

IDENTIFICACIÓN Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIFÚNGICA DE AISLAMIENTOS CLÍNICOS COSTARRICENSES DEL COMPLEJO DE ESPECIES *CANDIDA HAEMULONII*

IDENTIFICATION AND ANTIFUNGAL SUSCEPTIBILITY OF COSTA RICAN CLINICAL ISOLATES OF CANDIDA HAEMULONII SPECIES COMPLEX

Alejandra Gómez-Arrieta¹, Daniela Jaikel-Viquez², Cindy Sandi-Villalobos³, Norma T. Gross⁴,

RESUMEN

Introducción: El complejo de especies *Candida haemulonii* conforma un grupo de levaduras emergentes involucradas en candidemia, peritonitis, infecciones a nivel óseo y tejidos blandos, otitis y onicomicosis y presentan una baja susceptibilidad a los antifúngicos. Por lo tanto, el presente estudio tiene como **objetivo** el identificar y determinar el patrón de susceptibilidad antifúngica de aislamientos clínicos costarricense pertenecientes a este complejo. **Materiales y Métodos:** Se realizó un estudio observacional de tipo prospectivo transversal para identificar, a nivel de especie, 48 aislamientos clínicos del complejo de especies *C. haemulonii* provenientes de uñas, piel y hemocultivo, previamente donados a la Micoteca de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica, utilizando los sistemas VITEK®2 y MALDI Biotyper®. Además, se determinó el patrón de susceptibilidad utilizando el método de referencia del CLSI (de las siglas en inglés, *Clinical and Laboratory Standards Institute*) para caspofungina, fluconazol e

¹ Universidad de Costa Rica. San Pedro, Costa Rica. Correo electrónico: alejandra.gomez@ucr.ac.cr, <https://orcid.org/0009-0008-8244-0451>.

² Universidad de Costa Rica. San Pedro, Costa Rica. Correo electrónico: daniela.jaikelviquez@ucr.ac.cr, <https://orcid.org/0000-0002-3553-5393>.

³ Universidad de Costa Rica. San Pedro, Costa Rica. Correo electrónico: cindysandiv@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0008-0048-4865>.

⁴ Universidad de Costa Rica. San Pedro, Costa Rica. Correo electrónico: norma.gross@ucr.ac.cr, <https://orcid.org/0000-0002-5710-1297>.

itraconazol, el MIC Test Strip® para anfotericina B y el sistema VITEK®2 para anfotericina B, caspofungina y fluconazol. **Resultados:** Los aislamientos fueron identificados como *C. duobushaemulonii* (58,3 %; n = 28) y *C. haemulonii* (41,7 %; n = 20). Los antifúngicos que presentaron las concentraciones mínimas inhibitorias (CMIs) más bajas fueron itraconazol y caspofungina, seguidos por fluconazol. La anfotericina B presentó las CMIs más altas. **Conclusión:** *C. duobushaemulonii* fue la especie más prevalente. La caspofungina fue el antifúngico que presentó la mayor actividad antifúngica contra las especies de este complejo, mientras que la anfotericina B la menor.

PALABRAS CLAVES: Antifúngicos, Complejo de especies *Candida haemulonii*, Patrón de susceptibilidad

ABSTRACT

Background: The *Candida haemulonii* species complex is a group of emergent yeasts involved in candidemia, peritonitis, bone and soft tissue infections, otitis, and onychomycosis. It is worth noting that they present a decreased susceptibility to the different antifungal drugs available. Therefore, the present study aims to identify and determine the antifungal susceptibility patterns of Costa Rican clinical isolates from this complex. **Materials and Methods:** A cross-sectional observational study was performed to identify 48 clinical isolates of the *C. haemulonii* species complex, to the species level, by using VITEK®2 system and MALDI Biotyper®. The isolates analysed belonged to the Fungal Collection of the University of Costa Rica. The Clinical and Laboratory Standards Institute M27-A3 reference microdilution method was used to evaluate Caspofungin, Fluconazole and Itraconazole, and the MIC Test Strip® was used for Amphotericin B. The VITEK®2 system was also used to evaluate Amphotericin B, Caspofungin and Fluconazole. **Results:** The isolates were identified as *C. duobushaemulonii* (58,3 %; n = 28) and *C. haemulonii* (41,7 %; n = 20). Caspofungin and Itraconazole showed the lowest minimum inhibitory concentrations, followed by Fluconazole. On the other hand, Amphotericin B exhibited significant higher MIC values. **Conclusion:** *C. duobushaemulonii* was the most prevalent species identified. Caspofungin was the treatment that presented the highest antifungal activity, while amphotericin B showed the lowest activity.

