



**I Workshop Prevenção e Controle de Infecções
Fúngicas em Serviços de Saúde**

30 e 31 de maio de 2023

Recife, PE

Investigação laboratorial para surtos por fungos em serviços de saúde

Prof. Dr. João Nobrega de Almeida Jr

EPM-UNIFESP

Hospital Israelita Albert Einstein

Conflitos de Interesse

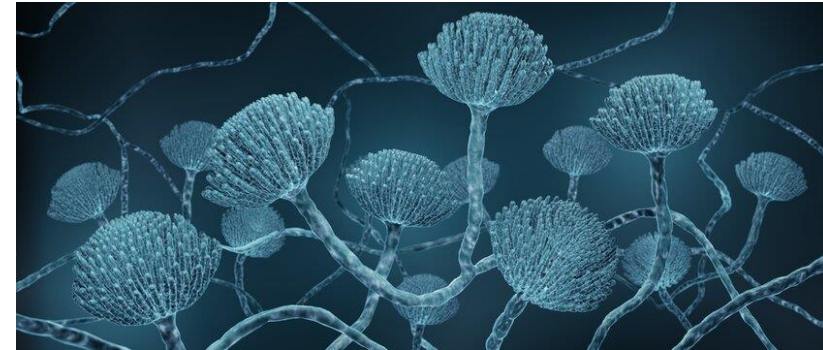
- Nenhum a declarar

Agenda

- Agentes fúngicos causadores de surtos de IRAS
- Papel do Laboratório na Investigação:
Laboratório Clínico
Laboratório Referência/Especializado

Surto de IRAS por fungos

- *Candida* spp.
- *Fusarium* spp.
- *Aspergillus* spp.
- Mucorales
- ...



Surto por *Candida auris* e *Candida parapsilosis* resistente ao fluconazol

ORIGINAL ARTICLE



WILEY

Axillary Digital Thermometers uplifted a multidrug-susceptible *Candida auris* outbreak among COVID-19 patients in Brazil

João Nobrega de Almeida Jr.^{1,2} | Igor B. Brandão³ | Elaine C. Francisco¹ |
Silvio Luis R. de Almeida⁴ | Patrícia de Oliveira Dias⁴ | Felicidade M. Pereira⁵ |
Fábio Santos Ferreira⁵ | Thaisse Souza de Andrade⁶ | Magda M. de Miranda Costa⁷ |
Regiane T. de Souza Jordão⁸ | Jacques F. Meis^{9,10} | Arnaldo L. Colombo¹ |
The *Candida auris* Brazilian Study Group*

Mycoses, 2021.

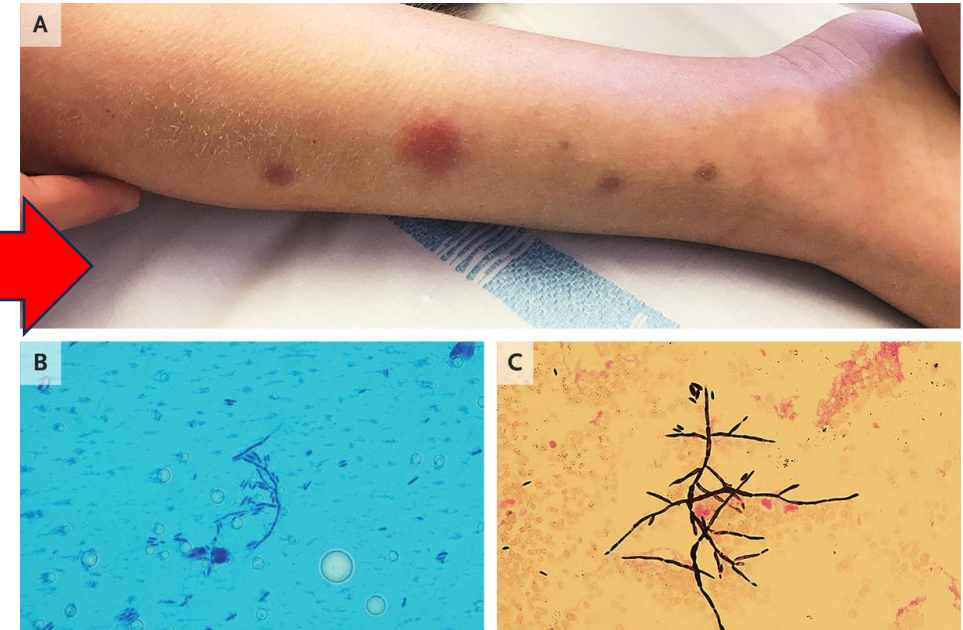
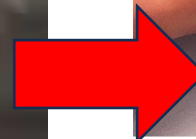
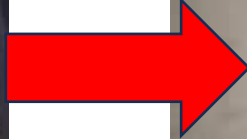
Article

Environmental Clonal Spread of Azole-Resistant *Candida parapsilosis* with Erg11-Y132F Mutation Causing a Large Candidemia Outbreak in a Brazilian Cancer Referral Center

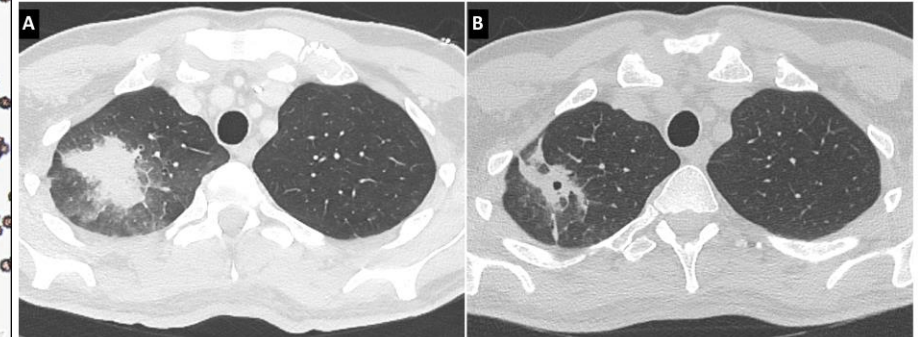
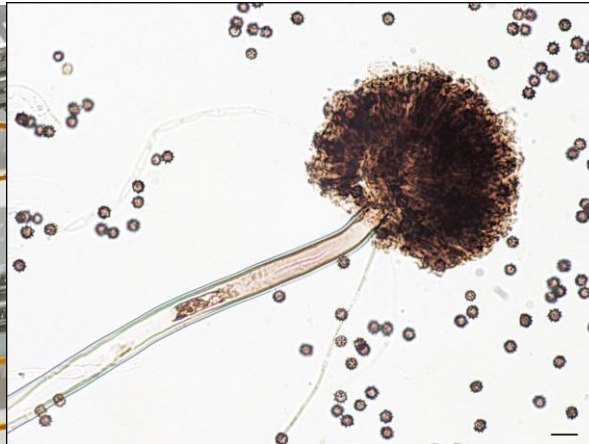
Danilo Y. Thomaz^{1,†} , João N. de Almeida, Jr.^{1,2,3,*,†}, Odeli N. E. Sejas⁴, Gilda M. B. Del Negro¹,
Gabrielle O. M. H. Carvalho¹, Viviane M. F. Gimenes¹, Maria Emilia B. de Souza⁴, Amir Arastehfar³,
Carlos H. Camargo⁵ , Adriana L. Motta², Flávia Rossi², David S. Perlin³, Maristela P. Freire⁴,
Edson Abdala^{4,‡} and Gil Benard^{1,*,‡}

J Fungi, 2021.

