

## Aportes del Laboratorio de Micología del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" al desarrollo de la especialidad en Cuba

### Contributions of the Mycology Laboratory at Pedro Kouri Tropical Medicine Institute to the development of the specialty in Cuba

Carlos Manuel Fernández Andreu, Gerardo Martínez Machín; Mayda Rosa Perurena Lancha, María Teresa Ilnait Zaragozí, Rosario Velar Martínez, Javier Luis San Juan Galán

Laboratorio de Micología, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). La Habana, Cuba.

---

#### RESUMEN

En el marco del 80 aniversario del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", se exponen en apretada síntesis, las actividades más relevantes en el campo del diagnóstico, la investigación y la docencia desarrolladas hasta el momento por el Laboratorio de Micología de la referida institución. A 38 años de su creación, este sigue siendo uno de los pocos lugares en Cuba que se desempeña en este campo y que se reconoce por los logros científico-técnicos alcanzados. Sin lugar a duda, estos responden básicamente al cuadro de salud nacional, sin descuidar el entorno regional y mundial. Todos los resultados que se exponen, se encuentran sustentados por más de 100 publicaciones y otras obras científicas, lo que avala la calidad y rigor del trabajo desplegado. Sirva este artículo para homenajear al fundador del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" y a todos los científicos que en el transcurso de estos años contribuyeron a engrandecer su nombre.

**Palabras clave:** Micología; micosis; diagnóstico de laboratorio de las micosis; histoplasmosis; criptococosis; candidiasis; dermatofitosis.

## ABSTRACT

In the framework of the 80<sup>th</sup> anniversary of Pedro Kouri Tropical Medicine Institute, a succinct presentation is provided of the most relevant activities in the fields of diagnosis, research and teaching so far performed by the Mycology Laboratory at the Institute. Thirty-eight years after its founding, the Laboratory continues to be one of the few places in Cuba devoted to this field and recognized for its scientific and technical achievements, which no doubt essentially respond to the national health status, without neglecting the regional and global environment. All the results presented are endorsed by over 100 publications and scientific works, which is evidence of the quality and rigor of the work done. May this paper be a tribute to the founder of Pedro Kouri Tropical Medicine Institute and all the scientists who have brought prestige to its name throughout these years.

**Keywords:** mycology; mycosis; mycosis laboratory diagnosis; histoplasmosis; cryptococcosis; candidiasis; dermatophytosis.

---

## INTRODUCCIÓN

El Laboratorio de Micología del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK) fue creado en 1979, a partir de la reorganización llevada a cabo en esta institución por orientación del Comandante en Jefe Fidel Castro, en 1978.

Hasta ese momento el diagnóstico de las micosis se había realizado en la capital del país de manera limitada en importantes instituciones asistenciales como el Hospital General "Calixto García", el Hospital "Manuel Fajardo" y el Hospital Militar "Dr. Carlos J. Finlay". Anteriormente no existía un laboratorio en el Instituto de Medicina Tropical dedicado al diagnóstico o las investigaciones relacionadas con las enfermedades causadas por hongos. Tampoco había antecedentes en el Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología (INHEM), institución precursora de los estudios de la Microbiología en Cuba.

Con el desarrollo del propio laboratorio en las nuevas instalaciones del IPK y mediante la capacitación del personal en instituciones nacionales y extranjeras de alto nivel científico, el trabajo se fue diversificando y profundizando. El objetivo del presente manuscrito es exponer de manera resumida, las actividades más relevantes llevadas a cabo en el Laboratorio de Micología, como parte del Laboratorio Nacional de Referencia de Microbiología del IPK, en la docencia, el diagnóstico, la referencia y las investigaciones en el campo de la Micología Médica desde su creación hasta el presente.

## INVESTIGACIONES

Las primeras tareas de investigación llevadas a cabo, a partir de 1980, estuvieron relacionadas con dos de las micosis de mayor impacto social para el país: las dermatofitosis y la histoplasmosis.

---

## DERMATOFITOSIS

Las dermatofitosis o tiñas son micosis cutáneas causadas por diferentes especies de hongos, llamados dermatofitos, pertenecientes a los géneros *Epidermophyton*, *Microsporum* y *Trichophyton*, que tienen una especial afinidad por todos los tejidos queratinizados del hombre y de los animales. Aunque no se consideran micosis graves, su prevalencia es elevada en todo el mundo, particularmente en países de clima cálido y húmedo. Pueden ser transmitidas por contacto directo, a partir del suelo o la tierra al hombre, del animal al hombre o por contacto interhumanos.<sup>1</sup>

Entre los trabajos realizados por el Laboratorio de Micología del IPK (LMIPK) en esa primera etapa estuvo la identificación de posibles fuentes de infección por dermatofitos, teniendo en cuenta las tres categorías ecológicas en que habitualmente se agrupan. Entre las especies geofílicas encontradas, en muestras de tierra de diferentes regiones del país, se identificó *Microsporum gypseum* como la más prevalente, lo que coincide con numerosos reportes de diversas partes del mundo; otras especies como *Trichophyton terrestre* y *T. mentagrophytes* fueron encontradas en proporciones muy bajas.<sup>2</sup>

En otro estudio realizado en una muestra de perros callejeros se aisló *Microsporum canis*, tanto a partir de lesiones clínicas como de animales aparentemente sanos; este permitió confirmar la importancia de dichos animales en la transmisión zoonótica de las tiñas, particularmente en niños.<sup>3</sup> También de importancia zoonótica fue la identificación temprana de brotes epidémicos de dermatofitosis en animales de laboratorio y su posterior control; en estos casos fue identificada la especie *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes*, una especie zoofílica con un amplio rango de hospederos animales, incluyendo al hombre.<sup>4</sup>

Se demostró también la existencia de un bajo porcentaje (1,3 %) de niños portadores sanos de dermatofitos (a nivel de cuero cabelludo), lo que constituye un elemento a tener en cuenta en la epidemiología de estas infecciones. Las especies aisladas en este estudio fueron *M. canis* (zoofílica) y *M. gypseum* (geofílica).<sup>5</sup>

En los estudios realizados en pacientes con dermatofitosis, las especies encontradas con mayor frecuencia fueron *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* y *E. floccosum*,<sup>6,7</sup> lo que coincide con los resultados de otros autores.<sup>1</sup>

Más recientemente, en otro estudio realizado por nuestro grupo de trabajo entre jóvenes deportistas, se demostró la frecuencia de *tinea pedis* y *tinea corporis*, causadas por las mismas especies antes mencionadas.<sup>8</sup>

## HISTOPLASMOSIS

Reportada por primera vez en Cuba en 1951, la histoplasmosis es causada por *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* y es la micosis profunda más importante en el país, por lo que evidentemente su estudio y abordaje integral debía estar entre las prioridades del IPK.<sup>9</sup>

