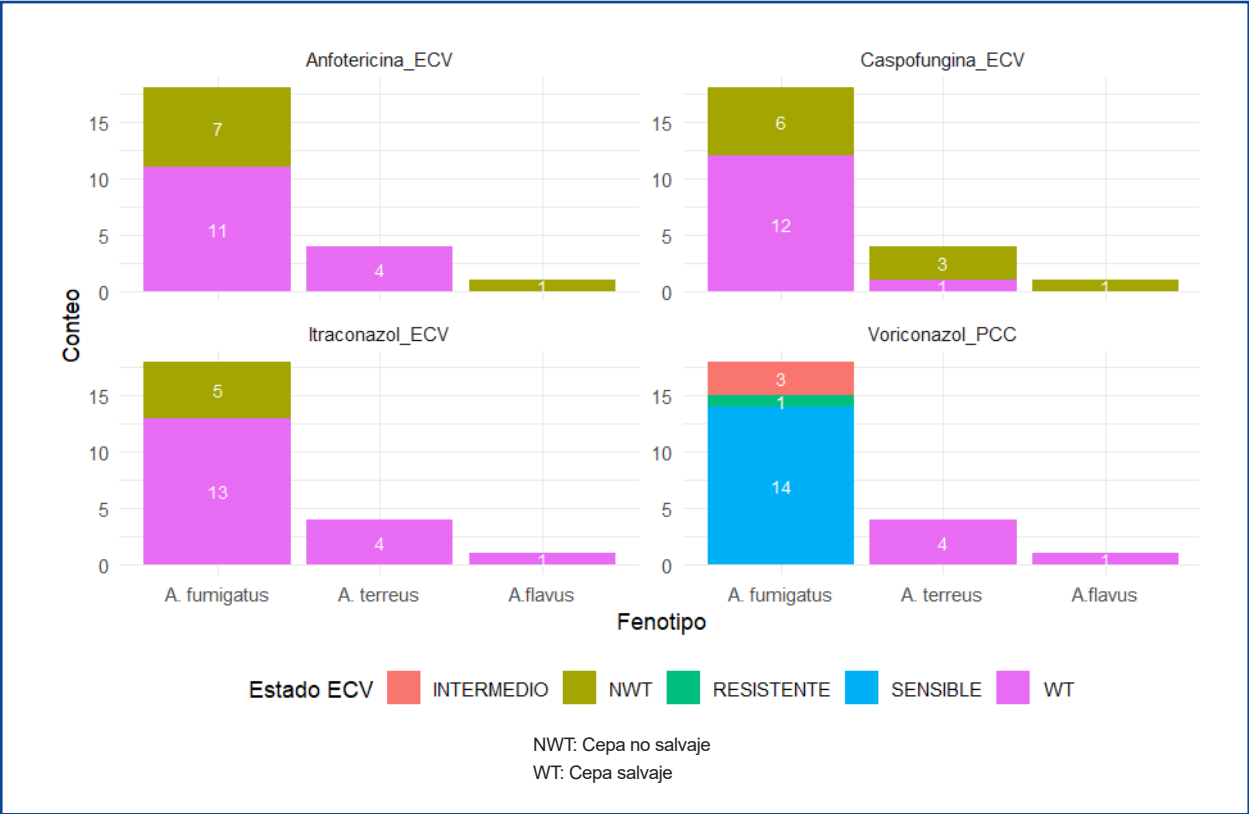


Figura 4. Cantidad de cepas clasificadas según las categorías interpretativas basadas en los puntos de corte epidemiológicos (ECV) y puntos de cortes clínicos para hongos filamentosos.

Tabla 2. Medias geométricas de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los antifúngicos (µg/mL) en relación con diversas especies de hongos filamentosos.

Antifúngico / Fenotipo	VOR	IZ	CAS	AB
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0,411	0,159	0,193	1,260
<i>Aspergillus terreus</i>	0,354	0,025	1.980	1,000
<i>Aspergillus flavus</i>	0,120	0,015	8,000	4,000
(*) FZ: Fluconazol, IZ: Itraconazol, CAS: Caspofungina, AB: Anfotericina B				

COVID-19, esta diferencia en la población estudiada podría influir en la diversidad de especies identificadas.

En cuanto a la aparición de *C. auris* y *Geotrichum capitatum*, ambos agentes fueron encontrados en casos aislados, reflejando la creciente importancia de estos patógenos emergentes, especialmente *C. auris*, que es conocido por su alta resistencia a antifúngicos y su capacidad de transmisión nosocomial. Esto resalta la necesidad de vigilancia intensificada para su diagnóstico, tal como lo indican otros estudios [21][22].