KEY WORDS: Antifungals, *Candida haemulonii* species complex, Susceptibility patterns.

▪ ***Recepción*** :29/2/2024

Aceptación :06/05/2024

INTRODUCCIÓN

El complejo de especies *Candida haemulonii* (*Candida haemulonii*, *Candida haemulonii* var. *vulnera* y *Candida duobushaemulonii*, entre otras) está formado por levaduras emergentes causantes de infecciones humanas a nivel mundial (1). El primer aislamiento clínico de *C. haemulonii* fue reportado en 1984 a partir de un hemocultivo (2) y desde entonces, se han reportado casos en pacientes con fungemias asociadas a catéteres intravasculares y a nutrición parenteral (3,4) infecciones de hueso y tejido blando (5), en pacientes con peritonitis, (1,5-7) otitis media crónica (5) y onicomicosis en pies (8).

Los estudios moleculares permiten una buena discriminación a nivel de especie, variedad o a nivel intra especie del complejo de especies *C. haemulonii* y se considera que el método de referencia es la secuenciación de los espacios intergénicos. La identificación por espectrometría de masas MALDI-TOF MS (*Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–time of flight mass spectrometry*, por sus siglas en inglés) constituye otro método que permite una buena discriminación entre los miembros del complejo (9,10). Estas especies están estrechamente relacionadas entre sí, por lo que la identificación por métodos fenotípicos como el API®20C o el sistema de identificación de levaduras VITEK® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francia) puede conllevar a resultados erróneos (3,11). Por ejemplo, no logran diferenciar entre *C. haemulonii* y *C. pseudohaemulonii*, o inclusive podrían identificarlos como *Kodamaea ohmeri*. Sin embargo, es importante resaltar que los resultados obtenidos con el sistema Vitek® 2 presentan una mayor concordancia con los obtenidos mediante los métodos moleculares (11).

Uno de los problemas de las infecciones con las especies del complejo de especies *C. haemulonii* es la tendencia de estas levaduras a ser multirresistente a los antifúngicos, lo cual representa un reto en la terapia antimicótica (12). Además, es importante recalcar que, aunque para algunas personas las onicomicosis solo representan un problema estético, los casos de candidemias causadas por estas especies se han reportado en pacientes inmunosupresos, entre ellos prematuros (13,14) o que reciben tratamiento oncológico (4,11,14) también el uso extendido de antibióticos de amplio espectro, el uso de catéteres y respiradores predisponen a estas (3-6,15). Por ende, una micosis superficial no tratada causada por estas levaduras podría representar un futuro foco de infección y generar una posible candidemia que podría ser mortal para el paciente en caso de inmunosupresión u otro factor predisponente.

En Costa Rica, la información sobre infecciones humanas causadas por este complejo es escasa; por esto, el presente estudio tiene como objetivos identificar y determinar el patrón de susceptibilidad antifúngica de aislamientos clínicos costarricense pertenecientes al complejo de especies *C. haemulonii*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional de tipo prospectivo transversal donde se determinó, recopiló y registró la identidad a nivel de especie y la concentración mínima inhibitoria a anfotericina B, caspofungina, itraconazol y fluconazol de 48 aislamientos clínicos costarricenses del Complejo de especies *C. haemulonii*. Los aislamientos estudiados forman parte de la colección de la Micoteca de la Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. Estos aislamientos proceden de muestras clínicas de micosis superficiales y un hemocultivo y fueron donados por tres instituciones públicas de salud, entre los años 2015 y 2019. Los hongos fueron mantenidos en tubos con agar glucosado de Sabouraud a temperatura ambiente ([20 – 30] °C). Como controles para los estudios de susceptibilidad se utilizaron las cepas control de la American Type Culture Collection: *Candida krusei* ATCC 6258 y *Candida parapsilosis* ATCC 22019.