Está considerada una micosis de gran impacto social en Cuba y en amplias regiones del continente americano, no solo por su carácter endémico sino también por su frecuente forma de presentación (como brotes epidémicos, afectando a grupos de individuos expuestos a una fuente común), por su vinculación con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y por ser considerada, en muchos países, incluyendo Cuba, una enfermedad ocupacional.<sup>9</sup> Mas recientemente por la frecuente

aparición de brotes epidémicos entre turistas fue incluida en el llamado libro amarillo de las enfermedades del viajero.<sup>1,10</sup>

**Focos naturales (micosis endémica):** Entre las primeras tareas de investigación realizadas por el LMIPK, se llevó a cabo la búsqueda e identificación de posibles focos naturales de histoplasmosis en Cuba. El protocolo desarrollado permitió confirmar la presencia de *H. capsulatum* en el 59 % de las cuevas estudiadas, fundamentalmente de la región occidental. En todos los casos, se trataba de cuevas habitadas por murciélagos, con interés turístico, ecológico, espeleológico o de algún valor socioeconómico. También se demostró su presencia, aunque con mucho menos frecuencia, en gallineros domésticos y en un espacio abierto con presencia de guano de murciélagos. Estos últimos hallazgos deben servir de alerta sobre aspectos de la ecología de *H. capsulatum* nunca antes informados en el país y cuyo valor epidemiológico es evidente. Estos resultados confirman que los sitios con acumulación de excretas de murciélagos constituyen el principal nicho natural de este hongo en Cuba, lo que coincide con lo reportado en muchas otras latitudes.<sup>11,12</sup>

**Histoplasmosis animal:** Al estudiar posibles áreas endémicas, además de la búsqueda del agente causal en sustratos abióticos, resulta de gran utilidad realizar el aislamiento a partir de especies animales o vegetales que pudieran servir de hospederos o vectores. En el caso de la histoplasmosis, aunque ha sido reportada en numerosas especies de mamíferos, en hábitats muy diversos, el grupo zoológico más asociado a ella es el de los quirópteros. El 24 % de los murciélagos analizados, pertenecientes a cuatro especies, estaban infectados con *H. capsulatum* y se reafirma la importancia de los quirópteros en la ecología de este hongo en Cuba.<sup>12,13</sup>

**Brotos epidémicos (histoplasmosis ocupacional):** Aunque la histoplasmosis puede presentarse como casos clínicos esporádicos, su presentación más frecuente en nuestro país es en forma de brotes epidémicos ocurridos por la exposición de un grupo de personas a una fuente común con altas concentraciones de conidios.<sup>14</sup> Las actividades más relacionadas con estos brotes son las visitas a cuevas con objetivos muy diversos, la limpieza de locales, demolición de edificios, remoción o limpieza de gallineros y aviarios, con la consiguiente generación de aerosoles cargados de las partículas infectantes del hongo. Estas epidemias han sido reportadas mayoritariamente en países del continente americano, incluyendo a Cuba, y en viajeros que visitan estas áreas geográficas.<sup>15</sup>

El primer brote epidémico, reportado por nuestro grupo, estuvo relacionado con la realización de actividades de campo en un equipo de investigadores vinculados a la ecología de los arbovirus y se comportó como un típico brote de histoplasmosis, confirmado con el aislamiento e identificación del agente causal a partir de muestras clínicas de los pacientes y de muestras de tierra procedentes de la cueva visitada.<sup>16</sup>

A solicitud de las autoridades de salud se estudiaron otros brotes epidémicos, algunos de los cuales estuvieron relacionados con actividades laborales o recreativas diversas, todos en la antigua provincia de La Habana (hoy Artemisa y Mayabeque) que tuvieron en común la realización de una intensa y continuada actividad física, con la consiguiente generación de aerosoles, sin medios de protección, en cuevas habitadas por murciélagos.<sup>17</sup>

Otro estudio más reciente permitió describir las principales manifestaciones clínico-epidemiológicas y confirmar la fuente de infección de un grupo de nueve pacientes. Al igual que los anteriores, este brote también se consideró de tipo ocupacional. Este es el primer estudio que utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR,

por sus siglas en inglés) para el diagnóstico de la histoplasmosis epidémica, así como para la identificación y caracterización molecular de su agente etiológico en Cuba.<sup>18,19</sup>

Estos trabajos permitieron establecer una metodología para el estudio integral de los brotes de histoplasmosis, la cual incluye el diagnóstico clínico, epidemiológico, micológico y serológico y el aislamiento del agente etiológico de las fuentes de infección, así como las medidas de control necesarias.<sup>12</sup>

**Micosis oportunista marcadora de sida:** La histoplasmosis está considerada una infección marcadora de sida desde 1987. Numerosos reportes recientes la confirman como una de las infecciones oportunistas más importantes en la región de América Latina y el Caribe, donde causa unas 10 000 muertes al año, más que la tuberculosis, en este grupo de pacientes.<sup>20</sup> En Cuba, los primeros casos de histoplasmosis en pacientes infectados por el VIH fueron reportados en los primeros años de la década de los 90 del siglo pasado, desde entonces, esta micosis se presenta como una de las más importantes por su relativa frecuencia y severidad en los pacientes cubanos con sida.<sup>9</sup>

En uno de los trabajos realizados por el LMIPK se hizo una caracterización clínica de doce pacientes con diagnóstico de histoplasmosis diseminada progresiva: todos presentaron fiebre y la hepatomegalia estuvo presente en el 92 %. Fueron comunes también la astenia, la pérdida de peso, la anorexia, así como las adenopatías cervicales y axilares. En piel y mucosas se presentaron lesiones vesiculo-pustulosas de coloración violácea, no pruriginosas que en ocasiones llegaban a ulcerarse y podían cubrir todo el cuerpo (58 %). El exudado obtenido a partir de las lesiones mucocutáneas fue de gran utilidad diagnóstica, tanto mediante el examen microscópico de frotis coloreados como por el cultivo. La esplenomegalia y los síntomas respiratorios se presentaron en el 50 % de los casos.<sup>21</sup>

El laboratorio desempeñó un papel fundamental en la confirmación del diagnóstico mediante el aislamiento e identificación de *H. capsulatum* mediante la prueba de exoantígenos.<sup>22</sup> Las pruebas serológicas son de utilidad en el diagnóstico de la histoplasmosis en pacientes inmunocompetentes; sin embargo, su sensibilidad fue de 33 % en los pacientes con VIH.<sup>23</sup>

Los métodos moleculares presentan potencialidades en el diagnóstico y la caracterización de los aislados, pero los ensayos actuales no han sido aprobados para su uso clínico.<sup>24</sup> En este sentido, en el LMIPK se han desarrollado variantes de PCR que permiten el diagnóstico de casos clínicos.<sup>18</sup>

A partir de la extensión de la pandemia de sida, se hizo necesario profundizar en los estudios relacionados con otras dos micosis marcadoras de esta enfermedad: criptococosis y candidiasis.

