



Nota

Queratitis fúngica por *Curvularia hominis*: primer caso descrito en España

Ana Miqueleiz Zapatero^{a,*}, Cristina Hernando^b, Josefa Barba^a y Buenaventura Buendía^a

^a Servicio de Microbiología y Parasitología, Hospital Universitario de la Princesa, Madrid, España

^b Servicio de Oftalmología, Hospital Universitario de la Princesa, Madrid, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 31 de marzo de 2017

Aceptado el 2 de marzo de 2018

On-line el 28 de septiembre de 2018

Palabras clave:

Curvularia hominis
Secuenciación de ADN
Úlcera corneal
Hongo dematiáceo
Queratitis fúngica

R E S U M E N

Antecedentes: *Curvularia* es un género fúngico dematiáceo responsable de queratitis, onicomycosis e infecciones de piel. En 2014, gracias a la secuenciación, se describieron cinco nuevas especies dentro del género, entre ellas *Curvularia hominis*. En este trabajo se describe el primer caso clínico de infección por *C. hominis* en España. Se trata de un caso de úlcera corneal producida por esta especie recientemente descubierta.

Caso clínico: Un varón de 46 años acudió a urgencias por presentar una úlcera corneal en el ojo izquierdo. Se le tomó muestra de la lesión e ingresó en el hospital por riesgo de perforación corneal. El cultivo de la muestra reveló un hongo filamentosos cuyo examen microscópico permitió identificar como *Curvularia* spp. Mediante espectrometría de masas MALDI-TOF el hongo fue identificado como *Curvularia lunata*. Para confirmar la identificación se envió el aislamiento al Centro Nacional de Microbiología de España, donde se llevó a cabo la secuenciación de la región ITS y finalmente se identificó como *C. hominis*. El paciente fue tratado con voriconazol y evolucionó favorablemente. Para la recuperación de la córnea dañada fue sometido a un trasplante de membrana amniótica.

Conclusiones: *C. hominis* debe ser considerado un agente causal de queratitis y en la actualidad las técnicas de secuenciación son necesarias para su identificación. Este caso clínico constituye el primero descrito en España producido por esta especie.

© 2018 Asociación Española de Micología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

First report of a case of fungal keratitis due to *Curvularia hominis* in Spain

A B S T R A C T

Keywords:

Curvularia hominis
DNA sequencing
Corneal ulcer
Dematiaceous fungus
Fungal keratitis

Background: Dematiaceous fungal genus *Curvularia* is a causal agent of keratitis, onychomycosis, and skin infections. In 2014, using DNA sequencing techniques, five new species, including *Curvularia hominis*, were described. In this article, a report is presented on the first clinical case of *C. hominis* infection in Spain. It concerns a corneal ulcer caused by this recently described species.

Case report: A 46 year-old male patient with a corneal ulcer in his left eye went to the Emergency Department. Specimens were obtained from the lesion, and the patient was admitted due to the risk of corneal perforation. The fungal culture of the specimens revealed a filamentous fungus that was identified by microscopic examination as *Curvularia* spp. Using mass spectrometry (MALDI-TOF) the isolate was identified as *Curvularia lunata*. To confirm the identification, the isolate was sent to the National Centre of Microbiology in Spain, where ITS region sequencing was performed, and it was finally identified as *C. hominis*. The patient received voriconazole and progressed favourably. To repair the corneal damage, the patient received an amniotic membrane transplantation.

Conclusions: *C. hominis* should be considered a causal agent of keratitis and sequencing techniques are now necessary for species-level identification of *Curvularia* isolates. This is the first case report in Spain caused by this species.

© 2018 Asociación Española de Micología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: anamiqueleiz@gmail.com (A. Miqueleiz Zapatero).