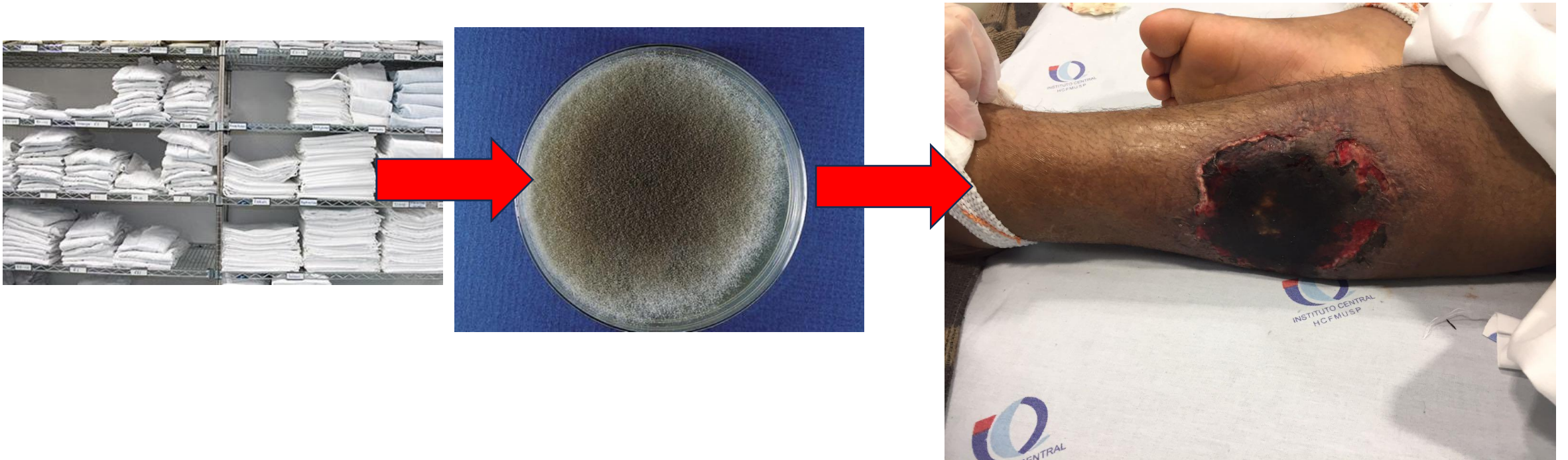
Fusariose Disseminada



Surto Aspergilose Invasiva durante Reformas



Mucormicose Intra-Hospitalar



Paciente pós operatório precoce Transplante de
fígado: lesão cutânea MID

Jordan A et al. Open Forum Infect Dis, 2022.

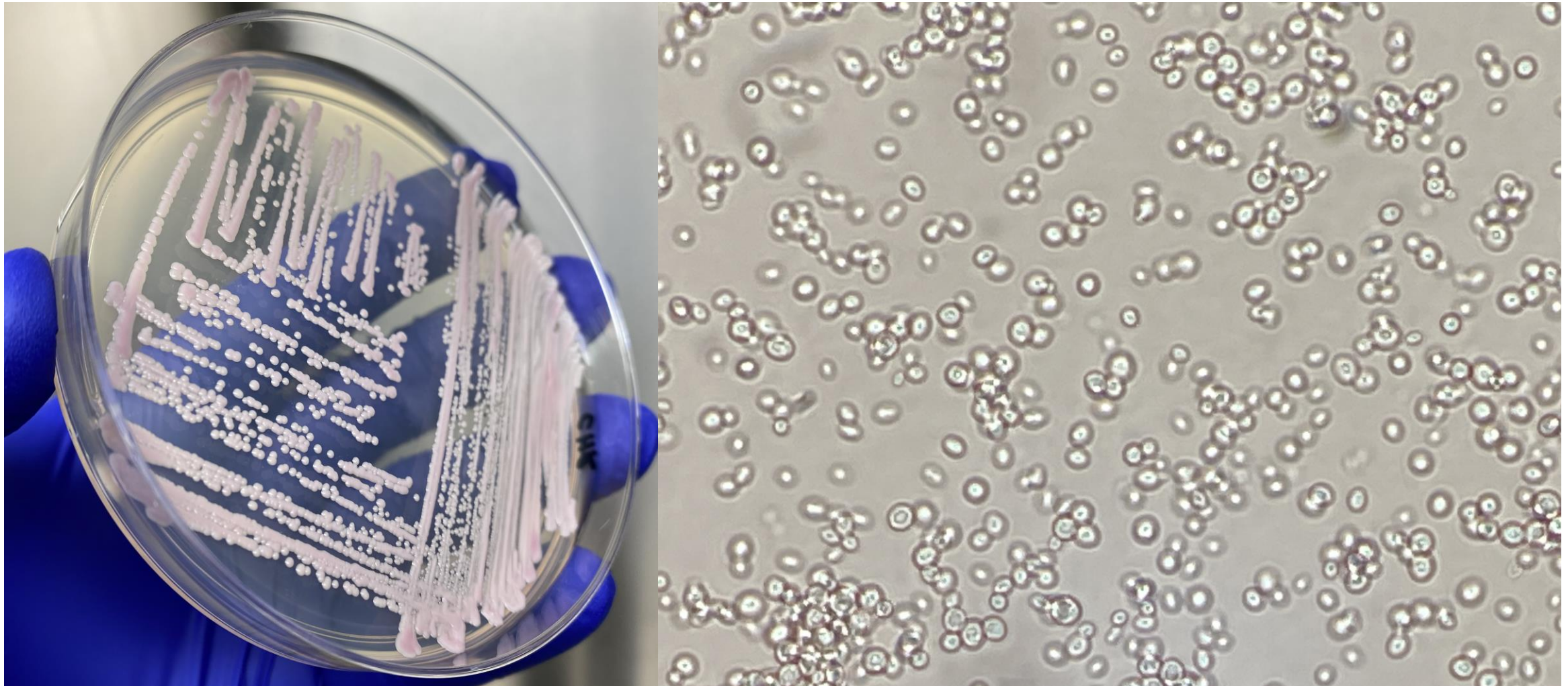
Meningite fúngica por contaminação de frascos de metilprednisolona: *Aspergillus fumigatus* e *Exserohilum rostratum*



Papel do Laboratório Clínico e de Referência no Diagnóstico e Controle de Surtos por Fungos

Laboratório Clínico	Laboratório Referência/Especializado
Identificação rápida de casos suspeitos	Identificação molecular
Comunicação eficiente (trabalho conjunto com CCIH)	Tipagem molecular
Teste de suscetibilidade (quando possível)	Desenvolver e validar métodos diagnósticos alternativos (ex. qPCR)
Cultura de screening de contactantes (quando cabível)	Cultura e PCRs de amostras não clínicas (ex. ar, água, superfícies)
Implementar métodos diagnósticos alternativos (ex. qPCR)	Teste de suscetibilidade padrão-ouro, pesquisa de mecanismos de resistência
	Fornecimentos de meios de cultura alternativos (ex. caldos)
	Treinamento

Identificação rápida de caso suspeito: Micologista no Laboratório Clínico!