Identificación de los aislamientos del Complejo de especies *C. haemulonii*. Los aislamientos fueron identificados bioquímicamente por el sistema automatizado VITEK®2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francia) y por proteómica por espectrometría de masas (MALDI-TOF MS) en el equipo Maldi Biotyper® (Bruker, Billerica, MA, EEUU), según las especificaciones del fabricante.

Pruebas de susceptibilidad. Los patrones de susceptibilidad de *C. haemulonii* y *C. duobushaemulonii* para caspofungina, fluconazol e itraconazol se determinaron mediante el método de microdilución en caldo M27-A3 del CLSI (de las siglas en inglés, *Clinical and Laboratory Standards Institute*). El itraconazol y la caspofungina se obtuvieron del Royal Pharm (Hangzhou, China) y el fluconazol de los Laboratorios Stein SA (Costa Rica). Las concentraciones finales para fluconazol fueron de 0,25 a 128 µg/mL y para itraconazol y caspofungina de 0,03 a 16 µg/mL. Para la anfotericina B se utilizó el método MIC Test Strip® (Liofichem s.r.l., Italy). Finalmente, para la caspofungina, el fluconazol y la anfotericina B también se utilizó el sistema automatizado VITEK®2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France).

Análisis estadístico. Cada ensayo se realizó por triplicado. Para el análisis estadístico se utilizó el programa IBM SPSS (Statistical Package for Social Sciences), versión 20 (SPSS Inc., Chicago, Ill, EEUU). Se obtuvo un promedio de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) por antifúngico, por especie y su respectivo error estándar de la media. Seguidamente, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con una prueba post Hoc de Tukey para comparar los valores de las CMIs. También, se determinó la CMI₅₀ y la CMI₉₀ para cada antifúngico analizado. Finalmente, se realizó una prueba z para determinar si hay diferencias estadísticamente significativas entre las CMIs medias obtenidas para cada antifúngico por distintas técnicas (para caspofungina y fluconazol: Vitek® vs CLSI y para anfotericina B Vitek® vs E-test).

RESULTADOS

En el presente estudio se analizaron 48 aislamientos clínicos, de los cuales el 93,8 % (n = 45) provenían de onicomycosis. Es importante destacar que, de los anteriores, el 86,7 % (n = 39) eran de uñas de pies, el 11,1 % (n = 5) de uñas de mano y el 2,2 % (n = 1) no presentaba información sobre el origen de la onicomycosis. Por otro lado, dos aislamientos provenían de lesiones de piel: uno de la palma de la mano y el otro del pliegue interdigital del pie. Finalmente, uno de los aislamientos fue obtenido a partir de un hemocultivo. La mayoría de los pacientes eran del género femenino (62,5 %; n = 30). Además, la mayoría correspondían a personas adultas (93,8 %; n = 45) con un rango de edades de 21 a 85 años. En el Cuadro 1 se presentan los datos demográficos de cada aislamiento.

El 58,3 % (n = 28) de los aislamientos se identificaron como *C. duobushaemulonii* y el 41,7 % (n = 20) como *C. haemulonii*, tanto por el sistema automatizado VITEK®2 como por MALDI-TOF MS. El aislamiento de pliegues interdigitales y planta de pie y el de hemocultivo se identificaron como *C. haemulonii*, y el aislamiento de palma de mano como *C. duobushaemulonii*. De los 39 aislamientos de uñas de pies, el 59,0 % (n = 23) fueron identificados como *C. duobushaemulonii* y el 41,0 % (n = 16) como *C. haemulonii*. De los cinco aislamientos de uñas de mano, tres fueron identificados como *C. duobushaemulonii* (60,0 %) y dos como *C. haemulonii* (40,0 %), el aislamiento de uña no determinado fue identificado como *C. duobushaemulonii*.