El género fúngico *Curvularia* incluye numerosas especies fitopatógenas y ambientales. Se trata de un hongo filamentosamente dematiáceo que en ocasiones se comporta como patógeno oportunista para el ser humano. Hay descritas más de cien especies de *Curvularia*, de las que solo unas pocas han sido aisladas de muestras clínicas. La especie que se aísla con más frecuencia es *Curvularia lunata*⁵. En 2014 la secuenciación de las regiones ITS (*internal transcribed spacers of the rDNA*), RPB2 (*RNA polymerase II second largest subunit*), LSU (*large subunit rDNA*) y del gen *gdp* (*glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase*) permitió la descripción de 5 nuevas especies: *Curvularia americana*, *Curvularia chlamydospora*, *Curvularia hominis*, *Curvularia muehlenbeckiae* y *Curvularia pseudolunata*⁴. El género *Curvularia* se ha asociado con diversas entidades clínicas como queratitis, endoftalmitis, sinusitis, infecciones cutáneas, onicomicosis, así como enfermedad diseminada en pacientes inmunodeprimidos³.

Las queratitis por hongos filamentosos suelen presentarse en forma de úlceras corneales de bordes irregulares, generalmente asociadas a traumatismos oculares por impacto de elementos vegetales o telúricos, así como al uso de lentes de contacto. Es un cuadro potencialmente grave que puede ocasionar la pérdida definitiva de la visión, por lo que precisa de un diagnóstico clínico y etiológico rápido. *Curvularia* es la tercera causa de queratitis por hongos filamentosos después de los géneros *Fusarium* y *Aspergillus*, y, por tanto, el hongo dematiáceo más frecuentemente aislado⁷. A continuación presentamos el primer caso descrito en España de úlcera corneal ocasionado por *Curvularia hominis*, una especie de reciente descripción.

Caso clínico

Un varón de 46 años, ecuatoriano y residente en España desde un mes antes de este episodio, acudió al servicio de urgencias de nuestro hospital por presentar una úlcera corneal paracentral temporal en el ojo izquierdo. Padecía también diabetes mellitus tipo 2 no controlada y, como antecedente, un traumatismo con material contaminado procedente de una obra en la que trabajaba. No había otros antecedentes médicos ni oftalmológicos de interés. En el examen oftalmológico el paciente presentaba una zona de infiltración blanquecina con bordes plumosos irregulares y lesiones satélites estromales de aspecto filamentosos; no se observaron signos de inflamación intraocular en el momento del diagnóstico. Se le tomó una muestra de la úlcera mediante raspado corneal con dos agujas estériles (una para el estudio bacteriológico y otra para el micológico) y el paciente fue ingresado debido al riesgo de perforación por adelgazamiento corneal. Se inició un tratamiento tópico en forma de colirio con vancomicina (1 gota/2 h), ceftazidima (1 gota/2 h), tobramicina (1 gota/2 h), voriconazol (1 gota/4 h), Voltaren (1 gota/8 h) y un ciclopléjico (1 gota/8 h), además de un tratamiento intravenoso con moxifloxacino (400 mg/24 h). La muestra del raspado corneal fue procesada en el laboratorio de Microbiología del hospital. La siembra se realizó en agar sangre, agar chocolate, agar Sabouraud-cloranfenicol y caldo tioglicolato, con incubación de todos los medios en atmósfera aerobia y a 37 °C, excepto el agar Sabouraud-cloranfenicol, que se incubó a 30 °C, y el agar chocolate, que fue incubado en atmósfera de CO₂.

A las 48 h de incubación se observó en el agar Sabouraud-cloranfenicol el crecimiento de un hongo filamentosamente blanquecino de aspecto algodonoso, que en el transcurso de los días fue adquiriendo una coloración verde oscura y finalmente negra (figs. 1-3); también se encontraba presente en agar chocolate y agar sangre. No se observó crecimiento bacteriano. Se realizó una tinción de azul de lactofenol, que permitió observar en el examen microscópico las siguientes características: presencia de hifas septadas de color pardo con conidióforos curvados. Los macroconidios presentaban

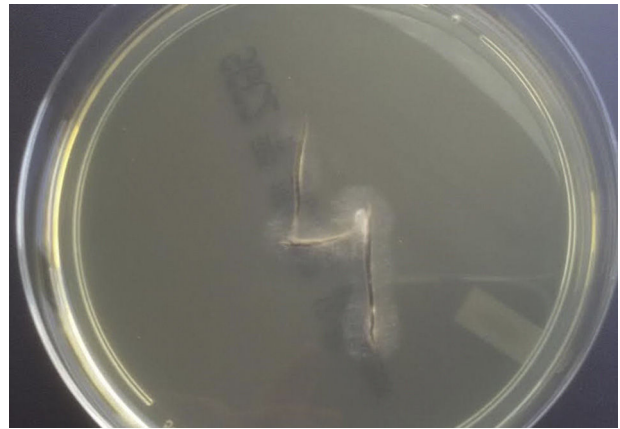


Figura 1. Aspecto del hongo en Sabouraud-cloranfenicol tras 4 días.

