

Identificación rápida de *C. auris*, *C. haemulonii* y sus especies relacionadas.

Theill L¹, Dudiuk C^{1,2}, Morales-Lopez S³, Gamarra S¹, Garcia-Effron G^{1,2}

1- Laboratorio de Micología y Diagnóstico Molecular – Cátedra de Parasitología y Micología - Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe (Santa Fe).

2- CONICET

3- Universidad Popular del Cesar. Valledupar (Colombia).

Introducción

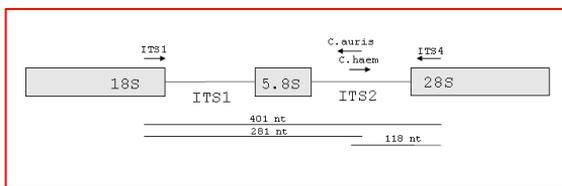
Candida auris, *C. haemulonii* y sus especies relacionadas (*C. pseudohaemulonii* y *duobushaemulonii*) son patógenos emergentes poco sensibles a los antifúngicos disponibles. El CDC recomienda que todo paciente colonizado o infectado con *C. auris* debe ser aislado debido al gran riesgo de propagación en forma de brote intrahospitalario (1). *C. auris* no se puede identificar por los métodos automatizados utilizados rutinariamente en hospitales. Las metodologías que permiten su correcta identificación incluyen Maldi-TOF (Bruker) y secuenciación de las regiones ITS del operon ribosomal (2).

Objetivo

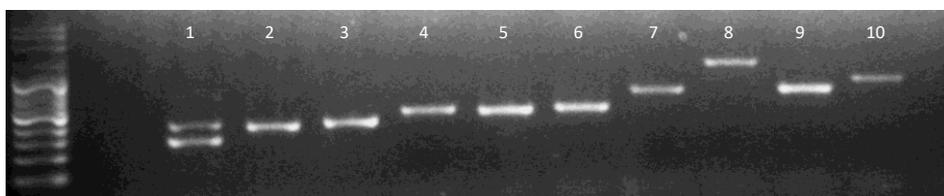
Diseñar un método rápido y poco costoso de identificación de *Candida spp.* emergentes que pueda utilizarse a partir de cultivos y muestras clínicas.

Materiales y métodos

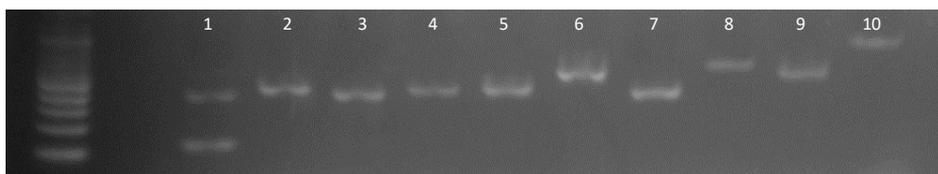
- Cepas:** Se utilizaron 17 *C. auris*, 3 *C. haemulonii*, 3 *C. guilliermondii*, 1 *C. pseudohaemulonii*, 1 *C. sake*, 1 *Cryptococcus neoformans*, 2 *C. krusei*, 1 *C. dubliniensis*, 1 *Rhodotorula glutinis*, 3 *Saccharomyces cerevisiae*, 1 *C. famata*, 1 *C. orthopsilosis*, 3 *C. lusitaniae*, 3 *C. albicans*, 3 *C. parapsilosis*, 3 *C. tropicalis* y 3 *C. glabrata*.
- Identificación:** por MALDI-TOF Shimadzu, MALDI-TOF Bruker y secuenciación de ITS (considerada “gold-estándar” para evaluar el método de identificación propuesto en este trabajo).
- Biología molecular:** El DNA de las 50 cepas se extrajo por el método fenol-cloroformo, se realizó la amplificación por PCR y se analizó por electroforesis.
- Diseño de primers:** se basó en las secuencias ITS. Se generó una PCR-multiplex. Los tubos contenían primers ITS universales (controles internos: ITS1 e ITS4) y los primers de identificación específicos para *C. auris* y *C. haemulonii*.



Resultados



1, *C. auris*. 2, *C. pseudohaemulonii*. 3, *C. sake*. 4, *Cryptococcus neoformans*. 5, *C. krusei*. 6, *C. dubliniensis*. 7, *Rhodotorula glutinis*. 8, *S. cerevisiae*. 9, *C. famata*. 10, *C. guilliermondii*.



1, *C. haemulonii*. 2, *C. pseudohaemulonii*. 3, *C. sake*. 4, *C. orthopsilosis*. 5, *C. lusitaniae*. 6, *C. albicans*. 7, *C. neoformans*. 8, *C. parapsilosis*. 9, *C. tropicalis*. 10, *C. glabrata*.

Conclusiones

La PCR diseñada demostró ser capaz de diferenciar *C. auris* y *C. haemulonii* de sus especies relacionadas y de otras levaduras. La PCR propuesta es rápida y utiliza equipos de PCR estándar, lo que la vuelve accesible. Este método sería una herramienta útil a la hora de decidir si se debe aislar a un paciente y así evitar la transmisión horizontal de *C. auris*. Además, tiene el potencial de ser utilizada directamente a partir de muestras clínicas sin cultivo previo.

Bibliografía

Center for Disease Control and Prevention. *Candida auris* Interim Recommendations for Healthcare Facilities and Laboratories. 16-3-2016. <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/candidiasis/recommendations.html>

Kathuria S. et al. Multidrug-Resistant *Candida auris* Misidentified as *Candida haemulonii*: Characterization by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry and DNA Sequencing and Its Antifungal Susceptibility Profile Variability by Vitek 2, CLSI Broth Microdilution, and Etest Method. *J.Clin Microbiol.* 2015; 53:1823-1830.