Pruebas de susceptibilidad. En los Cuadros 2 y 3 se presenta la distribución de las medias geométricas, el intervalo y las CMIs de los aislamientos de *C. haemulonii* y *C. duobushaemulonii*,

respectivamente. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las CMI's de los distintos antifúngicos analizados para los aislamientos de *C. haemulonii* ($F = 1370,483$; $gl = 3$; $p < 0,0001$) y para los aislamientos de *C. duobushaemulonii* ($F = 16,812$; $gl = 3$; $p < 0,0001$). El análisis post Hoc de Tukey agrupó a los antifúngicos en tres grupos, a saber: caspofungina e itraconazol en el primer grupo, que tuvieron las CMI's más bajas, fluconazol en el segundo grupo y anfotericina B en el tercer grupo, con CMI's significativamente más altas. Es de interés mencionar que en un 15 % de aislamientos *C. haemulonii* y un 17,8 % de *C. duobushaemulonii* se observaron CMI's altas tanto para fluconazol como para itraconazol.

Por otro lado, con respecto a la comparación entre las CMI's encontradas para cada antifúngico por técnica, se encontró diferencias estadísticamente significativas entre las medias geométricas obtenidas para fluconazol por VITEK[®]2 y CLSI y para anfotericina B por VITEK[®]2 y MIC Test Strip[®], para ambas especies y para caspofungina por VITEK[®]2 y CLSI para *C. haemulonii* ($p < 0,05$). *C. haemulonii* y *C. duobushaemulonii* demostraron CMI's elevadas para anfotericina B al utilizar el MIC Test Strip[®] en comparación al sistema VITEK[®]2 y se observaron diferencias estadísticamente significativas en las CMI's obtenidas; sin embargo, es importante mencionar que la interpretación de los resultados como resistentes fue la misma por ambos métodos.

Cuadro 1. Datos demográficos de los pacientes con infecciones por miembros del Complejo de especies *Candida haemulonii*, a partir de los cuales se obtuvieron los aislamientos del estudio (2015-2019).

Código del aislamiento	Mes y año	Tipo de muestra	Sexo	Edad	Provincia de residencia
<i>Candida haemulonii</i>					
CA-HA-01	Sep-15	Uña pie	Femenino	15	San José
CA-HA-02	Sep-15	Uña pie	Femenino	51	Cartago
CA-HA-04	Oct-15	Uña pie	Femenino	64	San José
CA-HA-12	Aug-16	Uña pie	Femenino	55	San José
CA-HA-15	Sep-17	Uña pie	Masculino	21	San José
CA-HA-17	Dec-17	Hemocultivo	Masculino	59	San José
CA-HA-19	Mar-18	Uña pie	Femenino	49	San José
CA-HA-20	Mar-18	Uña pie	Femenino	67	Alajuela
CA-HA-27	May-18	Uña pie	Femenino	78	San José
CA-HA-30	Jul-18	Uña pie	Femenino	62	San José
CA-HA-32	Aug-18	Uña pie	Femenino	22	San José
CA-HA-33	Aug-18	Piel palma	Femenino	45	San José
CA-HA-36	Jan-19	Uña pie	Masculino	34	San José
CA-HA-37	Jan-19	Uña mano	Femenino	52	San José
CA-HA-38	Mar-19	Uña pie	Femenino	65	Limón
CA-HA-39	Mar-19	Uña pie	Femenino	41	San José
CA-HA-40	May-19	Uña mano	Masculino	72	San José
CA-HA-44	Jul-19	Uñas pie	Femenino	44	San José
CA-HA-45	Jul-19	Uñas pie	Femenino	48	San José
<i>Candida duobushaemulonii</i>					
CA-DUO-08	Sep-15	Uña pie	Femenino	67	San José
CA-DUO-09	Oct-15	Uña pie	Femenino	52	San José
CA-DUO-10	Nov-15	Uña mano	Masculino	75	San José
CA-DUO-11	Nov-15	Uña pie	Masculino	71	No datos
CA-DUO-12	Mar-16	Uña pie	Femenino	77	San José
CA-DUO-13	Mar-16	Uña pie	Masculino	31	Cartago
CA-DUO-14	Apr-16	Uña	No datos	No datos	No datos