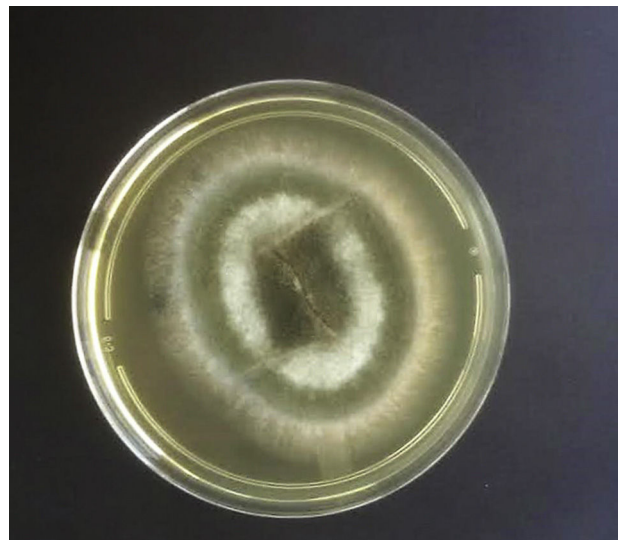


Figura 2. Aspecto del hongo en Sabouraud-cloranfenicol tras 8 días.



Figura 3. Aspecto del hongo en Sabouraud-cloranfenicol tras 15 días.

curvatura y septos transversales que los dividían más frecuentemente en 4 células, con la tercera célula desde la base más grande y oscura (fig. 4). Este examen microscópico permitió su identificación como *Curvularia* spp. Mediante espectrometría de masas (MALDI-TOFMS) el aislamiento fue identificado como *C. lunata* con un score de 1,777.

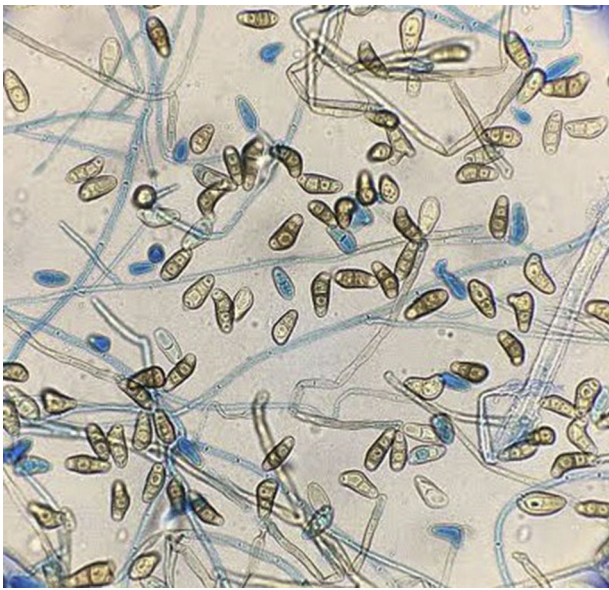


Figura 4. Tinción de azul de lactofenol donde se observan los macroconidios.

Para confirmar la especie y determinar la sensibilidad a los antifúngicos se envió la cepa al Centro Nacional de Microbiología-Instituto de Salud Carlos III (CNM), donde se identificó como *C. hominis* mediante la amplificación y secuenciación de la región ITS⁹. Las secuencias obtenidas fueron ensambladas y editadas con los softwares SeqMan II y EdiSeq (Lasergene, DNASTAR, Inc., Madison, WI, EE.UU.). El análisis posterior de las secuencias se realizó mediante la comparación de estas secuencias con las secuencias de especies de *Curvularia* de la base de datos Genbank (<http://www.ncbi.nih.gov/GenBank/>). La región ITS de la cepa enviada presentó un 100% de similitud con la región ITS de la cepa de *C. hominis* UTHSC 09-464 (Genbank: HG779011). Este resultado permitió finalmente identificar la cepa enviada como *C. hominis*.

