

Primer aislamiento de *Apiotrichum (Trichosporon) mycotoxinivorans* en Costa Rica, descripción microbiológica: a propósito de un caso clínico

Sofía Villalobos Abarca^{1,2}, Yósselin Morales Rodríguez^{1,2,3}, María José Uribe Calvo^{1,2}, Joaquín Hidalgo Barrantes^{1,2}

1 Caja Costarricense de Seguro Social, Hospital México, Costa Rica

2 Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, Costa Rica

3 Especialista en Micología Médica

Correspondencia: sofyvillalobos@gmail.com

Recibido: 26/4/2024, Aceptado para publicación: 19/6/2024

Resumen

Apiotrichum (Trichosporon) mycotoxinivorans es considerado un hongo patógeno emergente, esto debido a un aumento importante de los casos clínicos en pacientes inmunosupresos alrededor del mundo. Este es el primer informe de este patógeno en Costa Rica, en un hospital nacional. El hongo se aisló a partir de una muestra de tracto respiratorio en una paciente con consultas a repetición en el servicio de neumología. El abordaje por parte del laboratorio clínico, permitió un adecuado aislamiento y una correcta identificación del hongo basidiomiceto, lo cual resulta de gran importancia clínica para el conocimiento de nuevas especies fúngicas circulantes.

Palabras clave

Trichosporon, *Apiotrichum mycotoxinivorans*, Costa Rica, patógeno emergente

Abstract

Apiotrichum (Trichosporon) mycotoxinivorans is considered an emerging pathogenic fungus, due to a significant increase in clinical cases in immunosuppressed patients around the world. This is the first report of this pathogen in Costa Rica, in a national hospital. The fungus was isolated from a respiratory tract sample in a patient with repeat visits to the pulmonology service. The approach by

the clinical laboratory allowed adequate isolation and correct identification of the basidiomycete fungus, which is of great clinical importance for the knowledge of new circulating fungal species.

Keywords

Trichosporon, *Apiotrichum mycotoxinivorans*, Costa Rica, emerging pathogen

Introducción

Trichosporon es un género fúngico ubicado entre los Basidiomycetes, del que se han caracterizado alrededor de 50 especies y al menos 16 han sido asociadas con enfermedades en humanos (1). *Apiotrichum (Trichosporon) mycotoxinivorans* fue descrito por primera vez en 2004 asociado a termitas. Se le dio ese nombre, precisamente, por su capacidad de desactivar micotoxinas en heces animales (2). Más adelante Liu y sus colaboradores, en una revisión de la clase de los Tremellomycetes, proponen una nueva nomenclatura basada en análisis filogenéticos de los dominios ribosomales D1/D2, por lo que se traslada al género *Apiotrichum* (3).

En 2009 se describió el primer reporte de esta levadura asociada a complicaciones clínicas, en un

paciente con fibrosis quística (4). A partir de entonces se encuentran descritos en la literatura varios casos asociados a infecciones profundas en pacientes inmunocomprometidos, por lo que actualmente *Apioirichum (Trichosporon) mycotoxinivorans* es considerado un patógeno emergente (5). Esta corresponde a la primera identificación de este hongo a nivel clínico en nuestro país y es de los pocos casos descritos en América Latina.

Reporte de caso

Descripción clínica

Femenina costarricense de 63 años con antecedente de cáncer gástrico hace 14 años que derivó en resección quirúrgica del 80% del saco estomacal. Desde dos décadas atrás, presenta historial de consultas frecuentes en el sistema de atención de salud primaria por sintomatología respiratoria, con impresiones diagnósticas de cuadros gripales, tos crónica o reacciones alérgicas exacerbadas. No presenta hallazgos contundentes en radiografías de tórax ni resultados positivos en las baciloscopías de esputo.

En julio de 2019 en una nueva consulta en el servicio de neumología del Hospital México, se diagnosticó con enfermedad pulmonar debido a una micobacteria atípica, *Mycobacterium intracellulare*, que requirió esquemas de tratamiento hasta noviembre de 2020. Durante este periodo se le dio seguimiento en consulta externa de neumología, con toma de muestras de lavados bronquiales para cultivo microbiológico. En reiteradas muestras se reportaron hallazgos de *Trichosporon* spp. mediante aislamiento en cultivo e identificación bioquímica en VITEK®. Así como un aislamiento de *Candida albicans*.