CA-DUO-15	Apr-16	Uña mano	No datos	No datos	No datos
CA-DUO-16	Jun-17	Uña pie	Femenino	75	San José
CA-DUO-17	Jul-17	Uña pie	Femenino	39	San José
CA-DUO-18	Oct-17	Uña pie	Masculino	22	San José
CA-DUO-19	Apr-18	Uña pie	Masculino	71	San José
CA-DUO-20	Apr-18	Uña pie	Masculino	54	San José
CA-DUO-21	Apr-18	Uña pie	Femenino	47	San José
CA-DUO-22	Apr-18	Uña pie	Femenino	36	San José
CA-DUO-23	Apr-18	Piel	Femenino	36	San José
CA-DUO-24	May-18	Interdigital/planta pie	Femenino	58	San José
CA-DUO-25	Jul-18	Uña pie	Masculino	59	San José
CA-DUO-26	Jul-18	Uña pie	Masculino	52	San José
CA-DUO-27	Sep-18	Uña mano	Masculino	48	San José
CA-DUO-28	Sep-18	Uña pie	Femenino	70	San José
CA-DUO-01	Mar-19	Uña pie	Femenino	71	San José
CA-DUO-02	May-19	Uña pie	Masculino	69	San José
CA-DUO-03	Apr-19	Uña pie	Femenino	65	San José
CA-DUO-04	Jun-19	Uña pie	Masculino	72	Cartago
CA-DUO-29	Jun-19	Uña pie	Femenino	85	San José
CA-DUO-30	Jun-19	Uña pie	Femenino	61	San José
CA-DUO-05	Jul-19	Uña pie	Femenino	61	San José

Fuente: Elaboración propia

Cuadro 2. Distribución de las concentraciones mínimas inhibitorias de los aislamientos de *C. haemulonii* provenientes de un hospital público clase A, una clínica y del laboratorio de Micología Médica, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica obtenidos de micosis superficiales y un hemocultivo (n = 20).

	Concentración mínima inhibitoria (CMI) ($\mu\text{g mL}^{-1}$)						
	CFG CLSI	CFG VITEK®2	FCZ CLSI	FCZ VITEK®2	ITZ CLSI	AMB MIC Test Strip®	AMB VITEK®2
Media geométrica	0,21 \pm 0,10	0,43 \pm 0,12	3,36 \pm 3,58	11,00 \pm 7,99	0,48 \pm 1,01	32,00 \pm 0,00	9.50 \pm 4.15
Intervalo	0,03-0,50	0,25 - 0,50	0,25-16,00	4,00 - 32,00	0,03-4,00	No aplica	2,00-16,00
CMI₅₀	0,25	0,50	2,00	8,00	0,10	32,00	8,00
CMI₉₀	0,25	0,50	8,00	30,40	2,00	32,00	16,00

Fuente: Elaboración propia

CMI = Concentración mínima inhibitoria

AMB = anfotericina B

CFG = caspofungina

FCZ = fluconazol

ITZ = itraconazol

CLSI = microdilución en caldo por el método del Clinical and Laboratory Standard Institute

Cuadro 3. Distribución de las concentraciones mínimas inhibitorias de los aislamientos de *C. duobushaemulonii* provenientes de un hospital público clase A, una clínica y del laboratorio de Micología Médica, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica obtenidos de micosis superficiales y hemocultivo (n = 28).

	Concentración mínima inhibitoria (CMI) ($\mu\text{g mL}^{-1}$)						
	CFG CLSI	CFG VITEK®2	FCZ CLSI	FCZ VITEK®2	ITZ CLSI	AMB MIC Test Strip®	AMB VITEK®2
Media geométrica	0,17 \pm 0,09	0,52 \pm 1,47	25,86 \pm 43,14	3,50 \pm 2,65	0,42 \pm 0,53	32,00 \pm 0,00	12,93 \pm 4,34
Intervalo	0,06 - 0,50	0,12 - 8,00	2,00 - 128,00	2,00 - 8,00	0,03 - 2,00	No aplica	2,00-16,00
CMI₅₀	0,13	0,25	8,00	2,00	0,26	32,00	16,00
CMI₉₀	0,25	0,28	128,00	8,00	1,10	32,00	16,00

Fuente: Elaboración propia

CMI = Concentración mínima inhibitoria

AMB = anfotericina B

CFG = caspofungina

FCZ = fluconazol

ITZ = itraconazol

CLSI = microdilución en caldo por el método del Clinical and Laboratory Standard Institute