La determinación de la sensibilidad a los antifúngicos fue realizada también en el CNM mediante dilución en caldo con la metodología del *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST)¹. Para cada antifúngico testado se determinó la concentración mínima inhibidora (CMI), a excepción de las equinocandinas, con las cuales se determinó la concentración mínima efectiva (CME). Los resultados se muestran en la [tabla 1](#).

El paciente permaneció ingresado 14 días, con buena respuesta al tratamiento tópico y regresión de la zona de infiltración. Como secuela se produjo un adelgazamiento corneal, por lo que se realizó un trasplante de membrana amniótica a los 13 días del ingreso una vez controlada la infección y desbrida la zona dañada. La evolución clínica del paciente fue buena, lo que le permitió ser dado de alta para continuar en su domicilio el tratamiento tópico con colirios de voriconazol (1 gota/2 h), vancomicina (1 gota/2 h), cefazidima (1 gota/2 h) y ciclopléjico (1 gota/8 h) hasta la regresión completa de la zona de infiltración. En la primera revisión, reali-

zada a los 5 días tras el alta hospitalaria, el paciente no presentó signos de inflamación ocular ni de infección. Persistía un leucoma perilimbar con *pannus* asociado y adelgazamiento corneal que respetaba el eje visual. En las siguientes revisiones persistió el buen estado de la córnea y se mantuvo el tratamiento con voriconazol (1 gota/2 h) durante 2 meses tras el alta hospitalaria.

Discusión

Las queratitis fúngicas han de ser consideradas en el diagnóstico diferencial de todo absceso corneal con antecedente de traumatismo, especialmente con material de origen vegetal, al ser este el principal factor de riesgo⁶. En este caso clínico es muy posible que el origen de la infección sea el traumatismo con material de obra contaminado que sufrió el paciente mientras trabajaba. El hongo dematiáceo *Curvularia* ha de ser considerado un agente causante de queratitis y úlceras corneales. *C. hominis*, así llamada porque todos los aislamientos utilizados para su descripción procedían de muestras clínicas humanas⁴, es una especie recientemente descrita, y este caso clínico se trata del primero conocido por esta especie en España. Las catorce cepas caracterizadas en la descripción de la nueva especie procedían de los siguientes lugares anatómicos: córnea y ojos (3), senos paranasales, fosas nasales y nasofaringe (6), uñas (2), lavado bronquial (2) y otros (1)⁴. La secuenciación de la región ITS de la cepa de este caso clínico determina que es la misma cepa de *C. hominis* que una de las aisladas en córnea (UTHSC 09-464) en el estudio de descripción de la nueva especie⁴ al presentar un 100% de similitud con ella.

La espectrometría de masas ha supuesto un avance muy importante en la identificación de bacterias y hongos, pero es necesario tener en cuenta que su base de datos no está completa. En nuestro caso MALDI-TOF MS (Bruker, Alemania) identificó la cepa como *C. lunata* debido a que *C. hominis* no está incorporada en la versión utilizada por nosotros (MALDI Biotyper OC 3.1). Por lo tanto, en casos de infecciones potencialmente graves o invasivas creemos necesaria la realización de técnicas moleculares de secuenciación para la correcta y definitiva identificación de las cepas aisladas en cultivo. Solo de esta manera, como en nuestro caso, se conseguirá la descripción de nuevas, o recientemente descritas, especies como agentes causales de infecciones fúngicas.