En cuanto a los hongos filamentosos, observamos que *Aspergillus fumigatus* fue el agente más prevalente, con un 78,3% de los casos, seguido por *Aspergillus terreus* (17,4%) y *Aspergillus flavus* (4,3%). Estos hallazgos son coherentes con la literatura existente que reporta a *A. fumigatus* como el principal agente responsable de aspergilosis en pacientes con COVID-19 [21]. La prevalencia de *A. fumigatus* refleja su capacidad para colonizar los pulmones de pacientes inmunocomprometidos y en aquellos con dispositivos invasivos. En comparación con un estudio reciente realizado en pacientes con COVID-19, en el que *A. fumigatus* representó el 80,3% de las infecciones, nuestros hallazgos son similares en cuanto a la predominancia de esta especie [23].

El estudio de Wang *et al.* (2024) documentó *A. terreus* en un 4,65% de los casos, lo que coincide parcialmente con nuestra observación de un 17,4%. *A. terreus* es conocido por su resistencia intrínseca a ciertos antifúngicos, lo que podría explicar su notable presencia en infecciones secundarias en nuestro estudio [24]. De este modo, la identificación de *A. terreus* en pacientes con COVID-19 subraya la importancia de considerar la diversidad fenotípica y los perfiles de resistencia en el manejo de infecciones pulmonares invasivas.

En cuanto a la susceptibilidad antifúngica, se observó que *C. krusei* y *C. glabrata* y *C. auris* presentan una baja

susceptibilidad a fluconazol, con concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) elevadas. La única *Candida auris* aislada reflejó una CMI de 32 µg/mL indicando una resistencia al igual que lo descrito en el primer reporte de esta cepa en el Perú [25]. *C. krusei*, en particular, mostró una CMI de 8,0 µg/mL, lo que indica una resistencia significativa. Esta resistencia es consistente con otros estudios que reportan CMI ≥32 µg/mL para *C. albicans* y CMI ≥16 µg/mL para *C. glabrata* en el contexto de infecciones asociadas al COVID-19 [6][19], sin embargo, en comparación con otros estudios internacionales, nuestros valores de CMI para *C. albicans* y *C. parapsilosis* fueron relativamente bajos, lo que sugiere una mayor susceptibilidad a los antifúngicos en nuestra muestra. Estos hallazgos coinciden con estudios en los que se documenta una mayor eficacia de fluconazol en *C. albicans* y *C. parapsilosis* [26][27].

El voriconazol mostró una CMI relativamente baja para la mayoría de las especies de *Candida*, en particular para *C. krusei* y *C. tropicalis*, lo que refleja una buena actividad de este antifúngico en estas especies, similar a lo que se reporta en otras investigaciones internacionales [6][19]. Por otro lado, *C. parapsilosis* presentó una CMI más elevada para voriconazol (2,18 µg/mL), lo que sugiere una mayor resistencia en esta especie, en línea con otros estudios que reportan variabilidad en la respuesta a este fármaco [28].

La anidulafungina mostró una efectividad general más alta en comparación con fluconazol y voriconazol, con CMI promedio más bajas para *C. auris*, *C. albicans* y *C. glabrata*, lo que refuerza su papel como un tratamiento eficaz para infecciones por *Candida* en pacientes con COVID-19. Esto coincide con estudios previos que documentan una eficacia de la anidulafungina similar a la observada en nuestro estudio [27].

En lo que respecta a los hongos filamentosos, observamos que la susceptibilidad a antifúngicos varió significativamente entre las especies de *Aspergillus*. *A. fumigatus* presentó una CMI promedio de 0,411 µg/mL para voriconazol, lo que refleja una buena eficacia de este antifúngico frente a esta especie. Estos resultados son similares a los reportados en otros estudios, donde se observa una buena actividad de voriconazol contra *A. fumigatus* [11][29]. Sin embargo, la presencia de resistencia a itraconazol en algunas cepas de *A. fumigatus* sugiere que la selección de antifúngicos debe basarse en pruebas de susceptibilidad específicas, ya que este medicamento muestra variabilidad en su efectividad dependiendo de la cepa.

Itraconazol demostró alta eficacia frente a *A. flavus* y *A. terreus*, con CMIs de 0,015 µg/mL y 0,025 µg/mL, respectivamente. Estos valores son similares a los reportados en otros estudios internacionales, aunque con algunas variaciones en función de las cepas de *A. fumigatus*.