DISCUSIÓN

El complejo de especies *C. haemulonii* se reporta cada vez más en casos de micosis superficiales y sistémicas, y está integrado por varias especies de relevancia clínica entre las cuales se encuentran *C. haemulonii*, *C. duobushaemulonii*, *C. pseudohaemulonii*, *Candida vulturna*, *C. haemulonii* var. *vulnera*, *C. khanbhai* y *Candida auris* (16). En el presente estudio los aislamientos clínicos fueron identificados como *C. duobushaemulonii* o *C. haemulonii* por los métodos de identificación utilizados, VITEK®2 y MALDI-TOF MS, representando alternativas rápidas y eficaces para la identificación de levaduras patógenas, como reportado en estudios previos (17,18). El aislamiento de hemocultivo fue identificado como *C. haemulonii*; aunque esta especie se observa con poca frecuencia en casos de enfermedad fúngica invasiva (19), es importante recalcar que se han reportado valores altos de CMIs para anfotericina B y azoles, lo que hace importante determinar el patrón de susceptibilidad de las especies de este complejo (12,19).

Similar a nuestro hallazgo, estudios previos han reportado CMIs altas para anfotericina B en pacientes con fungemia por *C. haemulonii* (1,3,12,13,16). La resistencia a anfotericina B es poco frecuente en otras especies de *Candida*; sin embargo, se han registrado casos de CMIs elevadas frente a este antifúngico en aislamientos de *Nakaseomyces (Candida) glabrata* y *Pichia kudriavzevii (Candida krusei)*. Además, se ha observado con frecuencia resistencia intrínseca a polienos en *Candida lusitanae* (20). Aunque se ha establecido un valor de corte epidemiológico, para *Candida* spp. provenientes de hemocultivos, para la anfotericina B de 2 µg mL⁻¹ (21) no se ha determinado aún la correlación clínica entre la anfotericina B y el resultado del tratamiento, por lo que se desconoce la relevancia de este patrón de resistencia observado en la respuesta del tratamiento. Es de interés que las CMIs del aislamiento de *C. haemulonii* de hemocultivo para caspofungina, fluconazol e itraconazol se encontraron dentro del intervalo susceptible.

En el presente estudio la mayoría de los aislamientos se obtuvieron de onicomycosis de los pies. En la literatura los reportes de este sitio anatómico son escasos (8), por lo que se recomienda utilizar a nivel clínico el sistema VITEK®2 o el MALDI TOF-MS para la identificación de estas levaduras. La alta frecuencia de aislamientos procedentes de este tipo de muestras se debe a que dos de las instituciones que donaron los cultivos se dedican, principalmente, a la toma y procesamiento de muestras dermatológicas. La mayoría de los aislamientos fueron obtenidos a partir de lesiones de uñas de mujeres. Esta tendencia fue reportada por Salas y colaboradores

(2007) quienes explican que la población femenina es más propensa a cuidar su apariencia y; por lo tanto, consultan más por problemas dermatológicos (22).

C. duobushemulonii, seguida de *C. haemulonii* fueron las especies del complejo causantes de onicomycosis de pies y manos. En estos aislamientos y en los de piel se observaron CMI's altas para anfotericina B y fluconazol, siendo itraconazol y caspofungina los antifúngicos con MICs más bajas. Para el tratamiento de las onicomycosis causadas por especies de *Candida* se suele prescribir fluconazol o itraconazol (23). Dado las MICs bajas para fluconazol encontradas en el presente estudio, en el caso que se prescriba este antifúngico se recomienda realizar la prueba de susceptibilidad de referencia del CLSI para determinar el patrón de susceptibilidad de aislamientos de *C. duobushaemulonii* debido a que con el sistema VITEK®2 se obtuvieron CMI's significativamente más bajas en comparación al método de referencia.

Las onicomycosis no tratadas representan un posible foco de infección para infecciones sistémicas en casos de pacientes inmunosupresos y reducen la calidad de vida de los pacientes (24), por lo que es importante considerar realizar la identificación correcta del agente etiológico; además, en caso de no tener buena respuesta al tratamiento se recomienda realizar las pruebas de susceptibilidad a los antifúngicos de aislamientos clínicos *C. duobushaemulonii* y *C. haemulonii* para dar el tratamiento oportuno a la población afectada.