Se desconoce el tratamiento de elección de la queratitis por *Curvularia*. En algunos casos se ha utilizado natamicina tópica. También la anfotericina B y el voriconazol se han mostrado efectivos en algunos casos, tanto *in vivo* como *in vitro*⁷. *In vitro*, los antifúngicos más activos frente al género *Curvularia* han sido la anfotericina B, la micafungina y el posaconazol. De las equinocandinas, la micafungina y la anidulafungina parecen ser más activas que la caspofungina, como en el caso de nuestro aislamiento. Con el itraconazol y el voriconazol algunas especies presentan elevadas CMI, al igual que la cepa de este estudio². En nuestro caso, la cepa mostró una elevada CMI al voriconazol, mientras que se mostró más sensible a la anfotericina B y las equinocandinas. En nuestro paciente se produjo una discordancia entre la resistencia del hongo al voriconazol y la aparente buena respuesta clínica a este agente, lo que llevó a mantener dicho tratamiento a pesar de la resistencia *in vitro*. En muchas ocasiones no se observa una buena correlación entre los datos de sensibilidad obtenidos *in vitro* y la respuesta *in vivo*⁸. La existencia de muchos factores, tanto en el huésped como en los propios fármacos, que juegan un papel crucial en la evolución del tratamiento, dificultan la predicción del éxito terapéutico, que suele apoyarse en los valores *in vitro*⁸. En este caso clínico hay que considerar que la buena evolución del paciente pudo deberse también al desbridamiento de la zona afectada realizada antes de la operación del trasplante de membrana amniótica. A pesar de las posibles discordancias entre la sensibilidad *in vitro* y la respuesta *in vivo* al

Tabla 1
Resultados de la sensibilidad *in vitro* a los antifúngicos

Antifúngico	CMI (mg/l)	CME (mg/l)
Anfotericina B	0,25	—
Voriconazol	> 8	—
Itraconazol	> 8	—
Posaconazol	> 8	—
Terbinafina	16	—
Micafungina	—	0,015
Caspofungina	—	0,5
Anidulafungina	—	0,06

tratamiento consideramos importante realizar pruebas de sensibilidad a aislamientos fúngicos causantes de infecciones invasoras, incluso en el caso de especies poco frecuentes clínicamente para las que no se dispone de puntos de corte clínicos. Solo de esta forma se irá incrementando la base de datos necesaria para definirlos.

En definitiva, describimos el primer caso en nuestro país de una queratitis fúngica producida por una especie de reciente descripción como es *C. hominis*.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Agradecimientos

Nos gustaría agradecer a la Dra. Ana Alastruey (Laboratorio de Micología, Centro Nacional de Microbiología) su colaboración.

Bibliografía

1. Arendrup MC, Cuenca-Estrella M, Lass-Flörl C, Hope W, Howard SJ, and the Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (AFST) of the ESCMID European

Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for conidia forming moulds. Eucast Definitive Document EDef 9.3. 2015;1:1–23.

2. Da Cunha KC, Sutton DA, Fothergill AW, Gené J, Cano J, Madrid H, et al. In vitro antifungal susceptibility and molecular identity of 99 clinical isolates of the opportunistic fungal genus *Curvularia*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013;76:168–74.
3. Larone DH. *Dematiaceus Fungi. Medically Important Fungi: A Guide to Identification.* 5th ed Washington DC: ASM Press; 2011. p. 229.
4. Madrid H, da Cunha KC, Gené J, Dijksterhuis J, Cano J, Sutton DA, et al. Novel *Curvularia* species from clinical specimens. *Persoonia.* 2014;33:48–60.
5. Manamgoda DS, Rossman AY, Castlebury LA, Chuksaitirote E, Hyde KD. A taxonomic and phylogenetic re-appraisal of the genus *Curvularia* (Pleosporaceae): Human and plant pathogens. *Phytotaxa.* 2015;212:175–98.
6. Mellado F, Rojas T, Cumsille C. Queratitis fúngica: revisión actual sobre diagnóstico y tratamiento. *Arq Bras Oftalmol.* 2013;76:52–6.
7. Pathengay A, Miller DM, Flynn HW, Dubovy SR. *Curvularia* endophthalmitis following open globe injuries. *Arch Ophthalmol.* 2012;130:652–4.
8. Sanchis M. Evaluación experimental de terapias antifúngicas frente a hongos oportunistas emergentes [tesis doctoral]. Tarragona, España: Departamento de Ciencias Médicas Básicas, Universidad Rovira i Virgili; 2016.
9. White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En: Innis M, editor. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications.* San Diego: Academic Press; 1990. p. 315–22.