Durante este periodo la paciente recibía tratamiento antifúngico con tioconazol en dosis de 100 mg/día, claritromicina 500 mg/día, salbutamol 0.1mg/día y bromuro de ipratropio 0.5 mg/día como broncodilatadores.

En una consulta realizada en 2023, se hallaron signos de colelitiasis, reflujo y asma bronquial. Por lo que se le realizó una broncoscopia, en la que se observaron secreciones amarillentas abundantes, desde la tráquea proximal hasta el sistema bronquial derecho e izquierdo. Se tomaron

muestras de lavado bronquial en el lóbulo medio pulmonar, que se enviaron para estudio microbiológico por piógenos, hongos y micobacterias. Se dejaron citas de control posterior en el servicio de neumología.

Abordaje microbiológico

En febrero de 2023 se recibió en el laboratorio clínico, División de Microbiología, un set de muestras de lavado bronquial. Se procesó como cultivo respiratorio por bacterias aerobias, se sembró en medios sólidos de agar columbia, agar chocolate, agar MacConkey y agar Manitol-Sal, se incubaron las placas a 37°C por 3 días. Se realizó tinción de Gram, con observación de bacilos gram negativos y cocobacilos gram negativos.

Para el estudio por micobacterias, se realizó el procesamiento estandarizado para la descontaminación de la muestra y se sembró en medio líquido MGIT y medio sólido Lowenstein-Jensen, los cuales se incubaron a 37°C durante 6 y 8 semanas, respectivamente. Además, se realizó tinción de auramina-rodamina, en la cual no se observan bacilos alcohol-ácido resistentes. Adicionalmente, se llevó a cabo un PCR en tiempo real, anidada y cualitativa para la detección de ADN del Complejo de *Mycobacterium tuberculosis* y mutaciones en el gen *rpoB* de resistencia a la rifampicina, que resultó no detectada para esta muestra.

Para el estudio por hongos, se centrifugó la muestra completa a 3000 rpm por 15 min, se sembró el sedimento obtenido en agar glucosado de Sabouraud con antibióticos y agar Mycosel®, se incubaron las placas por 4 semanas a 30°C. Se realizó examen directo en fluorescencia con blanco de calcoflúor, el cual resultó positivo por hongos con observación de blastosporas (figura 1).



Figura 1. Observación microscópica de blastosporas en montaje de blanco de calcoflúor en muestra de lavado bronquial (400x).

A los 3 días de incubación se obtuvo crecimiento de colonias maduras color crema, con aspecto rugoso o arrugado hacia el centro de la colonia, secas y opacas (figura 2A). En la observación microscópica en azul de lactofenol, se observó la presencia de micelio hialino septado, artrosporas rectangulares y blastosporas ovoides (figura 3).

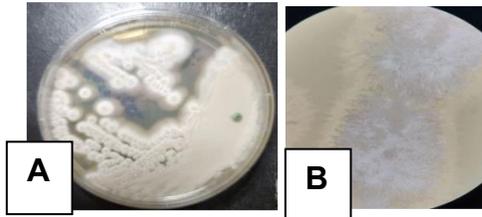


Figura 2 A. Observación macroscópica de las colonias del aislamiento obtenido en agar glucosado de Sabouraud incubado 72 horas a 37°C. B. Detalle de la morfología colonial del aislamiento obtenido (160x).

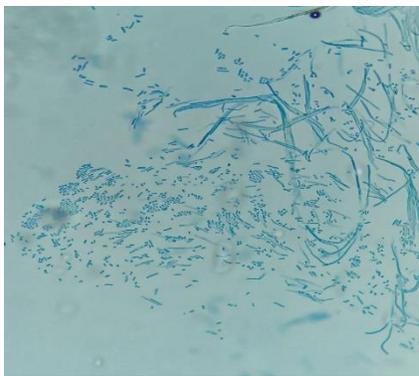


Figura 3. Observación microscópica en azul de lactofenol de micelio septado, artrosporas rectangulares y blastosporas ovoides del aislamiento obtenido (400x).

El aislamiento fue identificado por espectrofotometría de masas en el equipo BD Bruker MALDI-TOF Biotyper®, los espectros concuerdan con puntuaciones de 2.0 con *Apiotrichum (Trichosporon) mycotoxinivorans* (figura 4).