#### CRIPTOCOCOSIS

A pesar de la expansión de la terapia antirretroviral altamente efectiva (en pacientes infectados por el VIH) la prevalencia de la criptococosis se mantiene inaceptablemente elevada, en especial en los países de medianos y bajos ingresos. En Cuba, a partir de 1986 con la aparición del sida, el número de pacientes afectados por esta micosis se incrementó hasta alcanzar cifras entre 10 y 25 casos anuales<sup>25</sup> (Fig.).

La elevada morbimortalidad ocasionada por esta micosis motivó el desarrollo de más de una treintena de investigaciones en el LMIPK con vistas a esclarecer aspectos claves que permitieran prevenir la infección, así como mejorar el pronóstico y calidad de vida de los pacientes afectados. A continuación se resumen las temáticas abordadas más relevantes.

**Agente causal de la criptococosis en Cuba:** En la actualidad se identifican siete especies pertenecientes al complejo de especies *Cryptococcus neoformans/Cryptococcus gattii*, no obstante, en este contexto manejaremos la nomenclatura empleada en los trabajos de referencia.<sup>26</sup>

Los estudios de aislados recuperados tanto de muestras clínicas como de fuentes naturales (excretas de palomas y detritos vegetales) sugieren que el principal agente causal de la criptococosis en Cuba es la especie *C. neoformans* ser. A.<sup>25,27</sup> La caracterización molecular de los mismos indica que en su mayoría se trata del tipo AFLP1, apareamiento alfa y que al parecer existe marcada segregación entre los aislados clínicos y ambientales.<sup>28,29</sup> Hasta el momento se han recuperado dos aislados de *C. gattii* (AFLP 4 y AFLP5) los cuales corresponden a casos importados.<sup>30-32</sup>

**Desarrollo y evaluación de métodos diagnósticos:** La disponibilidad de métodos diagnósticos confiables de manera regular motivó el desarrollo de varios estudios en el LMIPK. Entre ellos la producción y evaluación de antígenos y anticuerpos específicos, así como de diversos sistemas diagnósticos. La detección de antígeno mediante aglutinación al látex jugó un papel importante en la sostenibilidad del diagnóstico rápido de la infección en Cuba.<sup>33</sup>

**Susceptibilidad a los antifúngicos:** Los resultados obtenidos en estos estudios han demostrado que la resistencia frente a los medicamentos de elección para el tratamiento de la criptococosis no parece ser un problema en Cuba.<sup>34,35</sup> De manera adicional, estos estudios permiten conocer las potencialidades de otras alternativas terapéuticas para el manejo de los pacientes afectados así como enriquecer con datos autóctonos los estudios multicéntricos con vistas a determinar los valores de corte frente a las diferentes especies.<sup>36</sup>

**Virulencia y patogenicidad:** En el LMIPK también se desarrollan investigaciones básicas que contribuyen al conocimiento de los mecanismos por los cuales se produce la enfermedad en el humano. El valor práctico de los mismos se traduce en la búsqueda de futuras opciones terapéuticas. Así por ejemplo, hoy se cuenta con un modelo murino de evaluación de candidatos; se conoce que los aislados ambientales, a pesar de su aparente segregación genética con relación a los de origen clínico, presentan potencialidades para ocasionar enfermedad y que la capacidad de respuesta de determinadas citoquinas favorecen la infección por cierto genotipo, así como la diseminación y gravedad del cuadro clínico, entre otros.<sup>37,38</sup>

**Ecología y epidemiología molecular:** Las investigaciones de campo para tratar de determinar las posibles fuentes de infección y con esto evitar la exposición de individuos susceptibles, también poseen su espacio en el estudio de la criptococosis en Cuba. Entre los sustratos más estudiados se encuentran las excretas de aves, en especial de palomas, así como detritos vegetales. Los análisis moleculares de los aislados recuperados de estas fuentes y los de origen clínico, brindan un panorama más cercano a la realidad sobre el nicho natural de *C. neoformans* y el papel patogénico de esta levadura.<sup>25,29-32,35</sup>

**Caracterización clínica de la enfermedad:** También se realizaron investigaciones que acumulan al menos un centenar de individuos y reportes de casos con características *sui generis*. De manera general, los estudios demuestran que las manifestaciones clínicas de los pacientes cubanos no difieren de lo que se reporta en el mundo. No obstante, de manera llamativa se diagnosticó la micosis en un número superior a lo esperado en niños y los informes de laboratorio clínico demuestran que la presencia de conteos de células dentro de límites normales no descartan la presencia de la infección criptocócica.<sup>32,39,40</sup> Estos hallazgos constituyen alertas importantes que contribuyen al diagnóstico oportuno de esta micosis y a mejorar la calidad de vida de los pacientes afectados.

La experiencia alcanzada por el personal del LMIPK en este campo trasciende las fronteras del mismo. Parte de los trabajos publicados son producto del trabajo colaborativo con laboratorios de otros países, a la vez que Cuba brinda asesoría a países de Latinoamérica.<sup>41</sup>

## CANDIDIASIS

El periodo de mayor interés en la historia de las infecciones por *Candida* comenzó en la década de 1940, con el uso generalizado de los antibióticos. Desde entonces ha aumentado de forma abrupta la incidencia de casi todas las formas de presentación de candidiasis; no obstante, la candidiasis vaginal, la oral y la invasiva son las que más se destacan. Los trabajos de investigación en el LMIPK se han basado en el estudio de estas formas clínicas y sus respectivos agentes en nuestras condiciones.

### **Caracterización de aislados recuperados de candidiasis vulvovaginal:**

Fueron determinados los morfotipos de diferentes especies del género, en particular de *Candida albicans*<sup>42</sup> y se llevó a cabo la diferenciación entre *C. albicans* y *C. dubliniensis* por métodos fenotípicos, lo que permitió, por primera vez en Cuba, identificar presuntivamente 13 aislados de esta última especie.<sup>43</sup> También se han abordado estudios de susceptibilidad a los antifúngicos más empleados en la terapia, utilizando el método del CLSI M-27A y algunos comerciales como el ATB Fungus 3.<sup>44,45</sup> Esta línea de investigación ha sido una de las más trabajadas con resultados significativos en torno a la información sobre aislados de *C. albicans* resistentes a los triazoles en Cuba. Desde hace algunos años, se acepta que hay una tendencia al incremento de la resistencia de esta especie al fluconazol y se ha demostrado que la mayoría de las levaduras con esta característica posteriormente desarrollan resistencia cruzada al itraconazol y al voriconazol.