Por otro lado, caspofungina mostró una eficacia más baja frente a *A. flavus* y *A. terreus* (8 µg/mL y 1,98 µg/mL), pero fue más efectiva contra *A. fumigatus*, con una CMI de 0,193 µg/mL, lo que refuerza su utilidad en infecciones por este hongo [15][30]. Sin embargo, se han documentado resistencia a caspofungina en *A. fumigatus*, lo que resalta la necesidad de monitoreo continuo en pacientes críticos.

Anfotericina B, aunque generalmente efectiva, mostró una CMI elevada en algunas especies como *A. flavus* (4 µg/mL) y *A. terreus* (1 µg/mL), lo que sugiere que la eficacia de este antifúngico puede ser limitada frente a ciertos hongos filamentosos.

En general, nuestros resultados coinciden con los encontrados en estudios internacionales sobre la susceptibilidad de *Aspergillus* a diversos antifúngicos, aunque las variaciones observadas en las concentraciones mínimas inhibitorias (CMIs) podrían estar relacionadas con factores locales, como la geografía y las cepas específicas estudiadas.

Las fortalezas incluyen la identificación exhaustiva de especies fúngicas en pacientes con COVID-19, la comparación de métodos microbiológicos y moleculares para asegurar la precisión de los diagnósticos, y un análisis detallado de la susceptibilidad antifúngica, que proporciona información valiosa para el tratamiento, mientras que las limitaciones fueron que para la obtención de los datos clínicos solo se contaba con fichas de vigilancia clínico-epidemiológica, sin acceso a historias clínicas completas lo que dificultó la diferenciación entre colonización y sobreinfección, complicando así el análisis de los aislamientos. Además, aunque se identifican diversas especies fúngicas, el estudio no incluye información específica sobre los desenlaces clínicos de los pacientes y la variabilidad en la disponibilidad de muestras a lo largo de la pandemia introdujo un sesgo temporal.

Conclusiones

Se identificaron varias especies de hongos, siendo *A. fumigatus* y *Candida albicans* las más frecuentes, aunque con una notable variabilidad en la presencia de otras especies, lo que resalta la importancia de considerar la diversidad fenotípica, mientras la identificación molecular de *Aspergillus fumigatus* mediante PCR en tiempo real y espectrometría de masas mostró una concordancia del 100%. En cuanto a la resistencia a los antifúngicos, las cepas de *C. albicans* demostraron alta sensibilidad a anidulafungina, micafungina y caspofungina, apoyando la efectividad de las equinocandinas como tratamiento. Sin embargo, cepas de *Candida tropicalis* mostró una mediana resistencia al fluconazol, lo que subraya la necesidad de estrategias de manejo específicas. Además, la variabilidad observada en especies de *Aspergillus*

destaca la importancia de un enfoque terapéutico personalizado, adaptado a la resistencia antifúngica y la especie involucrada.

Se recomienda implementar sistemas de monitoreo y protocolos de diagnóstico para evaluar regularmente los perfiles fenotípicos y de sensibilidad de las cepas fúngicas en entornos hospitalarios. Además, fomentar la capacitación continua del personal de laboratorio en la interpretación de resultados de pruebas de susceptibilidad y sugerir líneas de investigación futuras, como la exploración de nuevos antifúngicos o métodos de diagnóstico más rápidos.

Información complementaria

Contribuciones de los autores: **RPG:** Participó en la concepción y diseño del estudio, recolección de datos, obtención de resultados, análisis e interpretación de datos y redacción del manuscrito. **PGVV:** Participó en la concepción y diseño del estudio, en la revisión crítica del manuscrito y aprobación de versión final. **FCUA:** Participo en la revisión crítica del manuscrito, aprobación de su versión final y asesoría estadística. **OREM:** Participó en la revisión crítica del manuscrito, en la aprobación de su versión final y en la asesoría técnica y administrativa. **REAM:** Participó en la redacción del manuscrito, revisión crítica del manuscrito y aprobación de su versión final.

Fuente de financiamiento: Financiación propia.

Conflicto de interés: Declaran no tener conflicto de interés.

Agradecimientos: Agradecemos al Laboratorio de Referencia Nacional de Micología del Instituto Nacional de Salud por dar acceso al análisis de la data secundaria.

Disponibilidad de datos: Los datos no están disponibles ya que son de acceso restringido debido a acuerdos institucionales, en este caso pertenecen al Laboratorio de Referencia Nacional de Micología del Instituto Nacional de Salud.

REFERENCIAS

1. Palacios Cruz M, Santos E, Velázquez Cervantes MA, León Juárez M. COVID-19, a worldwide public health emergency. Rev Clín Esp (Barc). 2021 ;221(1):55–61. doi:10.1016/j.rceng.2020.03.001.
2. Buehler PK, Zinkernagel AS, Hofmaenner DA, Wendel Garcia PD, Acevedo CT, Gómez-Mejía A, et al. Bacterial pulmonary superinfections are associated with longer duration of ventilation in critically ill COVID-19 patients. Cell Reports Medicine. 2021;2(4):100229. doi:10.1016/j.xcrm.2021.100229.

