

## **Informe de la vigilancia basada en laboratorio de los aislamientos de *Candida auris* identificados en Costa Rica, 2019-2023**

Período: junio 2019 - febrero 2023

Fecha: enero 2024



### **Resumen**

*Candida auris* es un hongo levaduriforme que representa un problema de salud pública debido a las dificultades que existen para su identificación, su resistencia múltiple a los antifúngicos y su capacidad para persistir en el ambiente hospitalario diseminándose entre los pacientes con gran facilidad. Estas características determinan altos porcentajes de morbilidad y mortalidad, por lo que es vital la sospecha clínica y microbiológica, así como las acciones de prevención de brotes hospitalarios.

En Costa Rica se han identificado dos pacientes portadores de *C. auris*. En junio de 2019, se aisló la primera cepa de un hemocultivo de un paciente internado en el Hospital Calderón Guardia. El segundo aislamiento fue recuperado del líquido peritoneal de un paciente que ingresó a emergencias del Hospital México en febrero del año 2023.

La secuenciación completa de los genomas y los análisis bioinformáticos realizados en el Inciensa permitieron confirmar que los aislamientos 545539 y 785726 corresponden a dos cepas de *C. auris*, estrechamente similares entre sí y pertenecientes filogenéticamente al "Clado IV", junto a otras cepas de la región y a cepas aisladas en otras partes del mundo. Ninguna de las cepas acarrea mutaciones asociadas previamente a la resistencia de 5-flucitosina, anidulafungina, caspofungina, micafungina y fluconazol.

Cita sugerida: Cob M, Gutiérrez R. **Informe de la vigilancia basada en laboratorio de los aislamientos de *Candida auris* identificados en Costa Rica, 2019-2023**. Tres Ríos, Costa Rica: Inciensa, 2024. Disponible en: <http://www.inciensa.sa.cr>

# Informe de la vigilancia basada en laboratorio de los aislamientos de *Candida auris*, Costa Rica, 2019 - 2023

## Introducción

*Candida auris* es un hongo levaduriforme que representa un problema de salud pública debido a las dificultades que existen para su identificación, su resistencia múltiple a los antifúngicos y su capacidad para persistir en el ambiente hospitalario diseminándose entre los pacientes con gran facilidad. Estas características determinan altos porcentajes de morbilidad y mortalidad, por lo que es de suma importancia una sospecha clínica y microbiológica constante. Las acciones que a nivel nacional se tomen para la identificación oportuna de este patógeno y la prevención de brotes hospitalarios son indispensables para proteger la vida de los pacientes más vulnerables.

Ante las alertas que a nivel internacional se dieron durante el desarrollo de la pandemia por Covid-19 (1), el Laboratorio de Micología Médica (LMM) estableció en octubre del año 2021 el programa de vigilancia para la detección de *C. auris*, invitando a todos los hospitales del país a participar. Desde entonces y hasta la fecha el programa permite a los laboratorios clínicos públicos y privados, referir al LMM todos los aislamientos provenientes de pacientes hospitalizados que fueran preliminarmente identificados como: *C. auris*, *C. haemulonii*, *C. duobushaemulonii*, *C. lusitaniae*, *C. famata*, *C. guilliermondii* y *Candida spp.*, para su confirmación diagnóstica (2). La identificación definitiva se realiza mediante la técnica de espectrometría de masas MALDI-TOF y en caso de hallarse un aislamiento positivo se realiza la prueba de sensibilidad a los antifúngicos y la secuenciación completa de su genoma.

A la fecha se han identificado dos pacientes portadores de *C. auris* en Costa Rica. En junio de 2019, se aisló la primera cepa de un hemocultivo de un paciente internado en el Hospital Calderón Guardia. El segundo aislamiento fue recuperado del líquido peritoneal de un paciente que ingresó a emergencias del Hospital México en febrero del año 2023.

Este informe tiene como objetivo dar a conocer las características epidemiológicas, los resultados de las pruebas de sensibilidad y el análisis genómico realizado en Inciensa a las primeras dos cepas de *C. auris* aisladas en el país.

## Características epidemiológicas de los aislamientos

En el cuadro 1 se resumen los datos epidemiológicos de las cepas de *C. auris* aisladas hasta el año 2023 en Costa Rica.