**Caracterización de aislados recuperados de candidiasis oroesofágica:** Entre estos trabajos se destacan la utilización del agar Sabouraud trifeniltetrazolio para diferenciar los morfotipos, particularmente en *C. albicans*<sup>46</sup> y la determinación del serotipo de *C. albicans* en pacientes seropositivos al VIH. En un primer momento se estudiaron 210 aislados de *C. albicans* y resultó un marcado predominio del serotipo A (95,2 %), independientemente de la raza, el sexo y del sitio de procedencia del aislamiento.<sup>47</sup> Diez años más tarde, se realizó otro estudio similar con 44 aislados de *C. albicans*, de los cuales 16 pertenecieron al serotipo A (36,4 %) y 28 al serotipo B (63,6 %).<sup>48</sup> Otros estudios han abordado los aspectos clínicos, micológicos y terapéuticos en pacientes VIH y sida con candidiasis oral. También se han realizado estudios de identificación molecular y de susceptibilidad con evidencias de un bajo nivel de resistencia a los azoles. Entre estos se destaca la investigación de *Prieto Santa Anna* y otros en 2010, en la cual se analizó la correlación entre la susceptibilidad *in vitro* a la nistatina y la respuesta al tratamiento en pacientes con VIH.<sup>49</sup>

También se realizó un estudio clínico y microbiológico a 18 pacientes con sida y candidiasis oroesofágica. *C. albicans* fue la especie que más se aisló, con predominio del serotipo A. Se analizaron por la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida los perfiles proteicos de los 12 aislados de esta especie y se observó identidad en sus patrones de peso molecular, lo que sugirió que es la misma cepa la que se halla en la cavidad oral y en el esófago.<sup>50</sup>

**Caracterización de aislados recuperados de candidiasis sistémica:** La frecuencia de candidiasis producidas por otras especies diferentes de *C. albicans* (*C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* y *C. krusei*) ha aumentado en los últimos años, en parte porque se acepta su papel patogénico y se identifican con mayor interés; y por otro lado, muchos autores refieren que el uso indiscriminado de antimicóticos ha generado la presencia de especies que hasta hace algunos años no producían estos cuadros clínicos.<sup>1</sup>

La sistémica o diseminada es la forma más grave de presentación de la candidiasis. Durante el 2012, en el LMIPK se realizó el aislamiento e identificación de aislados de *Candida* que procedían de hemocultivos de 50 pacientes con sospecha de candidiasis invasiva (adultos y niños). Los factores de riesgo que más incidieron para desarrollar una candidiasis invasiva fueron la antibioticoterapia previa y el uso de catéter venoso central. Se observó una resistencia del 4 % frente al itraconazol, del 2 % frente al ketoconazol y 6 % de susceptibilidad intermedia al fluconazol. *C. guilliermondii* presentó los valores más altos de CMI para fluconazol (> 4 mg/L). La mortalidad asociada fue de 37,5 % en niños y 28,1 % en adultos. *C. tropicalis* y *C. guilliermondii* fueron las especies más frecuentes en los pacientes fallecidos (26,6 % c/u). Solo fue tratado con antifúngicos el 47,9 % del total de pacientes y el 53,3 % de los fallecidos. Las drogas más utilizadas para el tratamiento fueron anfotericina B y fluconazol.<sup>51</sup> Este estudio formó parte del proyecto multicéntrico sobre la fungemia debida a levaduras, auspiciado por la Red Regional de Laboratorios para la vigilancia de infecciones micóticas invasivas y susceptibilidad antifúngica en América Latina.

De manera adicional, se determinó la incidencia de candidiasis en 949 neonatos que requirieron cuidados intensivos. La incidencia general fue de 1,6 % y afecta más frecuentemente a niños con un peso menor de 1 000 g y en los menores de 30 semanas. La mortalidad fue de 13,3 % y en general la especie predominante fue *C. parapsilosis*.<sup>52</sup>

En la actualidad se realizan estudios con el objetivo de analizar los factores de virulencia (producción enzimática y formación de biopelícula), y la susceptibilidad antifúngica *in vitro* a la anfotericina B y el fluconazol por el método de microdilución en aislados de *Candida* procedentes de hemocultivos. Hasta el momento se ha podido observar que existen diferencias en el grado de expresión de los factores de virulencia en las distintas especies de *Candida* y altos valores de concentración mínima inhibitoria a los antifúngicos estudiados.

***Candida* asociada a enfermedades crónicas no infecciosas:** Unos de las investigaciones más novedosas que está realizando el laboratorio es el estudio de la colonización del tracto gastrointestinal por levaduras en niños con trastornos del espectro autista (TEA), pues la complejidad de las manifestaciones clínicas que los caracteriza, sugiere una etiología multicausal. Se pudo demostrar un mayor grado de colonización del tracto gastrointestinal por *Candida* en niños con TEA en comparación con el grupo control. No se encontraron diferencias entre las especies de *Candida*, lo cual sugiere que la posible asociación entre *Candida* y autismo no es especie dependiente.

Todas estas investigaciones ratifican la necesidad de mantener una vigilancia nacional que nos permita monitorear la distribución y susceptibilidad antifúngica de las levaduras aisladas, lo que contribuirá a evaluar la evolución de la resistencia en nuestro medio.

## ASPERGILOSIS

Otra de las líneas importantes de investigación es la referente a las infecciones causadas por el género *Aspergillus*. Como parte de un trabajo de colaboración entre el IPK y el Hospital Neumológico Benéfico Jurídico, se estandarizó un sistema ELISA para la detección de IgG-anti *Aspergillus fumigatus*. Durante el mismo se estudiaron más de 300 sueros de pacientes con diferentes manifestaciones respiratorias y se encontraron altos porcentajes de seropositividad con predominio en individuos con enfisema-bronquitis y bronquiectasias.<sup>53</sup> Fernández Andreu y otros fortalecieron el serodiagnóstico de la aspergilosis en Cuba al evaluar diferentes antígenos y antisueros relativos a las especies de *Aspergillus* más importantes del ámbito clínico.<sup>54</sup> Este trabajo constituyó un importante ahorro en importaciones para el país además de ampliar la capacidad diagnóstica para las micosis.

En la actualidad, el LMIPK lleva a cabo un estudio sobre la resistencia a antifúngicos en especies de *Aspergillus*. San Juan Galán y otros publicaron un trabajo preliminar sobre cepas de origen clínico y ambiental en el que se observó resistencia al itraconazol en *A. niger* y una muy marcada a la anfotericina B, fundamentalmente en *A. flavus* y *A. fumigatus*.<sup>55</sup> Otras investigaciones se llevan a cabo en torno a infecciones crónicas causadas por *Aspergillus*. En colaboración con el Hospital Neumológico Benéfico Jurídico, el LMIPK recién comenzó un estudio que permitirá contribuir al diagnóstico certero de la aspergilosis pulmonar crónica, una enfermedad que ha cobrado relevancia a nivel internacional.

## EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

En el LMIPK también se desarrollan ensayos para determinar la actividad antifúngica de productos naturales. Con este objetivo se implementó y estandarizó un método modificado de microdilución en medio líquido basado en las normas del CLSI-M27-A3. Entre los productos naturales evaluados se encuentran la zeolita, el dermofural, así como los extractos hidroalcohólicos preparados a partir de la planta *Petiveria alliacea* L y del invertebrado marino *Hermodice carunculata*. Estos se enfrentaron a aislados clínicos que involucraron las cinco especies de *Candida* de mayor relevancia clínica (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* y *C. tropicalis*). En ambos casos, se evidenció la inhibición del crecimiento de más de un 96 % de los aislados testados con bajas concentraciones de los extractos, incluso frente a aquellas especies intrínsecamente resistentes al fluconazol.<sup>56,57</sup> Los resultados sugieren una fuerte actividad antimicótica de uno o más de sus compuestos químicos activos. Conocer el potencial antifúngico de estos preparados es la base para el diseño y la formulación de nuevas generaciones de antimicóticos, que brinden opciones terapéuticas más efectivas.

## DOCENCIA

El trabajo del grupo del LMIPK también ha estado dirigido, desde sus inicios, a incrementar el desarrollo de la Micología Médica en el sistema cubano de salud. Hemos realizado un extenso programa de formación de personal mediante cursos y entrenamientos a profesionales y técnicos. Especial mención merece la formación de médicos microbiólogos y la Maestría en Bacteriología-Micología, como parte de la programación docente del IPK.

Además de las mencionadas, se pueden citar otras actividades de posgrado en las cuales el personal del laboratorio ha tenido una destacada actividad, tales como: diplomados de Medicina Tropical a las brigadas médicas internacionalistas, entrenamientos en Micología Médica a profesionales cubanos y extranjeros, cursos Diagnóstico de Laboratorio de las Micosis (auspiciado por la UNESCO), Talleres de Micología Médica (auspiciado por la Sociedad Cubana de Microbiología y Parasitología), así como los cursos de actualización en nuestra temática en diferentes provincias del país.

De especial significación han sido los cursos impartidos en nuestro laboratorio por destacados profesores extranjeros de elevado prestigio, procedentes de diferentes organismos e instituciones como OPS, Instituto Pasteur de París, Instituto de Salud Carlos III, Universitat Rovira i Virgili, entre otros, los cuales han contribuido a elevar el nivel científico de nuestros profesionales.

En la actividad de pregrado, nuestro grupo de trabajo realizó una destacada actividad docente en la licenciatura en Tecnología de la Salud, perfil de Microbiología, y colabora de manera muy activa en la formación de los estudiantes de carrera de Microbiología de la Facultad de Biología de la Universidad de La Habana, no solo con la impartición de contenidos, sino también en la realización de las tesis de diploma. No menos importante ha sido también la contribución del LMIPK a la preparación de los estudios de grado de estudiantes de nivel medio.

El colectivo posee una tradición bien consolidada en la conducción de tesis en todos los niveles de enseñanza en los que se aplica la micología, las cuales han sido desarrolladas tanto por tesis nacionales como extranjeras.

La participación en eventos científicos, tanto nacionales como internacionales, han contribuido a dar a conocer los resultados antes expuestos a diferentes niveles. Entre estos eventos, merece la pena destacar la celebración en el IPK del 2<sup>do</sup> Congreso Latinoamericano de Micología en 1996, auspiciado por la Asociación Latinoamericana de Micología, evento de elevado nivel científico y organizativo, resultado del trabajo mancomunado de los grupos de micólogos de instituciones nacionales como el Jardín Botánico Nacional, el Instituto de Ecología y Sistemática y el IPK.

Los resultados obtenidos han sido reconocidos por las máximas autoridades científicas nacionales y han sido distinguidos como resultados relevantes del IPK y merecedores del Premio Anual de Salud del Ministerio de Salud Pública (2002), premio del Ministerio de la Agricultura (2004) y logros de la Academia de Ciencias de Cuba (2004, 2010 y 2014).

## SERVICIO DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA

El laboratorio se ha desempeñado como Laboratorio Nacional de Referencia para las micosis, por lo que se llevan a cabo los algoritmos que permiten el diagnóstico convencional de las micosis. Estos incluyen el examen microscópico directo de las muestras clínicas y el cultivo en los medios adecuados, con la subsiguiente identificación hasta el nivel de especie.

Las pruebas serológicas han sido de gran utilidad diagnóstica, particularmente en la histoplasmosis y la aspergilosis. De más reciente incorporación son los métodos moleculares que de manera gradual se han incorporado al diagnóstico de las principales micosis sistémicas.

Como complemento del diagnóstico micológico, el laboratorio también tiene implementadas las técnicas de referencia para la determinación de la susceptibilidad a los agentes antifúngicos.

Una de las actividades más importantes mantenidas durante todos estos años ha sido la conservación de una colección de cultivos de hongos patógenos, como una garantía de la calidad de las investigaciones, la docencia y el diagnóstico que realiza el Laboratorio de Micología.<sup>58</sup>

## MAGNITUD E IMPORTANCIA DE LAS INFECCIONES FÚNGICAS EN LA ACTUALIDAD

Las infecciones fúngicas, en general, y sus formas invasivas, en particular, se reconocen como una causa líder de morbilidad a escala global. Estas afecciones incrementaron considerablemente su incidencia en las últimas décadas y en la actualidad se acepta que su impacto en la salud humana es al menos de igual magnitud al generado por bacterias, virus y parásitos.<sup>59</sup>

Dos aspectos favorecen el incremento sostenido de la incidencia de las infecciones fúngicas invasivas (IFI). De una parte, con la pandemia del sida cuatro infecciones fúngicas oportunistas (neumocistosis, criptococosis, histoplasmosis y talaromicosis) se han convertido en la principal causa de muerte en esta población. Por otra parte, los grandes avances de la medicina en las últimas décadas, que logran prolongar la vida en pacientes con graves patologías, al tiempo que favorecen el incremento considerable de las IFI. En este grupo se destacan dos micosis (candidiasis y aspergilosis) las cuales afectan anualmente a un millón de casos.<sup>60</sup>

Las tasas de mortalidad asociadas a las IFI son inadmisibles (30-70 %) y provocan, al menos, tantas muertes como la tuberculosis o la malaria. Se estima en mil millones las personas que padecen alguna micosis, de las cuales 11,5 millones desarrollan formas clínicas que comprometen sus vidas y 1,5 millones mueren cada año.<sup>60</sup>