CONCLUSIÓN

C. duobushaemulonii fue la especie del Complejo *C. haemulonii* más prevalente. La caspofungina fue el antifúngico que presentó la mayor actividad contra los miembros de este complejo, seguida del itraconazol. La anfotericina B fue el tratamiento menos efectivo, in vitro, contra los aislamientos analizados.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se subvencionó a través del proyecto C1064 inscrito ante la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica. Las autoras agradecen a Laboratorios Stein S.A. por el suministro del fluconazol.

CONFLICTO DE INTERÉS

Las autoras no tienen intereses en conflicto para declarar.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ben-Ami R., Berman J., Novikov A., Bash E., Shachor-Meyouhas Y., Zakin S., et al. Multidrug-resistant *Candida haemulonii* and *C. auris*. Emerging Infectious Diseases, 2017; 23(2): 195-203. doi: 10.3201/eid2302.161486.
2. Lavarde V., Daniel F., Saenz H., Arnold M. y Faguer B. Peritonite mycosique a *Torulopsis haemulonii*. Bulletin de la Société française de mycologie médicale, 1984; 13: 173-176.
3. Rodero L., Cuenta-Estrella M., Córdoba S., Cahn P., Davel G., Kaufman., et al. Transient fungemia caused by an amphotericin B-resistant isolate of *Candida haemulonii*. Journal of Clinical Microbiology, 2002; 40(6): 2266-2269. doi: 10.1128/JCM.40.6.2266-2269.2002.
4. Giusiano G., Mangiaterra M., García Saito V., Rojas F., Gómez V. y Díaz MC. Fluconazole and itraconazole resistance of yeasts isolated from the bloodstream and catheters of hospitalized pediatric patients. Chemotherapy, 2006; 52(5) (2006): 254-259. doi: 10.1159/000094867.
5. Kim MN., Shin JH., Sung H., Lee K., Kim EC., Ruoo N. et al. *Candida haemulonii* and closely related species at 5 university hospitals in Korea identification, antifungal susceptibility, and clinical features. Clinical Infectious Diseases, 2009; 48(6): 57-61. doi: 10.1086/597108.
6. Ruan SY., Kuo YW., Huang CT., Hsiue HC. Y Hsueh PR. Infections due to *Candida haemulonii* species identification, antifungal susceptibility and outcomes. International Journal of Antimicrobial Agents, 2010; 35(1): 85-88. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2009.08.009
7. Yuvaraj A., Rohit A., Koshy PJ., Nagarajan P., Nair S. y Abraham G. Rare occurrence of fatal *Candida haemulonii* peritonitis in a diabetic CAPD patient. Renal Failure, 2014; 36(9): 1466-1467. doi:10.3109/0886022X.2014.944067.
8. Gargeya IB., Pruitt WR., Meyer SA. Y Ahearn DG. *Candida haemulonii* from clinical specimens in the USA. Journal of Medical and Veterinary Mycology, 1991; 29: 335-338. doi: 10.1080/02681219180000511.
9. Cendejas-Bueno E., Kolecka A., Alastruey-Izquierdo A., Theelin B., Groenewald M., Kostrzewa M. et al. Reclassification of the *Candida haemulonii* complex as *Candida haemulonii* (*C. haemulonii* group I) *C. duobushaemulonii* sp. nov. (*C. haemulonii* group II), and *C. haemulonii* var. *vulnera* var. nov.: three multiresistant human pathogenic yeasts. Journal of Clinical Microbiology, 2012; 50: 3641-3651. doi: 10.1128/JCM.02248-12.