**Cuadro 1. Datos epidemiológicos de los aislamientos de *C. auris* identificados en Costa Rica hasta diciembre del año 2023.**

<b>Número muestra</b>	<b>Hospital que refiere</b>	<b>Origen de la muestra</b>	<b>Fecha toma muestra</b>	<b>Sexo paciente</b>	<b>Edad paciente</b>
<b>545539</b>	H. Calderón Guardia	Sangre	2019-06-05	Masculino	37
<b>785726</b>	H. México	Líquido peritoneal	2023-02-16	Masculino	79

Fuente: Laboratorio de Micología Médica, Centro Nacional de Referencia en Bacteriología, Inciensa, 2023

La identificación oportuna y el correcto manejo de los pacientes por parte de los profesionales de ambos centros hospitalarios evitó la diseminación del patógeno, el contagio de otros pacientes y la posible aparición de un brote.

### **Pruebas de sensibilidad a los antifúngicos realizadas a los aislamientos**

Según el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI), todas las colonias aisladas de *C. auris* deben someterse a pruebas de sensibilidad a los antifúngicos (PSA).

Aunque muchas cepas de *C. auris* son multirresistentes, los niveles de resistencia a los antifúngicos pueden variar mucho entre diferentes aislamientos.

En la actualidad no hay puntos de corte establecidos que permitan determinar la sensibilidad específica para *C. auris*. Por tanto, los valores críticos se definen con base en los establecidos para las especies de *Candida* estrechamente relacionadas con *C. auris* y en la opinión de expertos. Los llamados puntos de corte tentativos corresponden a los valores que por el momento se utilizan como referencia para la toma de decisiones clínicas, sin embargo, no permiten hacer una interpretación certera de las concentraciones mínimas registradas. Los puntos de corte tentativos se pueden encontrar en la página web de los CDC (3).

En el cuadro 2 se detallan los resultados obtenidos en las pruebas de sensibilidad a los antifúngicos realizadas a las cepas aisladas de acuerdo a las metodologías empleadas. Como se puede observar, la cepa aislada en el 2019 en el Hospital Calderón Guardia (#545539) presenta una probable resistencia a fluconazol, mientras que la cepa aislada en el año 2023 en el Hospital México (#785726), no presenta ninguna resistencia a los antifúngicos probados, según la interpretación realizada de acuerdo a los puntos de corte sugeridos.

## Cuadro 2. Pruebas de sensibilidad a los antifúngicos realizadas a las cepas de *C. auris* aisladas en Costa Rica hasta diciembre del 2023

Antifúngico probado	CIM <sup>1</sup> (µg/ml) cepa 545539	CIM <sup>2</sup> (µg/ml) cepa 785726
Anfotericina	0.125	0.5
Voriconazol	0.5	0,015
Fluconazol	64	2
Itraconazol	0.5	0.06
Posaconazol	0.25	0.03
Anidulafungina	0.125	0.06
Caspofungina	0.5	0.03
Micafungina	0.5	0.06

Fuente: Laboratorio de Micología Médica, Centro Nacional de Referencia en Bacteriología, Inciensa, 2023

CIM: Concentración inhibitoria mínima, en base a los puntos de corte tentativos descritos por el CDC

<sup>1</sup> Metodología CLSI M27, excepto Anfotericina B que se realizó con E-test, realizado en la División de Micología de los CDC

<sup>2</sup> Metodología Sensititre YO10, excepto Anfotericina B que se realizó con E-test, realizado en el LMM de Inciensa

### Análisis del genoma completo de los aislamientos de *C. auris* referidos

Ambos aislamientos se secuenciaron mediante la tecnología de fragmentos cortos (Illumina). Una vez obtenidas las secuencias crudas se realizó una limpieza y curación de éstas, seguido de un ensamblaje *de novo* de los genomas. Se evaluó la calidad de los ensamblajes utilizando como genoma de referencia la *C. auris* B11220 (GFC003013715.1).

Para el análisis de identificación taxonómica se realizó una comparación preliminar para ambos ensamblajes en comparación con genomas de referencia del género *Candida* descargados de la base de datos bioinformáticos pública de los Estados Unidos, "NCBI" (por sus siglas en inglés) (4). Además, los ensamblajes fueron evaluados en la herramienta online *Pathogenwatch* (5) que incluye un análisis de identificación taxonómica y la determinación de elementos genéticos asociados a resistencia antimicrobiana.