Identificação Rápida e Precisa no Laboratório Clínico: EM MALDI-TOF



VITEK MS IVD
Candida auris

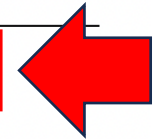


BRUKER, IVD

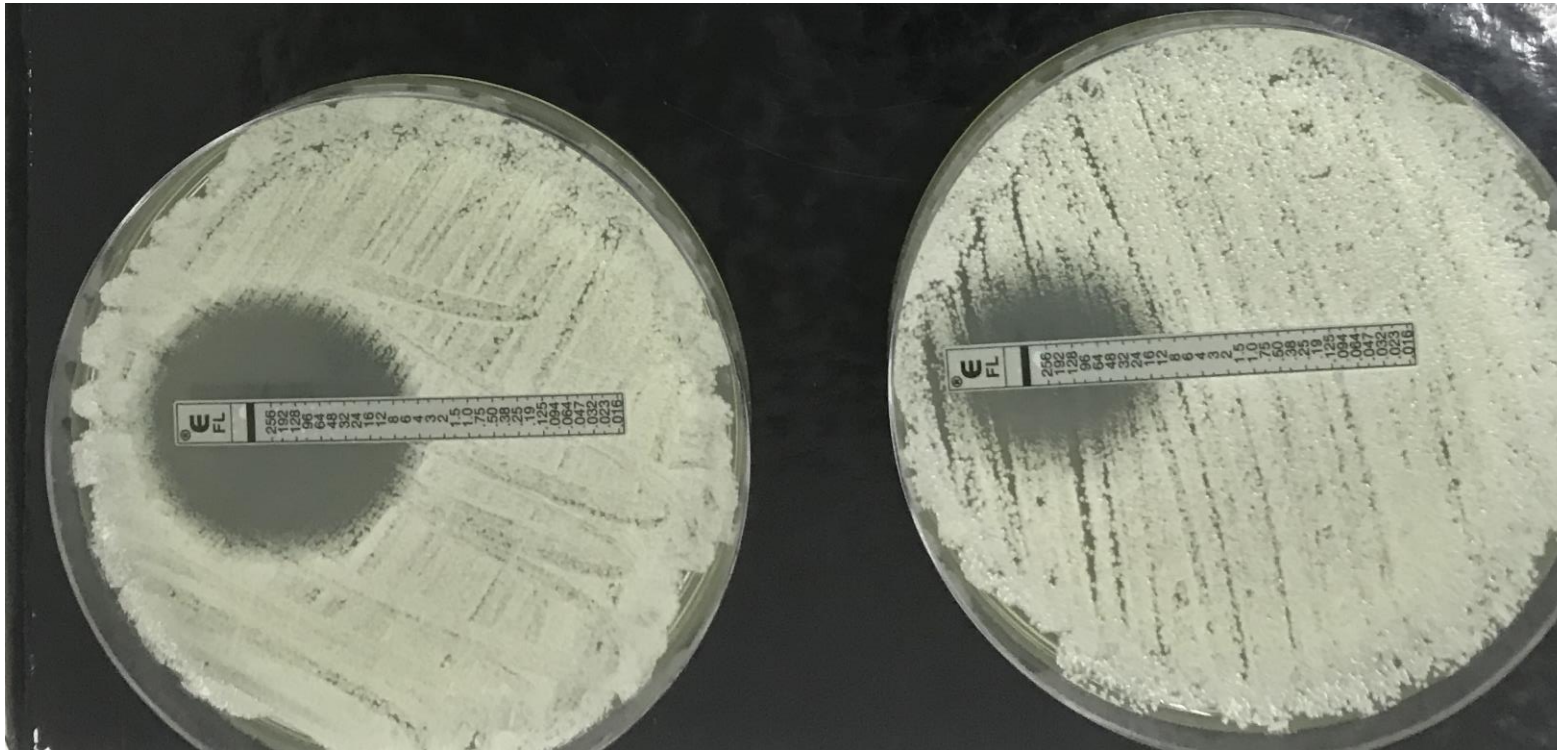
Laboratório Clínico: comunicar com eficiência (caso suspeito e confirmado)

Table 1 *C. auris* care team and their responsibilities for *C. auris* outbreak response

Care Team Members	Responsibilities
Clinical Microbiology Team	Issuing an alert to the treating physician, IPC and AMS team when <i>C.auris</i> is isolated. The process of outbreak identification is initiated from Microbiology.
IPC team	- Routine training on IPC practices to the nursing team. - Monitoring adherence of IPC practices in the locations where the cases were identified. - Ensure appropriate isolation or cohorting of patients. - Ensuring timely and sufficient supply of personal protective equipment (PPE), disinfectant solutions and hand rubs. - Ensure appropriate cleaning of locations occupied by the patient. - Education of staff and bystanders regarding IPC practices. - Prospective surveillance of <i>C. auris</i> cases
Infectious Diseases Physician	- Decide appropriate therapy and procedures for the patient - Monitor for clinical improvement and microbiological cure (wherever appropriate) - Create awareness among primary team and tailor treatment. - Ensure isolation and proper disinfection
Clinical pharmacist from AMS team	- Dedicated member of the team receives critical alert from the Microbiology once <i>C. auris</i> is isolated. - Prepare appropriate treatment regimen and inform the primary team. Follow up for appropriateness of therapy with 5 R' criteria: Right drug, Right dose, Right frequency, Right duration and Right indication [17]. - Coordinate efforts of all stakeholders in the management of the patient.