10. Ramos LS., Figueiredo-Carvalho MHG., Barbedo LS., Ziccardi M., Chaves ALS., Zancopé-Oliveira RM. et al. *Candida haemulonii* complex: species identification and antifungal susceptibility profiles of clinical isolates from Brazil. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2015; 70: 111-115. doi: 10.1093/jac/dku321.
11. Dominguez-Muro M., de Arújo Mota F., Burger M., de Azevedo Melo AS. Y Dalla-Costa LM. Echinocandin resistance in two *Candida haemulonii* isolates from pediatric patients. *Journal of Clinical Microbiology*, 2012; 50(11): 3783-3785. doi: 10.1128/JCM.01136-12.
12. Hou X., Xiao M., Chen SCA., Wang H., Cheng JW., Chen XX. et al. Identification and antifungal susceptibility profiles of *Candida haemulonii* species complex clinical isolates from a multicenter study in China. *Journal of Clinical Microbiology*, 2016 54(11): 2676-2680. doi: 10.1128/JCM.01492-16.
13. Khan ZU., Al-Sweih NA., Ahmad S., Al-Kazemi N., Khan S., Joseph L. et al. Outbreak of fungemia among neonates caused by *Candida haemulonii* resistant to amphotericin B, itraconazole, and fluconazole. *Journal of Clinical Microbiology*, 2007; 45(6): 2025-2027. doi: 10.1128/JCM.00222-07.
14. Silva CM., Carvalho-Parahym AMR., Macedo DPC., Lima-Neto RG., Francisco EC., Melo ASA. et al. Neonatal candidemia caused by *Candida haemulonii* case report and review of Literature. *Mycopathologia*, 2015; 180(1-2): 69-73. doi: 10.1007/s11046-015-9872-7.
15. Kim S., Ko KS., Moon SY., Lee MS., Lee MY. y Son JS. Catheter-related candidemia caused by *Candida haemulonii* in a patient in long-term hospital care. *Journal of Korean Medical Science*, 2011; 26(2): 297-300. doi: 10.3346/jkms.2011.26.2.297.
16. de Jong W., Al-Obaid K., Tap RM., van den End BG., Groenewald M., Joseph L. et al. *Candida khanbhai* sp. nov. a new clinically relevant yeast within the *Candida haemulonii* species complex. *Journal of Medical Mycology*, 2023; 61(2): 1-7. doi: 10.1093/mmy/myad009.
17. Relloso MS., Nievas J., Taie SF., Farquharson V., Mujica MT., Romero V. et al. Evaluación de la espectrometría de masas: MALDI-TOF MS para la identificación rápida y confiable de levaduras. *Revista Argentina de Microbiología*, 2015;47(2): 103-107. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.02.004>.
18. Bonifaz A., Montelongo-Martínez F., Araiza J., González GM., Treviño-Rangel R., Flores-Garduño A. Evaluación de MALDI-TOF MS para la identificación de levaduras patógenas

oportunistas de muestras clínicas”. Revista Chilena de Infectología, 2019; 36(6): 790-793. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182019000600790>.

19. Pfaller MA., Diekema DJ., Gibbs DL., Newell VA., Ellis D., Tullio V. et al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI Standardized Disk Diffusion. Journal of Clinical Microbiology, 2010; 48(4): 1366-1377. doi: 10.1128/JCM.02117-09.

20. Lass-Flörl C., Perkhofer S. y Mayr A. *In vitro* susceptibility testing in fungi: a global perspective on a variety of methods. Mycoses, 2010; 53: 1-11. doi: 10.1111/j.1439-0507.2009.01813.x

21. Pfaller MA., Espinel-Ingroff A., Canton E., Castanheira M., Cuesta-Estrella M., Diekema DJ. et al. Wild-Type MIC distributions and epidemiological cutoff values for amphotericin B, flucytosine, and itraconazole and *Candida* spp. as determined by CLSI broth microdilution. Journal of Clinical Microbiology, 2012; 50(6): 2040-2046. doi: 10.1128/JCM.00248-12.

22. Salas-Campos I., Gross-Martínez N. y Carrillo-Dover P. Micosis superficiales diagnosticadas en el laboratorio de Micología Médica de la Universidad de Costa Rica. Revista Costarricense de Ciencias Médicas, 2007; 28(1-2): 29 – 35.

23. Carrillo-Muñoz AJ., Tur-Tur C., Hernández-Molina JM., Santos P. y Cárdenes D., Giusiano G. Antifúngicos disponibles para el tratamiento de las micosis ungueales. Revista Iberoamericana de Micología, 2010; 27(2): 49-56. doi: 10.1016/j.riam.2010.01.007.

24. Cobos-Lladó D., Fierro Arias L., Arellano Mendoza I. y Bonifaz A. La onicomycosis y su influencia en la calidad de vida. Dermatología Cosmética Médica y Quirúrgica, 2016; 14: 318-327.