Para identificar la relación filogenética de los aislamientos de *C. auris* de Costa Rica, se empleó la herramienta *mycosnp-nf* (6) desarrollada por el CDC de los Estados Unidos, la cual identifica los polimorfismos o mutaciones (SNPs) en cepas de estudio en comparación a un genoma de referencia. Para ello, se descargaron las secuencias de cepas representantes de los cinco clados filogenéticos, previamente descritos para esta levadura (7). Adicionalmente, se realizó una comparación global del promedio de identidad de nucleótidos (ANI) incluyendo los dos ensamblajes de estudio junto a 166 ensamblajes de *C. auris* de referencia curados y depositados en NCBI (8). Con respecto a determinantes

genéticos asociados a resistencia antimicrobiana, tanto los ensamblajes como las secuencias cortas curadas fueron analizadas en *Pathogenwatch*, para la exploración de mutaciones en los genes *FUR1*, *FCY1*, *ERG11*, *FKS1*, y *CDR1*, asociadas a resistencia a 5-flucitocina, anidulafungina, caspofungina, micafungina y fluconazol. Las características genómicas de los aislamientos de *C. auris* referidos al LMM se resumen en el cuadro 3.

### Cuadro 3. Características genómicas de los ensamblajes

<b>Características genómicas</b>	<b>Aislamiento 545539</b>	<b>Aislamiento 785726</b>
Organismo	<i>C. auris</i>	<i>C. auris</i>
Referencia y clado	B12342-Clade_IV	B12342-Clade_IV
Contigs (N)	304	479
Longitud (bp)	12,386,818	12,513,076
N50 (bp)	102,856	202,039
G+C (%)	45.1	45.3

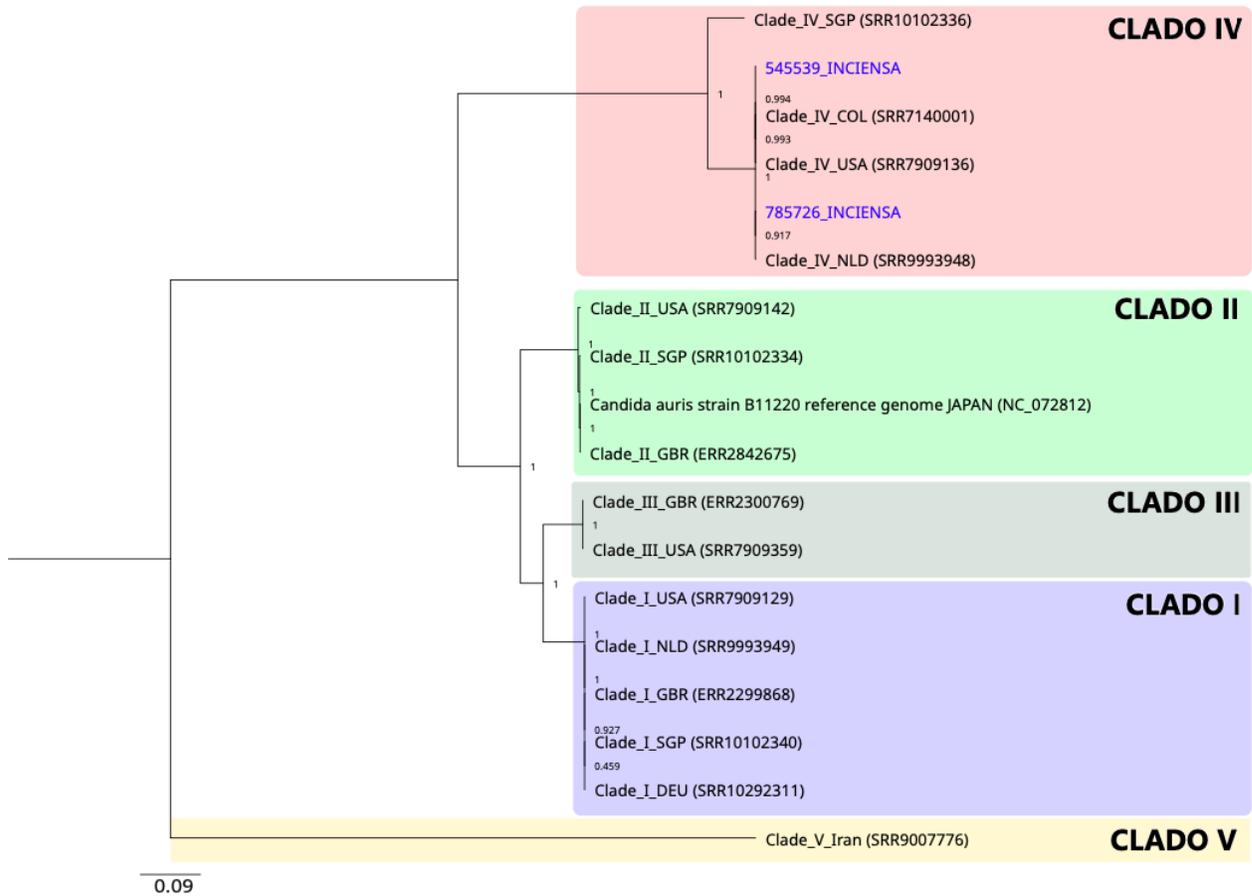
Fuente: Centro Nacional de Referencia en Bacteriología, Inciensa, 2023