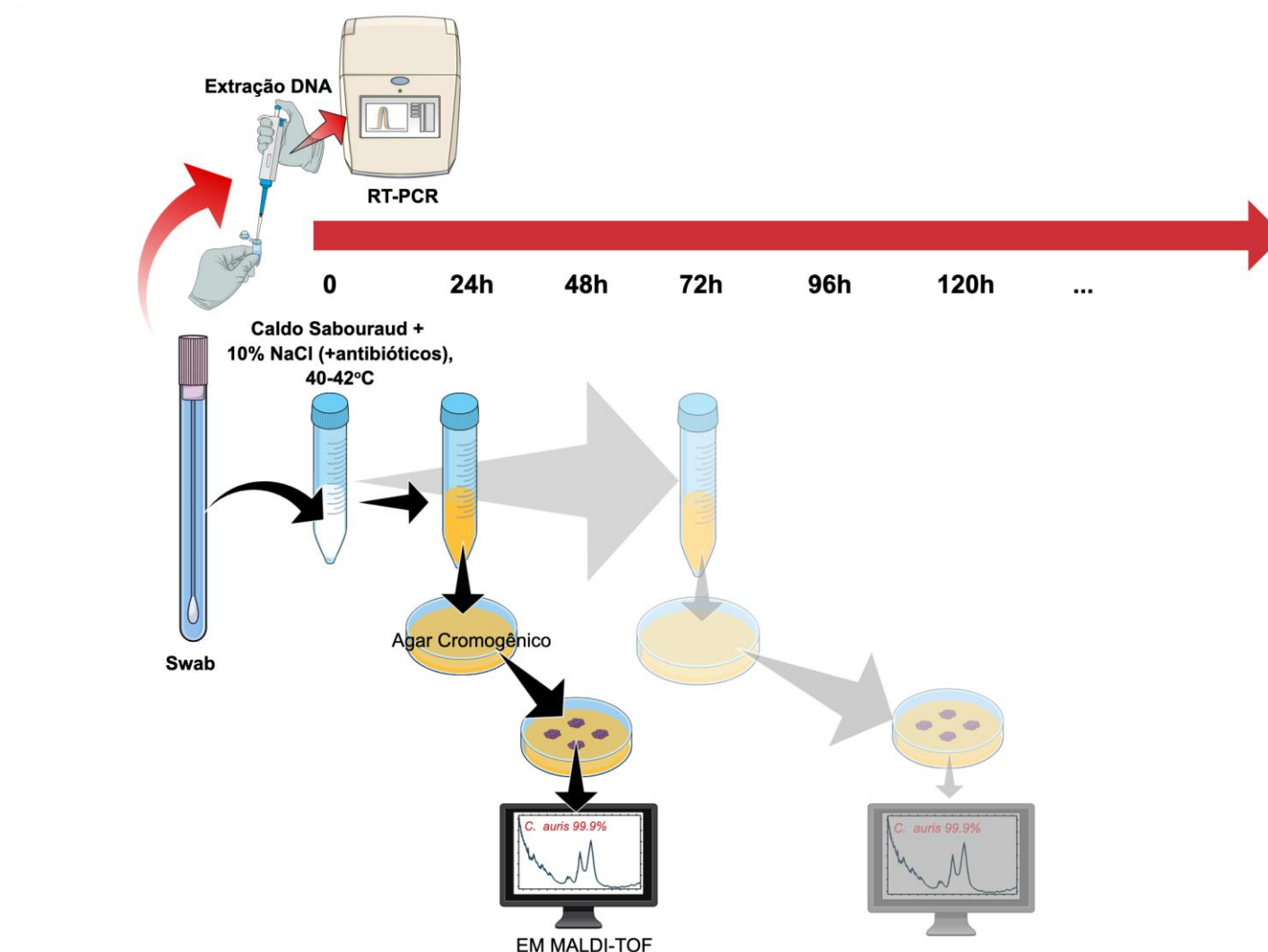


Laboratório Clínico: Teste de Suscetibilidade *Candida* spp.

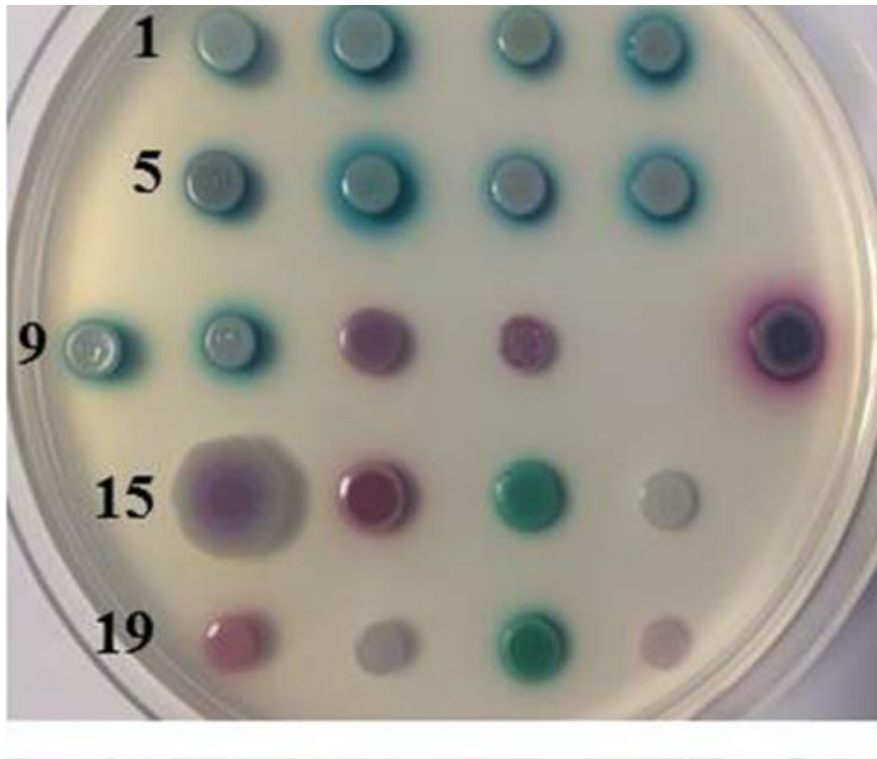


Candida auris e ETEST fluconazol

Laboratório Clínico: métodos de culturas de vigilância ou screening de contactantes (ex. *Candida auris*)



Laboratório Clínico: implementar métodos diagnósticos (ex. ChroMagar™ Candida Plus)

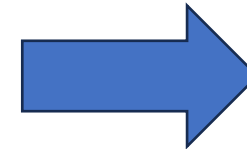
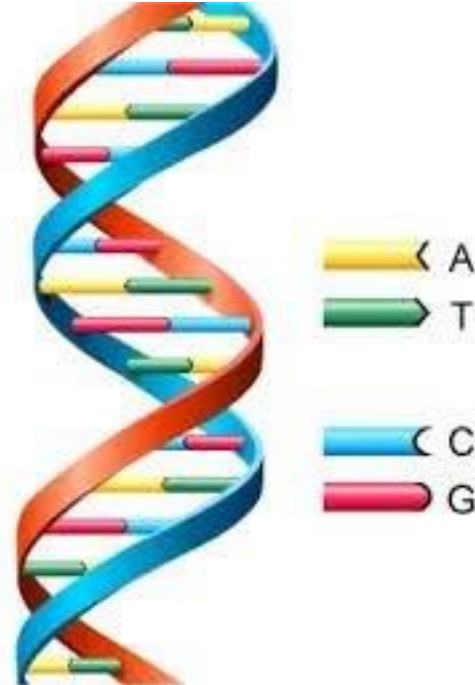
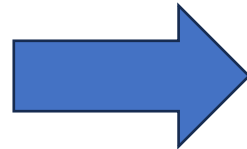


35°C, 48h



Fonte: LEMI UNIFESP

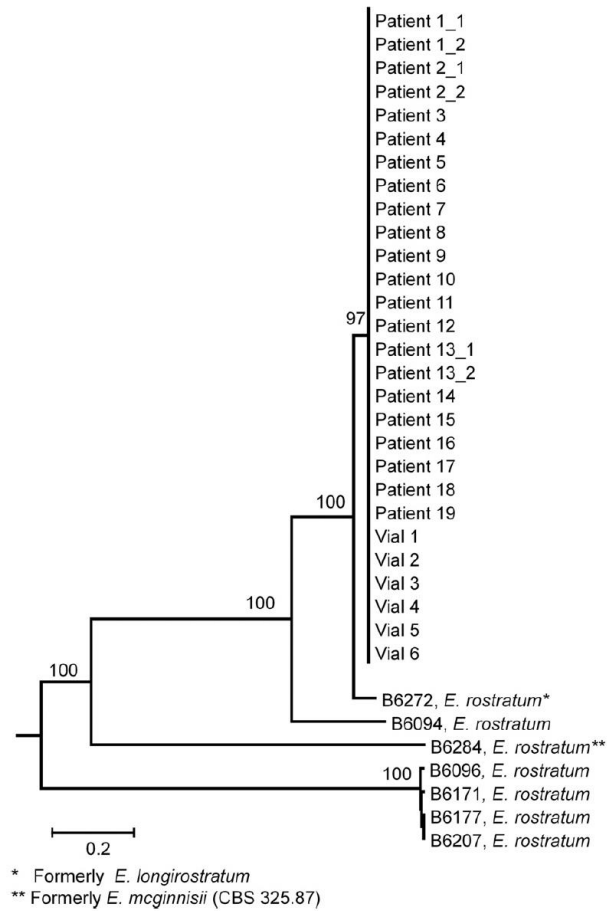
Laboratório Especializado/Referência: Identificação molecular