La magnitud de este problema se agrava si consideramos que no presentan síntomas ni signos patognomónicos. Como afecciones oportunistas se insertan en el curso de otras enfermedades bien definidas (cáncer, sida, tuberculosis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma) que las enmascaran y dificultan su diagnóstico. Además, la Organización Mundial de la Salud (OMS) no tiene un programa para las infecciones fúngicas y no están integradas en los programas de vigilancia epidemiológica de los diferentes países, por lo que existe poco

conocimiento de estas por el personal médico.<sup>61</sup> No obstante, en los últimos 20 años se lograron considerables avances en los métodos diagnósticos y en el desarrollo de drogas antifúngicas efectivas, aunque la mayoría de la población mundial aún no se beneficia de estos avances.<sup>62</sup>

Para enfrentar esta situación, se creó el Fondo de Acción Global para las Infecciones Fúngicas (GAFFI, sus siglas en inglés) en Londres (2013). Esta fundación tiene como misión mejorar la salud de los pacientes que sufren de infecciones fúngicas graves a través de cuatro objetivos básicos: divulgar la repercusión de la enfermedades fúngicas; facilitar el acceso universal al diagnóstico de estas afecciones; garantizar terapias antifúngicas adecuadas y asequibles; así como, capacitar a los profesionales de salud en el manejo de estas micosis.<sup>62</sup>

Entre las múltiples actividades realizadas por GAFFI, se destacan los estudios sobre la magnitud de las infecciones fúngica realizados en más de 100 países, para lograr que la OMS reconozca a los micetomas y la cromomicosis como enfermedades desatendidas e incorpore la anfotericina B, la 5-fluorocitosina y el itraconazol a su lista de medicamentos esenciales. También, definió la necesidad de crear un laboratorio de referencia en cada país o región (que daría cobertura a una población de 10 millones de habitantes) que disponga del personal calificado y el equipamiento adecuado para implementar los métodos y sistemas de diagnóstico rápido que permitan alcanzar resultados entre 48 y 72 h.<sup>61,62</sup> (tabla).

**Tabla.** Pruebas diagnósticas que debe realizar un laboratorio de referencia en Micología (según GAFFI)

Pruebas diagnósticas	Infección	Sensibilidad diagnóstica (%)	Tiempo del resultado
Examen directo	Piel, pelo, uñas, infecciones invasivas (Blanco de calcofluor)	30-90	2 horas
Detección antígeno	Meningitis por <i>Cryptococcus</i>	99	2 horas
PCR muestras respiratorias	Neumonía por <i>Pneumocystis</i>	98	1 día
Detección de antígeno (ELISA) en suero y muestras respiratorias	Aspergilosis invasiva Histoplasmosis	80	2 días
Detección de $\beta$ -D-glucano	Mayoría de infecciones fúngicas*	65 - 77	2 días
Anticuerpos IgG anti- <i>Aspergillus</i>	Aspergilosis pulmonar crónica	80 - 95	2 días
Anticuerpos IgE anti- <i>Aspergillus</i>	Aspergilosis broncopulmonar alérgica	> 95	2 días
Cultivo e identificación	Todos los hongos, excepto <i>Pneumocystis</i>	10 -50	3-14 días
Identificación molecular a partir de histopatología positiva	Todos, en particular infecciones por hongos filamentosos	50-60	7 días
Niveles séricos de itraconazol, voriconazol y posaconazol	Aspergilosis	100	3 días

\*Alto valor predictivo negativo permite discontinuar el tratamiento.

Nuestro país no está ajeno a esta situación global. Cuenta con muchas fortalezas entre las que destacan: un sistema de salud competente que brinda una cobertura universal, voluntad política para asumir los nuevos retos, baja tasa de prevalencia de casos sida y tuberculosis, tratamiento antirretroviral a todos los pacientes que lo necesitan, disponibilidad en el cuadro básico de medicamentos de todos los antifúngicos recomendados por la OMS. No obstante, entre las principales limitaciones hay que señalar la ausencia de programas de vigilancia para estas enfermedades, la no realización de estudios de prevalencia y sobre todo, la no disponibilidad de los métodos y técnicas para el diagnóstico rápido de muchas de ellas.

### Conflicto de intereses

Los autores no declaran conflicto de intereses.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bonifaz Trujillo JA. Micología Médica Básica. 2da. ed. México: Ed. McGraw Hill; 2012.
2. Fernández Andreu C, Báez Gómez AL, López Abraham AM. Flora dermatofítica en suelos cubanos. Rev Cubana Med Trop. 1987; 39(3): 79-84.
3. López Abraham AM, Báez Gómez AL, Fernández Andreu C. Aislamiento de dermatofitos en perros sin lesiones clínicas. Rev Cubana Med Trop. 1985; 37(3): 288-94.
4. Fernández Andreu CM, Suárez Moreno O, Martínez Machín G, Ramos Dormido G. Brote epidémico de dermatofitosis en ratones atímicos. Rev Iberoamericana Micol. 1993; 10(3): 72-3.
5. López Abraham AM, Báez Gómez AL, Fernández Andreu C. Aislamiento de dermatofitos en niños sin signos clínicos de dermatofitosis. Rev Cubana Med Trop. 1986; 38(2): 147-50.
6. López Abraham AM, Fernández Andreu C. Pesquisaje de dermatofitos en extranjeros recién llegados a Cuba. Rev Cubana Med Trop. 1983; 35(3): 242-50.
7. Rodríguez Soto MR, Fernández Andreu CM, Moya Duque S, Rodríguez Díaz RM, Martínez Machín G. Estudio clínico micológico de onicomosis en ancianos. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1993; 35(3): 213-8.
8. Iglesias TM. Prevalencia de *Tinea pedis* en deportistas de las escuelas de formación de atletas de alto rendimiento. Tesis para optar por el título de Máster en Bacteriología-Micología. La Habana: Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK); 2011.