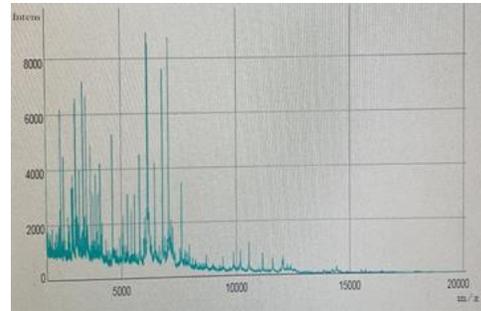


Figura 4. Espectro de masas obtenido del aislamiento de *Apiotrichum (Trichosporon) mycotoxinivorans* en el equipo BD Bruker, con picos de intensidad en relación masa/carga.

Se determinaron los patrones de susceptibilidad in vitro del aislamiento obtenido ante anfotericina B, fluconazol, itraconazol y voriconazol por el método de microdilución en caldo para levaduras del CLSI (de las siglas en inglés, Clinical and Laboratory Standards Institute) (Documento M27M44S) (6). Este documento para susceptibilidad antifúngica del CLSI no incluye el género *Trichosporon*; sin embargo, es uno de los métodos empleados para fines de investigación en esta levadura. El antifúngico que presentó la concentración mínima inhibitoria (CMI) más baja fue el itraconazol (0,5 µg/ml) seguido de voriconazol y anfotericina B (ambos 1 µg/ml). El fluconazol presentó la CMI más alta (8 µg/ml).

Discusión

Trichosporon spp. es una levadura ubicua, encontrada en el ambiente, tanto en suelo como en agua. Existen 6 especies dentro de este género que presentan una mejor adaptación en humanos: *T. asteroides*, *T. cutaneum*, *T. asahii*, *T. inkin*, *T. mucoides* y *T. ovoides*. Además, otras 16 especies y aproximadamente 50 subespecies son consideradas de interés clínico (7).

Trichosporon spp. puede encontrarse como parte de la microbiota humana oral, gastrointestinal, cutánea, respiratoria y vaginal (8). Sin embargo, este microorganismo también es capaz de ocasionar infecciones tanto superficiales como diseminadas, especialmente en pacientes inmunosupresos, lo cual describe el comportamiento de un hongo oportunista. En este caso podría llegar a causar desde infecciones respiratorias profundas hasta fungemias en

pacientes neutropénicos o gravemente enfermos. De hecho, datos estadísticos demuestran que la mortalidad por este hongo en casos de fungemias alcanza entre un 50% y 90% (8)(9).

Asimismo, *Trichosporon* spp. se considera un agente nosocomial fúngico emergente, ya que ocupa entre el segundo y tercer lugar de infecciones invasivas por levaduras distintas a *Candida* en pacientes inmunocomprometidos (8). El aumento en la aparición de infecciones por *Trichosporon* spp. se debe a factores como el incremento en la incidencia de malignidades, trasplantes, pacientes oncológicos, aplicación de quimio y radioterapia, antibióticos de amplio espectro, procedimientos invasivos, entre otros (8)(10).

Propiamente, *Apiotrichum* (*Trichosporon*) *mycotoxinivorans*, ha sido asociado en la mayoría de los reportes clínicos, a casos de infecciones respiratorias en pacientes con fibrosis quística. Sin embargo, se conoce que este género puede estar asociado a patologías en pacientes inmunocomprometidos en general, donde incluso se puede convertir en una infección persistente o provocar exacerbaciones de la patología pulmonar. Algunos factores de riesgo asociados podrían ser diabetes, neutropenia y el consumo de medicamentos que inducen inmunosupresión. Aunque no en todos los casos se comporta de la misma manera, también se documentan pacientes que no presentan necesariamente un empeoramiento de la condición clínica (11).

Por otra parte, las infecciones fúngicas con frecuencia no se presentan aisladas, estudios demuestran la presencia de coinfecciones en pacientes inmunosupresos y el caso de *Apiotrichum* (*Trichosporon*) *mycotoxinivorans* no es la excepción. Este microorganismo ha sido aislado junto a otros agentes fúngicos como *Scedosporium apiospermum*, *Aspergillus fumigatus* y *Cryptococcus neoformans* ocasionando infecciones pulmonares (9)(12).