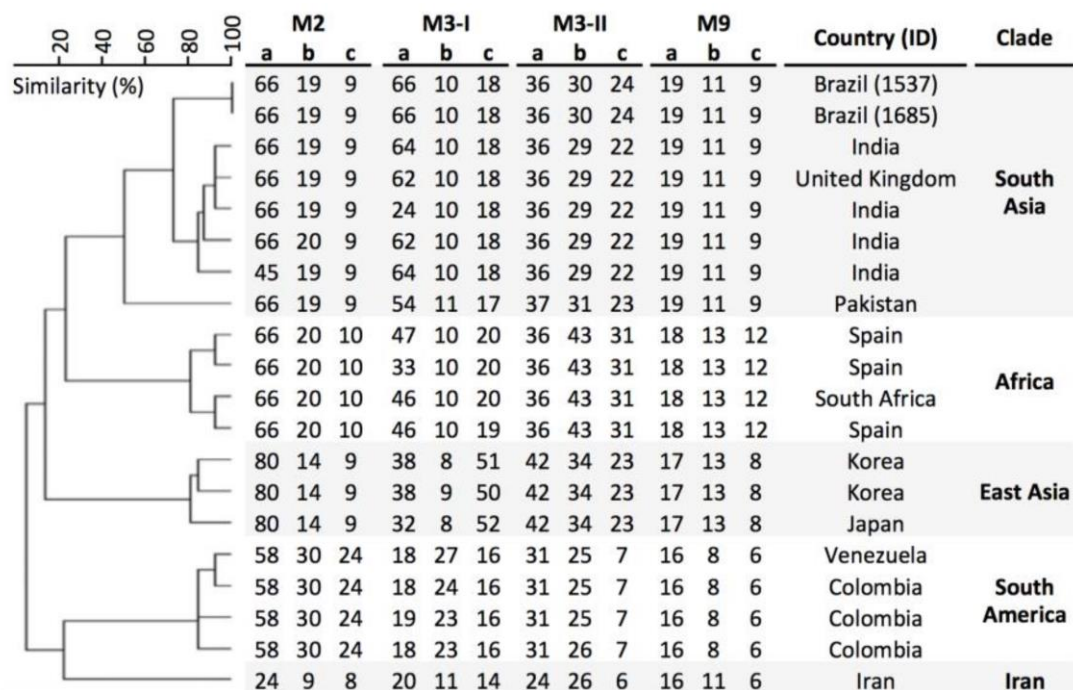
Candida auris



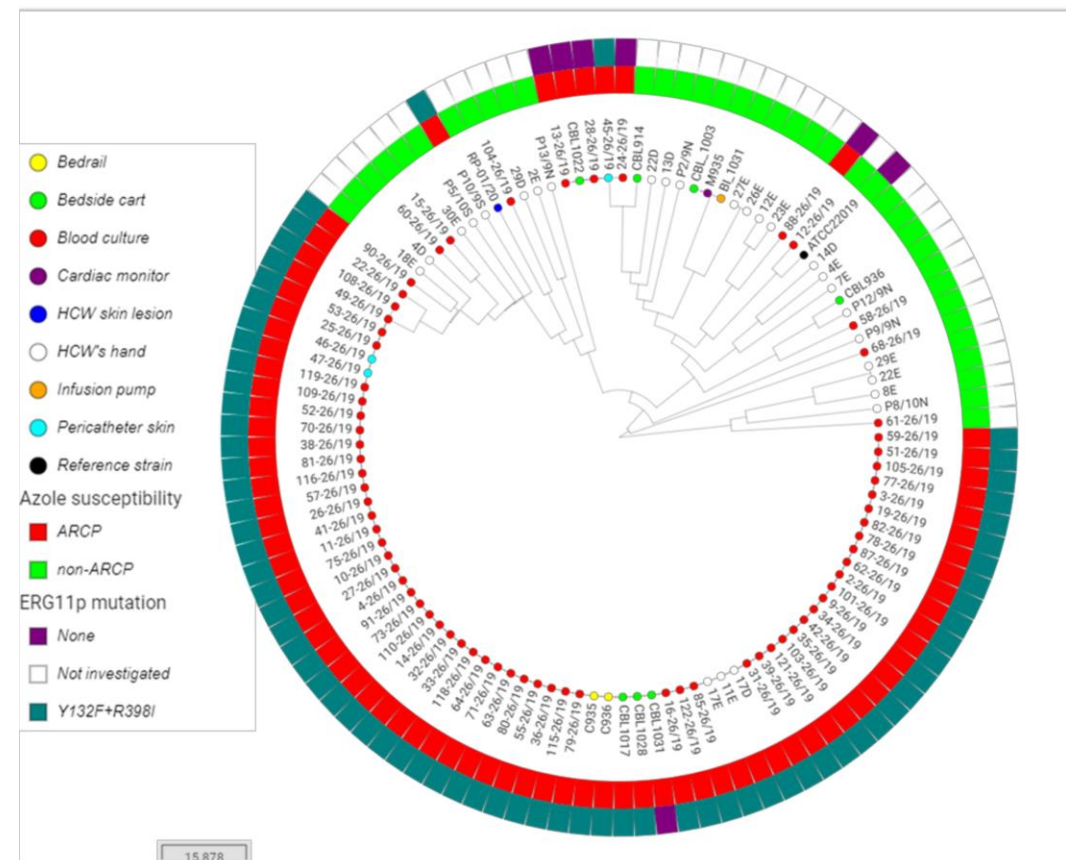
Laboratório Especializado/Referência: Tipagem molecular



Laboratório Especializado/Referência: Tipagem molecular



Candida auris Clado I



Candida parapsilosis R fluconazol

Laboratório Especializado/Referência: Desenvolver métodos diagnósticos (ex. PCR, RT-PCR)

TABLE 1 Primers used in the study

Primer	Sequence	Specificity
CauF	5'-CGCACATTGCGCCTTGGGGTA-3'	<i>C. auris</i>
CauR	5'-GTAGTCCTACCTGATTTGAGGCCGAC-3'	<i>C. auris</i> and related species (<i>C. duobushaemulonii</i> , <i>C. haemulonii</i> , and <i>C. lusitaniae</i>)
CauRelF	5'-GCCGATACGTAGTATGACTTGCAGACG-3'	
CauRelR	5'-CAGCGGGTAGTCCTACCTGA-3'	

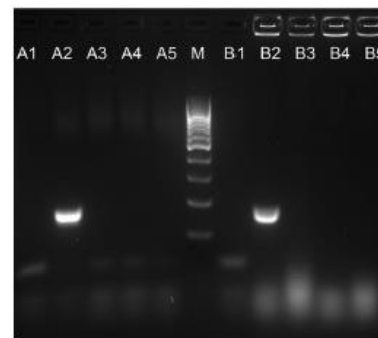


FIG 1 Example of *Candida auris*-specific PCR product analysis. M, 100-bp DNA ladder (fragment sizes 1,000, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, and 100 bp); A series, results of *Candida auris*-specific PCR; B series, results of colony *Candida auris*-specific PCR; lane 1, negative control; lane 2, *C. auris* VPCI 671/P/12; lane 3, *C. haemulonii* ATCC 22991; lane 4, *C. duobushaemulonii* B09383; lane 5, *C. lusitaniae* CAS08-0577; VPCI, Vallabhbhai Patel Chest Institute.