3. Liu HH, Yaron D, Piraino AS, Kapelusznik L. Bacterial and fungal growth in sputum cultures from 165 COVID-19 pneumonia patients requiring intubation: evidence for antimicrobial resistance development and analysis of risk factors. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2021;20(1):69. doi:10.1186/s12941-021-00472-5.
4. Hughes S, Troise O, Donaldson H, Mughal N, Moore LSP. Bacterial and fungal coinfection among hospitalized patients with COVID-19: a retrospective cohort study in a UK secondary-care setting. *Clinical Microbiology and Infection.* 2020;26(10):1395–9. doi:10.1016/j.cmi.2020.06.025.
5. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *The Lancet.* 2020;395(10223):507–13. doi:10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
6. Shirvani F, Fattahi A. Pulmonary Candidiasis Associated with COVID-19: Evaluation of Causative Agents and their Antifungal Susceptibility Patterns. *Tanaffos.* 2021;20(1):29-35. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8355938/>
7. Zhu X, Ge Y, Wu T, Zhao K, Chen Y, Wu B, et al. Co-infection with respiratory pathogens among COVID-2019 cases. *Virus Research.* 2020;285:198005. doi:10.1016/j.virusres.2020.198005.
8. Bretagne S, Sitbon K, Botterel F, Dellièrre S, Letscher-Bru V, Chouaki T, et al. COVID-19-Associated Pulmonary Aspergillosis, Fungemia, and Pneumocystosis in the Intensive Care Unit: a Retrospective Multicenter Observational Cohort during the First French Pandemic Wave. *Cuomo CA, editor. Microbiol Spectr.* 2021;9(2):e01138-21. doi:10.1128/Spectrum.01138-21.
9. Mitaka H, Kuno T, Takagi H, Patrawalla P. Incidence and mortality of COVID-19-associated pulmonary aspergillosis: A systematic review and meta-analysis. *Mycoses.* 2021;64(9):993–1001. doi:10.1111/myc.13292.
10. Prattes J, Wauters J, Giacobbe DR, Salmanton-García J, Maertens J, Bourgeois M, et al. Risk factors and outcome of pulmonary aspergillosis in critically ill coronavirus disease 2019 patients—a multinational observational study by the European Confederation of Medical Mycology. *Clinical Microbiology and Infection.* 2022;28(4):580–7. doi:10.1016/j.cmi.2021.08.014.
11. Koehler P, Cornely OA, Böttiger BW, Dusse F, Eichenauer DA, Fuchs F, et al. COVID-19 associated pulmonary aspergillosis. *Mycoses.* 2020;63(6):528–34. doi:10.1111/myc.13096.
12. Vitale RG, Afeltra J, Seyedmousavi S, Giudicessi SL, Romero SM. An overview of COVID-19 related to fungal infections: what do we know after the first year of pandemic? *Braz J Microbiol.* 2022;53(2):759–75. doi:10.1007/s42770-022-00704-6.
13. Moya-Salazar J, Sauñe SS, Valer R, Salazar-Hernandez R, Loza W, Suxe E, et al. Fungal, parasitological, and bacterial coinfection in a severely ill COVID-19 patient in Peru. *Clinical Case Reports.* 2022;10(2). doi:10.1002/ccr3.5395.
14. Rabagliati R, Rodríguez N, Núñez C, Huete A, Bravo S, García P. COVID-19–Associated Mold Infection in Critically Ill Patients, Chile. *Emerg Infect Dis.* 2021;27(5):1454–6. doi:10.3201/eid2705.204412.
15. Fernandez NB, Caceres DH, Beer KD, Irrazabal C, Delgado G, Farias L, et al. Ventilator-associated pneumonia involving *Aspergillus flavus* in a patient with coronavirus disease 2019 (COVID-19) from Argentina. *Medical Mycology Case Reports.* 2021;31:19–23. doi:10.1016/j.mmcr.2020.07.001.
16. Fekkar A, Lampros A, Mayaux J, Poignon C, Demeret S, Constantin J-M, et al. Occurrence of Invasive Pulmonary Fungal Infections in Patients with Severe COVID-19 Admitted to the ICU. *Am J Respir Crit Care Med.* 2021;203(3):307–17. doi:10.1164/rccm.202009-3400OC.