Igualmente, la aparición de *Trichosporon* spp. ha sido asociado a infecciones previas junto con micobacterias. En un estudio realizado en una clínica en Kenya en 2013, se identificó a *Trichosporon asahii* y *Aspergillus niger* como los hongos filamentosos y a *Candida albicans* como la levadura más frecuentemente aislada en muestras de esputos de pacientes tuberculosos. Dicho estudio concluye la importancia y la alta frecuencia de las coinfecciones por agentes fúngicos en este tipo de pacientes, especialmente

ligados a condiciones como recaídas, fallo terapéutico y resistencia a antibióticos (13).

Asimismo, en modelos murinos se ha demostrado la aparición de mayor cantidad de lesiones pulmonares en individuos que presentan coinfección fúngica y micobacteriana, debido a la liberación de exacerbada de citoquinas asociadas a la respuesta inflamatoria y resistencia a patógenos de la respuesta inmune T Tipo 1 y Tipo 17 (14).

Este caso clínico demuestra concordancia con dichos estudios, ya que la paciente presentó una infección previa por micobacterias hasta el 2020 con negativización de cultivos. Además, presentó una coinfección fúngica con *Candida albicans* y una persistencia de *Trichosporon* spp. en cultivos de muestras de lavado bronquial (14).

Con respecto al abordaje diagnóstico a nivel de laboratorio, cabe resaltar el tratamiento diferenciado que deben recibir las muestras dependiendo del estudio a efectuar. De manera rutinario, la mayoría de las muestras se procesan para estudios por bacterias; sin embargo, los estudios por hongos en especímenes respiratorios requieren de fases previas de centrifugado a fin de concentrar los microorganismos fúngicos presentes, a menudo encontrados en menor cantidad que las bacterias (15)(16).

Asimismo, se debe considerar que inicialmente, la identificación del aislamiento de *Trichosporon* spp. se realizó con tarjetas de reacciones bioquímicas mediante VITEK®, la cual tiene limitaciones para lograr la identificación precisa de especie (17). Por esta razón, es hasta el 2023 que se identifica *Apiotrichum* (*Trichosporon*) *mycotoxinivorans* mediante espectrometría de masas cuya técnica tiene mayor especificidad al comparar espectros de proteínas ribosomales. Esto demuestra la importancia y la necesidad en la adquisición de nuevas tecnologías.

Los métodos diagnósticos tradicionales como cultivo y pruebas fenotípicas para la identificación también son limitadas, por lo que se requiere acudir a técnicas que brindan tiempos de respuesta más cortos e identificación más acertada, sobre todo en casos de infecciones fúngicas invasivas (9).

Con respecto a la prueba de sensibilidad a antifúngicos, los resultados obtenidos para este aislamiento reflejan MIC relativamente bajas comparado con lo que se reporta frecuentemente en hongos levaduriformes y existe realmente poca información en la literatura acerca de los valores

de la CMI de los antifúngicos sobre *Apiotrichum (Trichosporon) mycotoxinivorans*. Además, no se cuenta con puntos de cortes establecidos para la interpretación de las pruebas de susceptibilidad para este hongo, lo que dificulta la interpretación de los resultados entre las diferentes investigaciones.

En un estudio multicentro de Kuo de 2021, con 115 aislamientos de *Trichosporon* spp. recuperados de fungemias y tomando como parámetro el punto de corte recomendado por el CLSI para *Candida albicans*, *Apiotrichum (Trichosporon) mycotoxinivorans* fue el que presentó la concentración mínima inhibitoria más elevada para voriconazol (1 ug/mL), lo que es muy importante a tomar en cuenta, pues este suele ser el antifúngico de elección en fungemias por estos basidiomicetos. Estos resultados de CMI relativamente altas para este hongo, plantean un mayor campo de investigación y alerta en estas especies emergentes (18).

Con respecto al tratamiento, se conoce que antifúngicos como la anfotericina B y las equinocandinas poseen una efectividad limitada contra las especies del género *Trichosporon* por su resistencia intrínseca (9). En cambio, el voriconazol es utilizado preferiblemente en el tratamiento de fungemias por su biodisponibilidad y la posibilidad de alcanzar concentraciones más altas en plasma. Además, se han visto mejores resultados *in vitro* e *in vivo* (19)(20).