Los análisis bioinformáticos comprobaron la identificación de los aislamientos como *C. auris*, siendo 98.4% (% ANI) similares a la cepa de referencia *C. auris* B11220, aislada en Japón en el 2009. Por su parte, los ensamblajes de las cepas 545539 y 785726 mostraron una identidad nucleótida de 99.9% (%ANI) entre ellas. Según el análisis basado en SNPs, estas cepas se diferencian en apenas 228 SNPs.

Las cepas fueron clasificadas como clado IV, junto a las cepas de referencia del clado IV incluidas para este análisis.

En la figura 1 se distinguen sobre recuadros coloreados los cinco clados descritos para esta especie. En azul se resaltan las cepas de Costa Rica referidas al LMM del Inciensa.

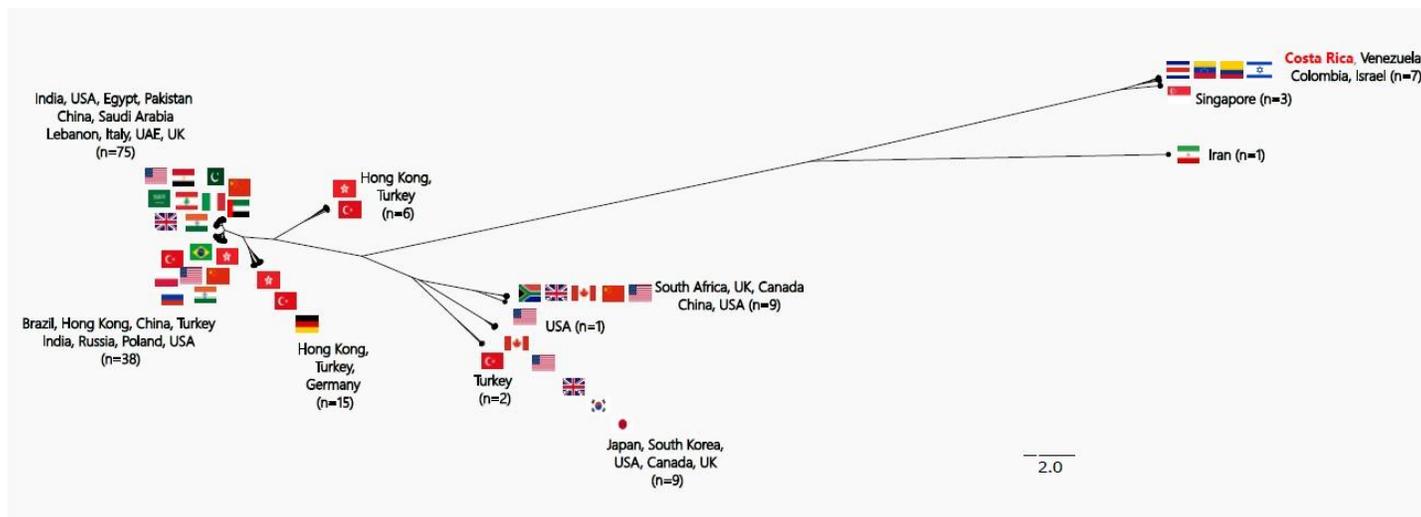
**Figura 1. Árbol de máxima verosimilitud construido a partir del alineamiento de las SNPs obtenidas del mapeo de las secuencias cortas contra el genoma de referencia *C. auris* cepa B11220 (ASM301371v2).**