17. Das P, Pandey P, Harishankar A, Chandy M, Bhattacharya S, Chakrabarti A. Standardization of a Two-step Real-time Polymerase Chain Reaction Based Method for Species-specific Detection of Medically Important *Aspergillus* Species. *Indian Journal of Medical Microbiology.* 2017;35(3):381–8. doi:10.4103/ijmm.IJMM_17_190.
18. White L, Dhillon R, Cordey A, Hughes H, Faggian F, Soni S, et al. A National Strategy to Diagnose COVID-19 Associated Invasive Fungal Disease in the ICU. *SSRN Journal.* 2020; doi:10.2139/ssrn.3644400.
19. Erami M, Raiesi O, Momen-Heravi M, Getso MI, Fakhrehi M, Mehri N, et al. Clinical impact of *Candida* respiratory tract colonization and acute lung infections in critically ill patients with COVID-19 pneumonia. *Microbial Pathogenesis.* 2022;166:105520. doi:10.1016/j.micpath.2022.105520.
20. Rouhi F, Soltani S, Sadeghi S, Nasri E, Hosseini M, Ghafel S, et al. Yeast species in the respiratory samples of COVID-19 patients; molecular tracking of *Candida auris*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2024;14:1295841. doi:10.3389/fcimb.2024.1295841.
21. Alanio A, Dellièrre S, Fodil S, Bretagne S, Mégarbane B. Prevalence of putative invasive pulmonary aspergillosis in critically ill patients with COVID-19. *The Lancet Respiratory Medicine.* 2020;8(6):e48–9. doi:10.1016/S2213-2600(20)30237-X.
22. Selvan K, Mutlu G. Geotrichum infection in an immunocompetent host with SARS-CoV-2 infection. *Tuberk Toraks.* 2021;69(3):421–4. doi:10.5578/tt.20219717.
23. Salmanton-García J, Sprute R, Stemler J, Bartoletti M, Dupont D, Valerio M, et al. COVID-19–Associated Pulmonary Aspergillosis, March–August 2020. *Emerg Infect Dis.* 2021;27(4):1077–86. doi:10.3201/eid2704.204895.
24. Wang Y, Yao Y, Zhang Q, Chen H, He Y, Hu K. Clinical courses and outcomes of COVID-19 associated pulmonary aspergillosis in 168 patients with the SARS-CoV-2 omicron variant. *BMC Infect Dis.* 2024;24(1):117. doi:10.1186/s12879-023-08971-w.
25. Yagui-Moscoco M, Paucar-Miranda CJ, Sandoval-Ahumada RE, López-Martínez RL, Terrel-Gutierrez L, Zurita-Macalapu S, et al. Primer reporte de *Candida auris* en Perú. *An Fac med [Internet].* 2021 [citado el 19 de julio de 2022];82(1). doi:10.15381/anales.v82i1.20739
26. Kordalewska M, Guerrero KD, Garcia-Rubio R, Jiménez-Ortigosa C, Mediavilla JR, Cunningham MH, et al. Antifungal Drug Susceptibility and Genetic Characterization of Fungi Recovered from COVID-19 Patients. *J Fungi (Basel).* 2021;7(7):552. doi:10.3390/jof7070552.
27. Rodríguez L, Bustamante B, Huaroto L, Agurto C, Illescas R, Ramirez R, et al. A multi-centric Study of *Candida* bloodstream infection in Lima-Callao, Peru: Species distribution, antifungal resistance and clinical outcomes. *Coste AT, editor. PLoS ONE.* 2017;12(4):e0175172. doi:10.1371/journal.pone.0175172.
28. Arastehfar A, Shaban T, Zarrinfar H, Roudbary M, Ghazanfari M, Hedayati M-T, et al. Candidemia among Iranian Patients with Severe COVID-19 Admitted to ICUs. *J Fungi (Basel).* 2021;7(4):280. doi:10.3390/jof7040280.
29. Steenwyk JL, Mead ME, de Castro PA, Valero C, Damasio A, dos Santos RAC, et al. Genomic and Phenotypic Analysis of COVID-19-Associated Pulmonary Aspergillosis Isolates of *Aspergillus fumigatus*. *Microbiol Spectr.* 2021;9(1):e00010-21. doi:10.1128/Spectrum.00010-21.
30. Sánchez Martín C, Madrid Martínez E, González Pellicer R, Armero Ibáñez R, Martínez González E, Llau Pitarch JV. Aspergillosis pulmonar invasiva en pacientes con síndrome de distrés respiratorio por COVID-19. *Revista Española de Anestesiología y Reanimación.* 2022;69(1):48–53. doi:10.1016/j.redar.2021.02.012.