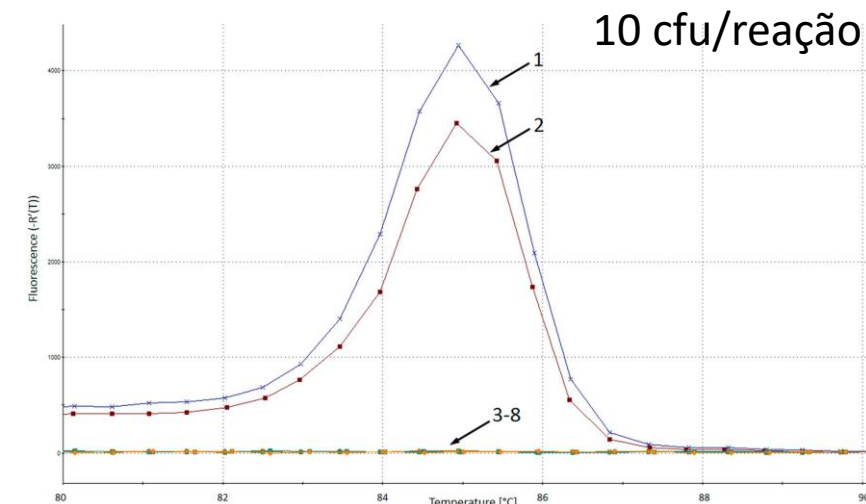


FIG 2 Melting profile of *Candida auris*-specific real-time PCR. 1, *C. auris* B11800 (Colombia); 2, *C. auris* VPCI 1133/P/13 (India); 3, *C. duobushaemulonii* CAS11-3561; 4, *C. lusitaniae* DPL 284; 5, *C. albicans* DPL 225; 6, *C. sake* 3000724892; 7, *Saccharomyces cerevisiae* DPL 269; 8, negative control; VPCI, Vallabhbhai Patel Chest Institute; DPL, David Perlin Laboratory.



Ref 2

Laboratório Especializado/Referência: Cultura de amostras não Clínicas

Solving Fungal Outbreaks with Partnerships and Data

When fungal disease outbreaks occur, CDC's [Mycotic Diseases Branch](#) works closely with federal, state, and local public health agencies and other partners. Together, they collect different types of data to find the source of the outbreak:

- **Epidemiologic data** to answer questions such as “Who got sick?” “When?” and “Where?”
- **Patient samples** such as blood or tissue are tested in a laboratory to find out which fungus is causing the illnesses.
- **Environmental samples** can help health officials determine if fungi in the environment match the patient samples, providing clues about where they might have gotten infected.



Analyzing epidemiologic data

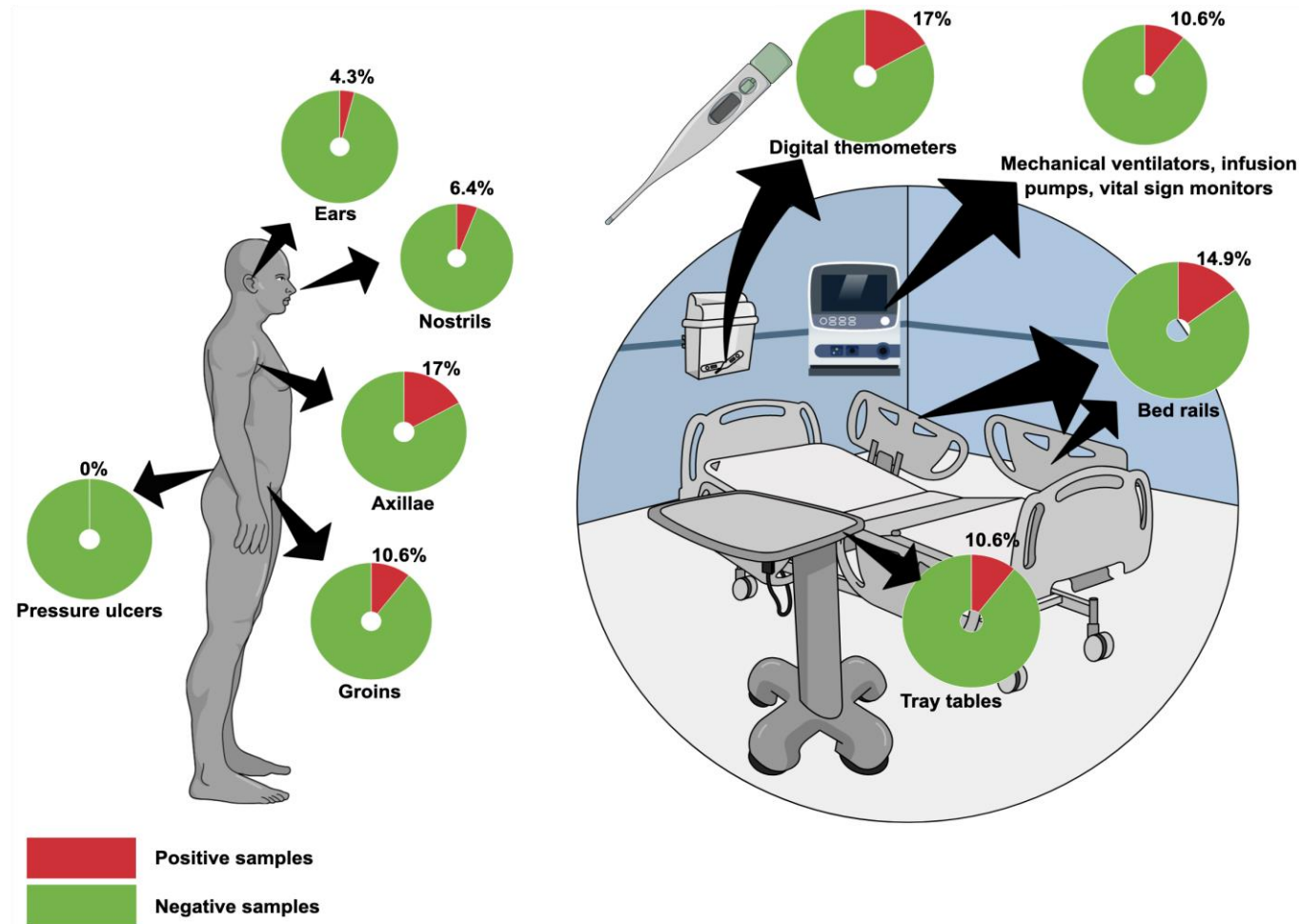


Testing patient samples



Collecting environmental samples
from a hospital

Laboratório Especializado/Referência: Cultura de amostras não Clínicas (ex. *Candida auris*)