Aun así, en un estudio realizado en el 2021 sobre fungemias por *Trichosporon* spp., menciona que el tratamiento de elección aún no se ha establecido y sigue siendo tema de discusión. No obstante, algunos autores proponen una terapia antifúngica combinada entre anfotericina B y voriconazol y otros proponen monoterapia solo con voriconazol. De hecho, existen reportes de pacientes que han tenido desenlaces fatales debido a la administración de una terapia antifúngica inadecuada o iniciada primeramente con anfotericina B (21).

En nuestro caso particular, dentro de la administración constante de fármacos que recibía la paciente por sus comorbilidades, se incluían periodos de uso de imidazoles, aunque ninguno dirigido exclusivamente a vía pulmonar. De hecho, el uso de los imidazoles a pesar de mostrar una buena actividad frente a patógenos levaduriformes y miceliales, ha disminuido en la práctica clínica, pues es un fármaco con una importante toxicidad. En su lugar, se prefiere el

uso de triazoles, con un espectro de acción igual, menos toxicidad y mejor alternativa para micosis sistémicas (22).

De manera que, una correcta y rápida identificación es fundamental para la escogencia de un adecuado tratamiento contra este tipo de microorganismos. Sin embargo, el gran número de especies emergentes durante los últimos años tales como *Apiotrichum (Trichosporon) mycotoxinivorans*, hace que la identificación por métodos convencionales sea cada vez más difícil y demuestra la necesidad del uso de técnicas de mayor capacidad para la correcta identificación. Incluso la espectrofotometría de masas, resulta insuficiente en algunos casos. Por eso, se recomiendan las técnicas moleculares para la corroboración de especies, con amplificación de las regiones ITS o secuenciación del genoma completo (23)(7).

Es así como surge la necesidad de continuar con el reporte de estos casos clínicos, que permitan conocer los hongos patógenos emergentes circulantes en Costa Rica, a fin de contar con información suficiente para guiar el manejo adecuado de los pacientes y alertar la posibilidad de complicaciones del cuadro clínico según los antecedentes médicos. Además de la importancia epidemiológica del reporte de estos casos, permita conocer los microorganismos fúngicos emergentes circulantes en nuestra región.

AGRADECIMIENTOS

A la noble cooperación de las compañeras de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica en el Laboratorio de Micología y el Laboratorio Clínico por realizar las pruebas de susceptibilidad a los antifúngicos.