9. Fernández Andreu CM, Ilnait Zaragoza MT, Martínez Machín G, Perurena Lancha MR, Monroy Vaca E. Una actualización acerca de histoplasmosis. Rev Cubana Med Trop. 2011;63(3):188-205.
10. Centers for Disease Control and Prevention. CDC Health Information for International Travel 2010. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, 2009.
11. Fernández Andreu CM, Martínez Machín G. Fuentes de infección de histoplasmosis en la Isla de la Juventud. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1992;34:441-6.
12. Fernández Andreu CM. Histoplasmosis en Cuba: Contribución a su diagnóstico, prevención y control. Tesis doctoral. La Habana: Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK); 2004.
13. Fernández Andreu CM. Aislamiento de *Histoplasma capsulatum* en murciélagos en Cuba. Rev Cubana Med Trop. 1988;40:36-43.
14. Fernández Andreu CM. Epidemiología de la histoplasmosis en Cuba. Rev VITAE Acad Biomed Dig. 2001 [citado 4 Ag 2017];(9). Disponible en: <http://caibco.ucv.ve/vitae/VitaeNueve/Articulos/Micologia/Histoplasmosis/ArchivosHTML/Introduccion.htm>
15. Benedict K, Mody RK. Epidemiology of histoplasmosis outbreaks, United States, 1938-2013. Emerg Infect Dis. 2016;22:370-8.
16. Fernández Andreu CM, López Abraham AM. Confirmación diagnóstica mediante el cultivo del agente causal en 2 casos de histoplasmosis ocupacional. Rev Cubana Med Trop. 1986;38:32-7.
17. Fernández Andreu CM, Martínez Machín G, Ilnait Zaragoza MT, Perurena Lancha MR, González L. Brotes de histoplasmosis ocupacional en la provincia de La Habana, Cuba. Rev Cubana Med Trop 2010;62(1):68-72.
18. Monroy Vaca EX, Martínez Machín GF, Fernández Andreu CM, Ilnait Zaragoza MT, García Rodríguez A, Perurena Lancha MR, et al. Diagnóstico molecular de histoplasmosis diseminada en pacientes cubanos con sida. Rev Cubana Med Trop. 2014;66(1):120-31.
19. García Rodríguez A. Estudio de un reservorio natural asociado a un brote de histoplasmosis. Artemisa, 2015. Tesis para optar por el título de Máster en Bacteriología Micología. La Habana: Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK); 2016.
20. The neglected histoplasmosis in Latin America Group. Disseminated histoplasmosis in Central and South America, the invisible elephant: lethal blind spot of international health organizations. AIDS. 2016;30:167-70.
21. Fernández Andreu CM, Corral Varona C, Martínez Machín G, Rodríguez Barreras ME, Ruiz Pérez A. Histoplasmosis diseminada progresiva en pacientes con SIDA. Rev Cubana Med Trop. 1996;48:163-6.

22. Fernández Andreu CM, Vilarrubia Montes de Oca OL, Martínez Machín G, Oramas Rodríguez B. Utilización de exoantígenos para la identificación de *Histoplasma capsulatum*. Rev Cubana Med Trop. 1990;42:272-8.
23. Fernández Andreu CM, Martínez Machín G, Fernández Llanes R, Llop Hernández A. Detección de anticuerpos anti-*Histoplasma capsulatum* mediante la técnica de ELISA: estudio preliminar. Rev Cubana Med Trop. 1992;44:112-7.
24. Azar M, Hage CA. Laboratory diagnostics for histoplasmosis. J Clin Microbiol. 2017;55:1612-20.
25. Illnait-Zaragozi MT, Martínez-Machín GF, Fernández-Andreu CM, Perurena-Lancha MR, Hagen F, Meis JF. *Cryptococcus* and Cryptococcosis in Cuba. A minireview. Mycoses. 2014;57:707-17.
26. Hagen F, Lumbsch HT, Arsic Arsenijevic V, Badali H, Bertout S, Billmyre RB, et al. Importance of resolving fungal nomenclature: the case of multiple pathogenic species in the *Cryptococcus* genus. mSphere. 2017 [citado 4 Ag 2017]; 2:e00238-17. Available from: <https://doi.org/10.1128/mSphere.00238-17>
27. Fernández Andreu C, Martínez Machín G, Alvarez Bernal LP, Rodríguez Morales R, Alvarez Herrera C. *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* isolated in Havana City. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1990;85(2):120.
28. Fernández Andreu CM, Martínez Machín G, Illnait Zaragoz MT, Perurena Lancha M, González Miranda M. Identificación de *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* en aislamientos clínicos cubanos. Rev Cubana Med Trop. 1998;50(2):167-9.
29. Illnait-Zaragozi MT, Martínez-Machín GF, Fernandez-Andreu CM, Boekhout T, Meis JF, Klaassen CH. Microsatellite typing of clinical and environmental *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* isolates from Cuba shows multiple genetic lineages. PLoS ONE. 2010;5:e9124. doi: 10.1371/journal.pone.0009124
30. Polo Leal JL, Fernández Andreu CM, Martínez Machín G, Illnait Zaragoz MT, Perurena Lancha MR. *Cryptococcus gattii* aislado de un guepardo (*Acinonyx jubatus*) del Parque Zoológico Nacional de Cuba. Rev Cubana Med Trop. 2010;62:257-60.
31. Illnait-Zaragoz MT, Hagen F, Fernández CM, Martínez Machín GF, Polo Leal JL, Boekhou T, et al. Reactivation of a *Cryptococcus gattii* infection in a cheetah (*Acinonyx jubatus*) held in the National Zoo, Havana, Cuba. Mycoses. 2011;54:e889-92.
32. Illnait-Zaragoz MT, Ortega-Gonzalez LM, Hagen F, Martínez-Machin FG, Meis JF. Fatal *Cryptococcus gattii* genotype AFLP5 infection in an immunocompetent Cuban patient. Med Mycol Case Rep. 2013;2:48-51.
33. Alvarez Bernal LP, Martínez Machín G, Fernández Andreu C, Llop Hernández A. Diagnóstico de criptococosis. Comparación de dos sistemas de látex para la detección de antígeno. Rev Cubana Med Trop. 1992;44(1):29-33.

34. Fernández Andreu CM, Pimentel Turino T, Martínez Machín G, González Miranda M. Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias de fluconazol frente a aislamientos clínicos de *Cryptococcus neoformans*. Rev Cubana Med Trop. 1999;51(1):55-7.
35. Illnait-Zaragozı MT, Martínez GF, Fernández CM, Hagen F, Boekhout T, Klaassen CHW, et al. Microsatellite typing and susceptibilities of serial *Cryptococcus neoformans* isolates from Cuban patients with recurrent cryptococcal meningitis. BMC Infect Dis. 2010;10:289. doi:10.1186/1471-2334-10-289
36. Illnait-Zaragozı MT, Martínez GF, Curfs-Breuker I, Fernández CM, Boekhout T, Meis JF. *In vitro* activity of the new azole isavuconazole (BAL4815) compared with six other antifungal agents against 162 *Cryptococcus neoformans* isolates from Cuba. Antimicrob Agents Chemother. 2008;52(4):1580-2.
37. Illnait-Zaragozı MT, Valdés IC, Fernández CM, Perurena MR, Martínez GF. Determinación de la DL50 de una cepa de *Cryptococcus neoformans* utilizando diferentes vías de inoculación. Rev Panam Infectol. 2004;6(1):8-11.
38. Schoffelen T, Illnait-Zaragozı MT, Joosten LAB, Netea MG, Boekhout T, Meis JF, et al. *Cryptococcus gattii* induces a cytokine pattern that is distinct from other Cryptococcal species. PLoS ONE. 2013;8(1):e55579. doi:10.1371/journal.pone.0055579
39. Torres M. Criptococosis meningoencefálica: Comparación clínica y de los hallazgos de laboratorio entre pacientes con SIDA y seronegativos al VIH. Estudio de la cinética de antígenos específicos. Trabajo de tesis para optar por el título de especialista en Microbiología. La Habana: Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourı" (IPK); 2002.
40. Illnait-Zaragozı MT, Martínez Machín GF, Fernández Andreu CM, Marchena Bequer JJ, Perurena Lancha MR. Contribución al estudio de la criptococosis infantil en Cuba. Rev Cubana Med Trop. 2013;65(1):56-63.
41. Sánchez S, Zambrano D, García M, Bedoya C, Fernández C, Illnait-Zaragozı MT. Caracterización molecular de *Cryptococcus neoformans* aislados de pacientes con VIH. Guayaquil, Ecuador. Rev Biomédica. 2017;37(3):425-30.
42. Perurena Lancha MR, Rodríguez Soto M, Fernández Andreu CM, Martínez Machín G, Flores Claro M. Determinación de morfotipos de *Candida* spp. en exudados vaginales. Rev Cubana Med Trop. 2003;55(3):217-9.
43. Perurena Lancha MR, Fernández Andreu CM, Martínez Machín G, Mendoza Llanes D, Valdés Ramos EA. *Candida dubliniensis*: Necesidad de establecer un diagnóstico correcto. Rev Cubana Med Trop. 2006;58(3):261-3.
44. Fernández Andreu CM, Martínez Machín G, Illnait Zaragozı MT, Perurena Lancha MR, Águila Sánchez A, Brito Galloso M. Sensibilidad *in vitro* de *Candida* spp frente a fluconazol y anfotericina B. Rev Cubana Med Trop. 2007;59(2):113-8.
45. Perurena Lancha MR, Pérez Muñoz Y, Fernández Andreu CM, Martínez Machín G, Illnait MT. Susceptibilidad antifúngica de aislados vaginales de *Candida* spp. Rev Cubana Med Trop. 2016;68(3):248-54.