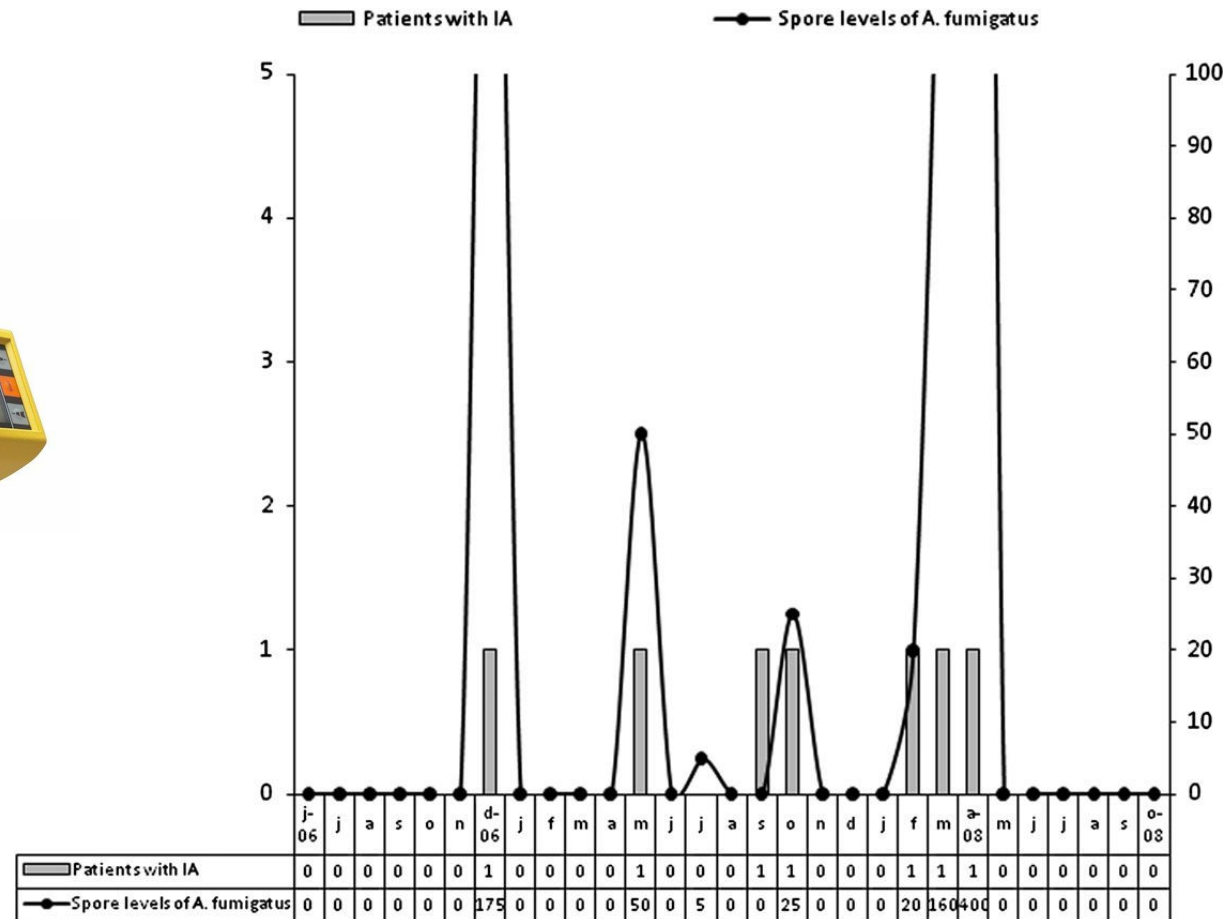
Laboratório Especializado/Referência: Cultura de amostras não Clínicas (ex. Mucormicose intra-hospitalar)



Laboratório Especializado/Referência: Cultura de amostras não Clínicas (ex. *Aspergillus* intra-hospitalar)



Laboratório Especializado/Referência: Cultura de amostras não Clínicas (ex. *Aspergillus* intra-hospitalar)



Laboratório Especializado/Referência:

Teste sensibilidade padrão-ouro (ex. *Candida auris*)

Primeiros 10 isolados (Dezembro 2020)	
Droga	CIM (mcg/mL)
Anfotericina B	0.5-1
Voriconazol	0.06
Fluconazol	2-4
Anidulafungina	<0.03
Isolados recentes (Março 2021)	
Droga	CIM (mcg/mL)
Anfotericina B	0.5-1
Voriconazol	0.06-0.5
Fluconazol	2-32
Anidulafungina	<0.03-2

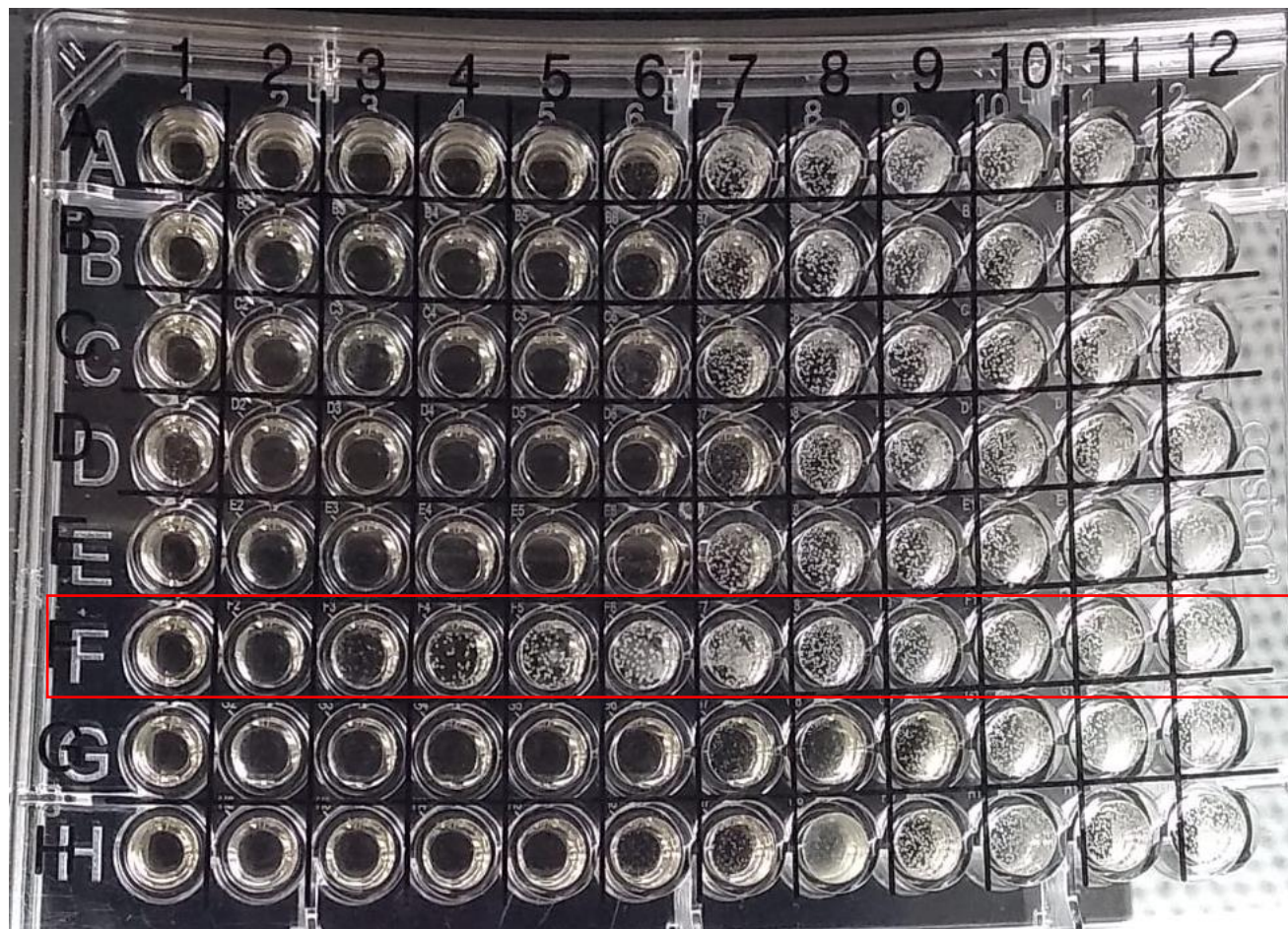
Créditos: Elaine Francisco, Larissa Favarello,
Ricardo Lima, Prof. Arnaldo Colombo

Laboratório Especializado/Referência: :

Teste sensibilidade padrão-ouro (ex. *Candida auris*)

MIC mg/l

16 8 4 **2** 1 0.5 0.25 0.125 0.06 0.03



Subpopulação de
Isolado trato urinário
paciente 2021

Laboratório Especializado/Referência:

Pesquisa mecanismos de resistência (ex. ERG11 e FKS *Candida auris*)

B)

Species/Abbrev	* * *
1. Candida_albicans_ATCC_10231_FJ372626.1	A K L V E S Y F F L T L S L R D P I R N L S T M T M R C V G E V W Y K D
2. Candida_auris_L1537	A K L A E S Y F F L T L S L R D P I R N L S T M T M R C N G E Q W F G D
3. Candida_auris_VPCI_1133/P/13-R_MK059974.1	A K L A E S Y F F L T L F L R D P I R N L S T M T M R C N G E Q W F G D
4. Candida_auris_VPCI_1132/P/13-R_MK059967.1	A K L A E S Y F F L T L S L R D P I R N L S T M T M R C N G E Q W F G D