Fuente: Centro Nacional de Referencia en Bacteriología, Inciensa, 2023

El análisis global de los ensamblajes obtenidos confirmó la relación filogenética entre las cepas referidas a Inciensa (545439 y 785726) y los genomas del clado IV aisladas en la región (Colombia y Venezuela), así como las cepas pertenecientes a este clado, aisladas en otras partes del mundo (Estados Unidos, Países Bajos, Israel y Singapur) tal y como se muestra en la figura 2.

**Figura 2. Dendrograma construido utilizando ANIclusterMap a partir del cálculo de ANI (fastANI) entre los ensamblajes de referencia de *C. auris*.**



Fuente: Centro Nacional de Referencia en Bacteriología, Inciensa, 2023

La exploración de determinantes genéticos asociados a resistencia antimicrobiana, realizado a través de la herramienta *Pathogenwatch*, no arrojó ningún resultado positivo (cuadro 4). Por tanto, la resistencia potencial a fluconazol observada en la cepa de *C. auris* 545539, aislada en el Hospital Calderón Guardia podría estar asociada a otros determinantes o mecanismos aún no descritos.

**Cuadro 4. Determinantes genéticos presentes en los aislamientos de *C. auris* asociados a resistencia antifúngica**

Antifúngico	Determinantes de resistencia	Aislamiento 545539	Aislamiento 785726
5-Flucitosina	FUR1-F211I & S84L, FCY1-S70R	Ninguno	Ninguno
Anidulafungina	FKS1 -S639P, S639F, S639Y & F635C	Ninguno	Ninguno
Caspofungina	FKS1 -S639P, S639F, S639Y & F635C	Ninguno	Ninguno
Micafungina	FKS1 -S639P, S639F, S639Y & F635C	Ninguno	Ninguno
Fluconazole	ERG11 – Y132F, K143R & F126L, CDR1 – V704L	Ninguno	Ninguno

Fuente: Centro Nacional de Referencia en Bacteriología, Inciensa, 2023

## Conclusión

En Costa Rica se han aislado hasta el año 2023 únicamente dos cepas de *C. auris*, la primera en junio del 2019 y la segunda en febrero del 2023. En ambos casos la identificación oportuna y el correcto manejo de los pacientes por parte de los profesionales de ambos centros hospitalarios evitó la diseminación del patógeno y el posible desencadenamiento de brotes intrahospitalarios.

La cepa aislada en el 2019 en el Hospital Calderón Guardia presenta una probable resistencia a fluconazol, mientras que la cepa aislada en el año 2023 en el Hospital México no presentó ninguna resistencia a los antifúngicos probados.

La secuenciación completa del genoma y los análisis bioinformáticos realizados en Inciensa permitieron confirmar que los aislamientos 545539 y 785726 corresponden a dos cepas de *C. auris*, estrechamente similares y pertenecientes filogenéticamente al Clado IV, junto a otras cepas de la región y a cepas aisladas en otras partes del mundo. Ninguna de las cepas acarrea mutaciones asociadas previamente a la resistencia de 5-flucitosina, anidulafungina, caspofungina, micafungina y fluconazol.

## Referencias

1. <https://www.paho.org/es/documentos/alerta-epidemiologica-brotes-candida-auris-servicios-atencion-salud-contexto-pandemia>
2. <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/identification.html>
3. <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/c-auris-antifungal.html>
4. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly>
5. <https://pathogen.watch/>
6. Bagal UR, Phan J, Welsh RM, Misas E, Wagner D, Gade L, Litvintseva AP, Cuomo CA, Chow NA. 2022. MycoSNP: A Portable Workflow for Performing Whole-Genome Sequencing Analysis of *Candida auris*. *Methods Mol Biol* 2517:215-228
7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/>
8. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>