46. Martínez Machín G, Perurena Lancha M, Núñez Carvajal J, Fernández Andreu CM, Bandera Tirado F. Aislamiento, identificación y tipificación de levaduras en pacientes VIH positivos con candidiasis oral. Rev Cubana Med Trop. 1997;49(3):174-80.
47. Martínez Batista ML, Martínez Machín G, Fernández Andreu CM, Llop Hernández A. Serotyping of *Candida albicans* isolated from clinical specimens. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1990;85(1):61-4.
48. Perurena Lancha MR, Martínez Machín G, Fernández Andreu CM, Leal Tabares MM. *Candida albicans* serotipo B en pacientes seropositivos al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Rev Cubana Med Trop. 2001;53(3):222-3.
49. Prieto Santa Anna LM, Díaz Suárez LA, Illnait Zaragoza MT, Perurena Lancha MR, Cantelar de Francisco N, Fernández Andreu CM, et al. Susceptibilidad a la nistatina de aislamientos bucales de *Candida* y su correlación con la respuesta al tratamiento. Rev Cubana Med Trop. 2010;62(3):237-44.
50. Flores de Apodaca Verdura Z, Martínez Machín G, Ruiz Pérez A, Fernández Andreu CM, Muné Jiménez M, Perurena Lancha M. Candidiasis oroesofágica en pacientes con sida. Estudio clínico y microbiológico. Rev Cubana Med Trop. 1998;50(2):110-114.
51. Cordoba S, Mehem M, Dolande M, Puime A, Martínez G, Zurita S, et al. Species distribution and susceptibility profile of yeasts isolated from blood cultures: Preliminary results of a multicenter study for Latin America. 52 Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC). San Francisco, EUA, 9-12 Sept., 2012.
52. Roig T, Perurena MR, Martínez G, Barrios Y, Hechavarría CE, Santurio A. Candidiasis invasiva en una unidad de cuidados intensivos neonatales de La Habana. Rev Cubana Pediatr. 2017;89(3).
53. Hung Solano M, Martínez Machín G, Fernández Andreu CM, Fernández Llanes R, Suárez Méndez R, Llop Hernández A. Evaluación de un ELISA para la detección de anticuerpos anti-*Aspergillus fumigatus*. Rev Cubana Med Trop. 1992;44(3):215-9.
54. Fernández Andreu CM, Travieso Ruiz F, Martínez Machín G, Perurena Lancha MR. Evaluación de antígenos y antisueros para su utilización en el serodiagnóstico de aspergilosis. Rev Cubana Med Trop. 1995;47(2):118-21.
55. San Juan Galán JL, Fernández Andreu CM, Almaguer M, Perurena Lancha MR, Martínez Machín G, Velar Martínez R, et al. Susceptibilidad *in vitro* de cepas cubanas de *Aspergillus* de origen clínico y ambiental. Biomédica. 2017;37(4).
56. Illnait-Zaragoza MT, Velar Martínez RE, Illnait Ferrer J, Fernández Andreu CM, Martínez Machín GF, Perurena Lancha MR, et al. *In vitro* antifungal activity of crude hydro-alcoholic extract of *Petiveria alliacea* L on clinical *Candida* isolates. Clin Microbiol. 2014;3. doi:10.4172/2327-5073.1000159
57. Velar RE, Remedios L, Monzote L, Perurena MR, Fernández CM, Martínez GF, et al. *In-vitro* antifungal activity of a hydroalcoholic extract of *Hermodice carunculata* against clinical *Candida* isolates. Adv Pharmaceut J. 2017;2(1):29-33.

58. Fernández Andreu CM, Díaz Suárez LA, Ilnait Zaragozí MT, Aragonés López C, Martínez Machín GF, Perurena Lancha MR, et al. Conservación de cultivos de hongos de importancia médica en agua destilada. Rev Cubana Med Trop. 2013;65(3):361-9.

59. Brown GD, Denning DW, Levitz SM. Tackling Human Fungal infections Science. 2012;336(6082):647. doi: 10.1126/science.1222236

60. Cornely OA, Lass-Flörl C, Lagrou K, Arsic-Arsenijevic V, Hoenigl M. Improving outcome of fungal diseases - Guiding experts and patients towards excellence. Mycoses. 2017 [cited 2017 Ag 4];60(7):420-425. Available from: <https://doi.org/10.1111/myc.12628>

61. Rodriguez Tudela JL, Dennig DW. Recovery from serious fungal infections should be realisable for everyone. 2017 [cited 2017 Ag 4];17(11):1111-1113. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30319-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30319-5)

62. Global Action Fund for Fungal Infections. Fungal Disease Diagnosis and portfolio of diagnostic tests in Mycology Reference Laboratories. [cited 2017 Ag 4]. Available from: <http://www.gaf?.org/wp-content/uploads/Appendices-4-V3.pdf>

Recibido: 5 de septiembre de 2017.

Aceptado: 19 de octubre de 2017.

*Carlos Manuel Fernández Andreu.* Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). Autopista Novia del Mediodía km 6½, La Lisa. La Habana, Cuba. Correo electrónico: [cfandreu@ipk.sld.cu](mailto:cfandreu@ipk.sld.cu)