S639F

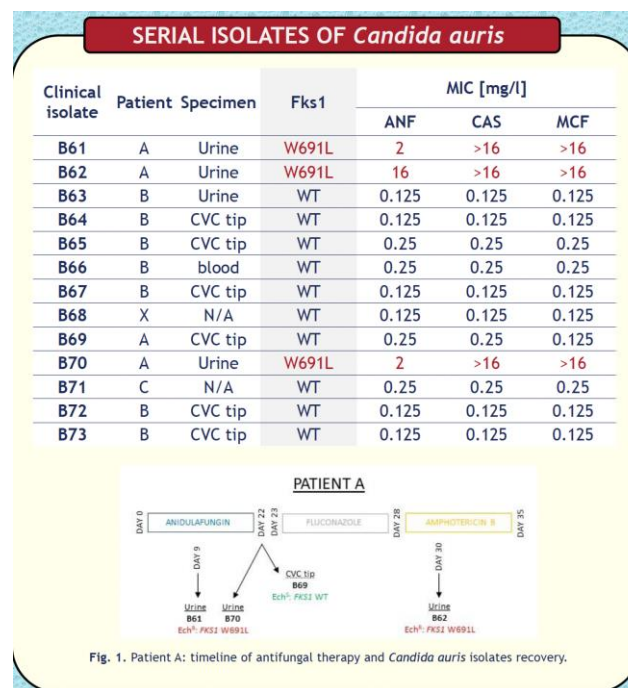
A) Erg11p alignment showing the conserved region between the sites 119 and 145 including the azole resistance mutations K143R and Y132F are highlighted with black squares; (B) Fks1p alignment showing the conserved region between the sites 627 and 662 including the echinocandin wildtype *Candida albicans* ATCC 10231 (1), the Brazilian *Candida auris* strain L1537 (2), the strain VCPI 1133/P/13-R harboring the mutation S639F (3), and the strain VCPI 1132/P/13-R.

4. Discussion

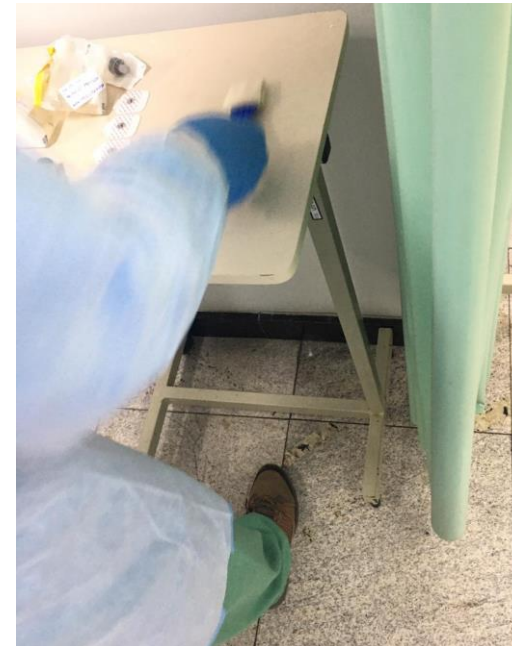
Laboratório Especializado/Referência: Pesquisa mecanismos de resistência (ex. FKS *Candida auris*)

Novel Non-Hot Spot Modification in Fks1 of *Candida auris* Confers Echinocandin Resistance

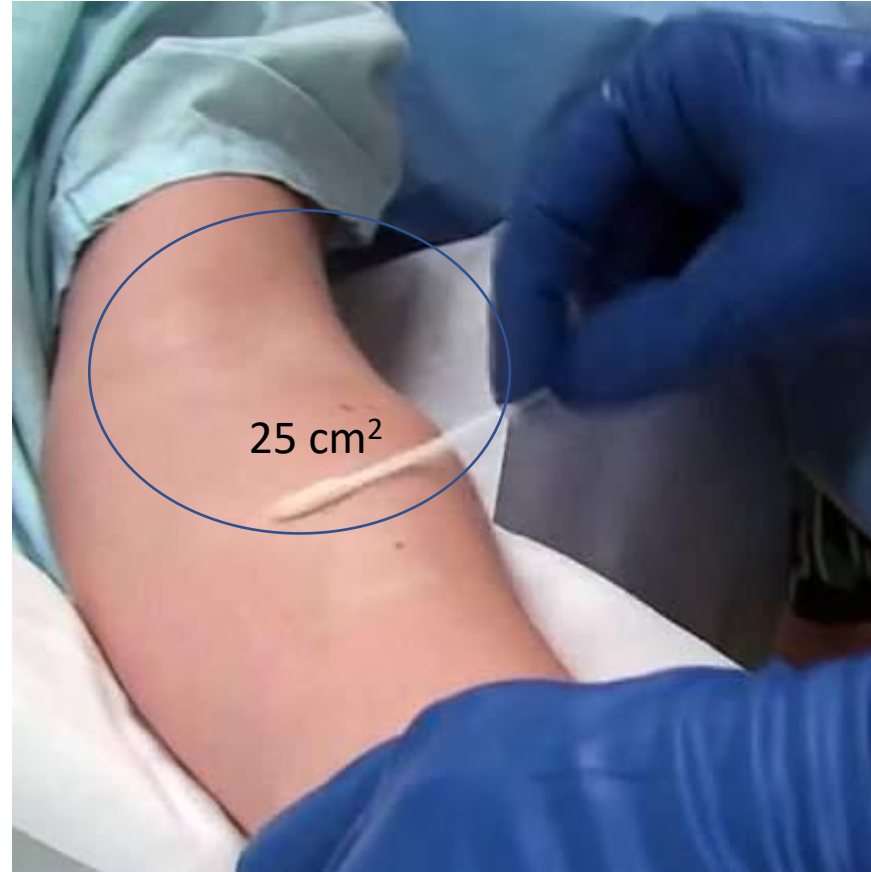
 Milena Kordalewska,^a Geselle Cancino-Prado,^a
 João Nobrega de Almeida Júnior,^{b,c} Igor Brasil Brandão,^d
 Renata Tigulini de Souza Peral,^e Arnaldo L. Colombo,^b
 David S. Perlin^a



Laboratório Especializado/Referência: Treinamento (ex. *Candida auris*)



Laboratório Especializado/Referência: Treinamento(ex. *Candida auris*)

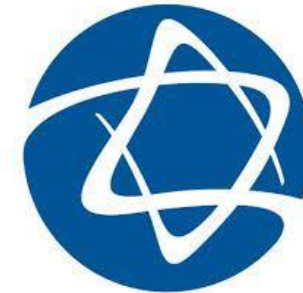


Umidify, 1 swab per area, 1 minute per area

Mensagens para casa

- Surto de infecções fúngicas intra-hospitalares podem ser causadas por diversas espécies de fungos
- O reconhecimento do surto começa no laboratório: precisamos de micologistas treinados em laboratórios clínicos!
- O manejo laboratorial de surtos por fungos deve ser multiestruturado (suporte de laboratórios especializados)
- MALDI-TOF é uma ferramenta diagnóstica importante para diagnóstico e monitoramento de surtos
- Culturas de vigilância deve ser feita com cultivo em caldo (*Candida auris*)
- Teste de sensibilidade aos antifúngicos é indispensável (*Candida auris*, *Candida parapsilosis*)

Agradecimentos



Contato: jnaj99@gmail.com
joao.nobregaa@einstein.br