CONFLICTOS DE INTERESES

Ninguno

REFERENCIAS

1. Montoya A, González G. *Trichosporon spp.*: an emerging fungal pathogen. Rev Med Univ Nuevo León. 2014; 16(62): 37-43.
2. Molnar O, Schatzmayr G, Fuchs E, Prillinger H. *Trichosporon mycotoxinivorans* sp. nov., a new yeast species useful in biological detoxification of various mycotoxins. Syst Appl Microbiol. 2004; 27(6): 661-71.
3. Liu XZ, Wang QM, Göker M, Groenewald M, Kachalkin A V, Lumbsch HT, et al. Towards an integrated phylogenetic classification of the Tremellomycetes. Stud Mycol. 2015; 81: 85-147.
4. Hickey PW, Sutton DA, Fothergill AW, Rinaldi MG, Wickes BL, Schmidt HJ, et al. *Trichosporon mycotoxinivorans*, a novel respiratory pathogen in patients with cystic fibrosis. J Clin Microbiol. 2009; 47(10): 3091-3097.
5. de Almeida JN, Francisco EC, de Andrade Barberino MGM, da Silva Filho LVRF, Brandão OM, Colombo AL, et al. Emergence of *Trichosporon mycotoxinivorans* (*Apiotrichum mycotoxinivorans*) invasive infections in Latin America. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2017; 112(10): 719-22.
6. CLSI. Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeast. 3era ed. CLSI supplement M27M44S. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2022.
7. Mehta V, Nayyar C, Gulati N, Singla N, Rai S, Chandar J. A comprehensive review of *Trichosporon spp.*: an invasive and emerging fungus. Cureus. 2021; 13(8): 1-9.
8. Rossini Lara B, Braidotti de Camargo B, Rodriguez Paula C, Pereira Leite D, Garcia Garces H, Volpe Armoni M, et al. Comparing the phenotypic, genotypic, and proteomic identification of *Trichosporon* species: A globally emerging yeast of medical importance. Med mycol. 2021; 59(12): 1181-1190.
9. Hirschi S, Letscher-Bru V, Pottecher J, Lannes B, Young Jeung M, Gegot T, et al. Disseminated *Trichosporon mycotoxinivorans*, *Aspergillus fumigatus*, and *Scedosporium apiospermum* coinfection after lung and liver transplantation in a cystic fibrosis patient. J Clin Microbiol. 2012; 50(12): 4168-4170.
10. Hazirolan G, Koçak N, Karagöz A. Sequence-based identification, genotyping and virulence factors of *Trichosporon asahii* strains isolated from urine samples of hospitalized patients. J Mycol Med. 2018; 28(3): 452-456.
11. Shah A V, McColley SA, Weil D, Zheng X. *Trichosporon mycotoxinivorans* infection in patients with cystic fibrosis. J Clin Microbiol. 2014; 52(6): 2242-2244.
12. Sadamatsu H, Takahashi K, Tashiro H, Ogusu S, Haraguchi T, Nakashima C, et al. A rare case of *Trichosporon mycotoxinivorans* and *Cryptococcus neoformans* co-infection in lung. J Infect Chemother. 2020; 26(8): 838-842.
13. Nyambura Mwaura E, Matiru V, Bii C. Mycological findings of sputum samples from pulmonary tuberculosis patients attending TB Clinic in Nairobi, Kenya. Virol Mycol. 2013; 2(3): 1-6.
14. Joao I, Bujdaková H, Jordao L. Opportunist coinfections by nontuberculous mycobacteria and fungi in immunocompromised patients. Antibiotics. 2020; 9(11): 1-29.
15. Leber AL, Burnham CAD, American Society for Microbiology, ed. Clinical microbiology procedures handbook. 5ta ed. Hoboken, NJ: Wiley; 2023.
16. Vyzantiadis TV, Johnson EJ, Kibbler C. From the patient to the clinical mycology laboratory: how can we optimise microscopy and culture methods for mould identification? J Clin Pathol. 2012; 65: 475-483.
17. de Figueiredo DSY, de Almeida JN, Motta AL, Castro e Silva DM, Szeszs MW, Del Negro GMB. Evaluation of VITEK 2 for discriminating *Trichosporon* species: Misidentification of *Trichosporon non-T. asahii*. Diagn Microbiol Infect Dis. 2014; 80(1): 59-61.
18. Kuo SH, Lu PL, Chen YC, Ho MW, Lee CH, Chou CH, et al. The epidemiology, genotypes, antifungal susceptibility of *Trichosporon* species, and the impact of

voriconazole on *Trichosporon* fungemia patients. J Form Med Assoc. 2021; 120(9): 1686-1694.

19. Liao Y, Lu X, Yang S, Luo Y, Chen Q, Yang R. Epidemiology and outcome of *Trichosporon* fungemia: a review of 185 reported cases from 1975 to 2014. Open Forum Infect Dis. 2015; 2(4): 1-10

20. Garg V, Jones EK, Friedman BJ, Lee JB, Yang S. Invasive trichosporonosis treated with voriconazole. JAAD Case Rep. 2018; 4(4): 362–364.

21. Nobrega de Almeida J, Francisco EC, Holguín Ruiz A, Cuéllar LE, Rodrigues Aquino V, Verena Mendes A, et al. Epidemiology, clinical aspects, outcomes and prognostic factors associated with *Trichosporon* fungaemia: results of an international multicentre study carried out at 23 medical centres. J Antimicrob Chemother. 2021; 76 (7): 1907–1915.

22. Ruiz-Campos I, Cuenca-Estrella M. Antifúngicos para uso sistémico. Enferm Infecc Microbiol Clín. 2009; 27(6) :353-362.

23. Dabas Y, Xess I, Kale P. Molecular and antifungal susceptibility study on trichosporonemia and emergence of *Trichosporon mycotoxinivorans* as a bloodstream pathogen. Med Mycol. 2017; 55(5): 518–527.