

Actividad antifúngica *in vitro* de aislamientos clínicos costarricenses de *Aspergillus* spp.

(Antifungal Susceptibility of Clinical Isolates of *Aspergillus* spp. in Costa Rica)

Ian Cambroneró-Ortiz¹, Daniela Jaikel-Viquez², Norma T. Gross³

Afiliación Institucional:

¹Caja Costarricense del Seguro Social, Hospital Nacional de Geriátrica y Gerontología Dr. Raúl Blanco Cervantes, Laboratorio Clínico, San José, Costa Rica. IAN.CAMBRONERO@ucr.ac.cr

0009-0000-1658-3659

²Universidad de Costa Rica, Facultad de Microbiología, Departamento de Microbiología e Inmunología, Sección de Micología Médica, San José, Costa Rica. Universidad de Costa Rica, Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET), San José, Costa Rica. DANIELA.JAIKELVIQUEZ@ucr.ac.cr

0000-0002-3553-5393

³Universidad de Costa Rica, Facultad de Microbiología, Departamento de Microbiología e Inmunología, Sección de Micología Médica, San José, Costa Rica. Universidad de Costa Rica, Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET), San José, Costa Rica. NORMA.GROSS@ucr.ac.cr

0000-0002-5710-1297

Abreviaturas:

CLSI; Clinical and Laboratory Standards Institute, CMI; Concentración mínima inhibitoria, VCE; valor de corte epidemiológico.

Conflicto de Intereses: Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Declaración de contribución de cada persona autora:

Ian Cambroneró Ortiz: Curación de datos, investigación, metodología, validación, visualización, redacción borrador, revisión y edición. Daniela Jaikel Viquez: Análisis formal, metodología, materiales, visualización, revisión y edición. Norma T. Gross: Conceptualización, metodología, materiales, supervisión, validación, redacción borrador, revisión y edición.

Financiamiento: Este trabajo se subvencionó a través del proyecto VI-C3127 inscrito ante la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica.

Lugar de Realización: Universidad de Costa Rica, San Pedro de Montes de Oca, San José, Costa Rica.

✉ IAN.CAMBRONERO@ucr.ac.cr



Esta obra está bajo una licencia internacional: Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0.

Resumen

Objetivos: En la última década se ha reportado una disminución de la susceptibilidad de los antifúngicos utilizados en el tratamiento de la aspergilosis; sin embargo, en Costa Rica no existen estudios sobre la actividad antifúngica de aislamientos clínicos de *Aspergillus*. Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación es determinar los patrones de susceptibilidad *in vitro* a los antifúngicos de *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus* y *A. versicolor*, provenientes de muestras clínicas.

Métodos: Se realizó la prueba de susceptibilidad de 42 *Aspergillus* spp. a la anfotericina B, itraconazol y voriconazol utilizando la guía de microdilución en caldo M38-A del Clinical and Laboratory Standards Institute para hongos filamentosos.

Resultados: La concentración mínima inhibitoria (CMI) media para *A. fumigatus* fue de 1,64 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para anfotericina B, 1,38 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para itraconazol y 3,52 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para voriconazol, el 33,00 % de los aislamientos fueron resistentes a voriconazol. Para las demás especies analizadas, la CMI media fue de 7,19 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para anfotericina B, 0,46 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para itraconazol y 1,58 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para voriconazol.

Conclusiones: Los valores de CMI para anfotericina B e itraconazol de la mayoría de los aislamientos de *A. fumigatus* mostraron un fenotipo comparable con cepas silvestres; sin embargo, un porcentaje significativo de los aislamientos fueron resistentes a voriconazol, el tratamiento de primera línea para la aspergilosis. Además, *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus* y *A. versicolor* presentaron valores altos de CMI para anfotericina B, por lo que se recomienda realizar pruebas de susceptibilidad en casos de fallo terapéutico.

Descriptores: antifúngicos, *Aspergillus* spp., aspergilosis, prueba de sensibilidad microbiana.

Abstract

Introduction: Aspergillosis affects mainly immunosuppressed patients, especially those with neutropenia. A decreased susceptibility of antifungals used in the treatment of this disease has been reported in the last decade. At present, in Costa Rica there is a lack of studies concerning the antifungal activity of clinical *Aspergillus* isolates. Thus, the purpose of the present investigation was to determine the *in vitro* susceptibility patterns of clinical *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus* and *A. versicolor*.

Methods: The susceptibility of 42 *Aspergillus* spp. to amphotericin B, itraconazole and voriconazole was evaluated using the Clinical and Laboratory Standards Institute broth microdilution M38-A guideline for filamentous fungi.

Results: The mean minimal inhibitory concentration (MIC) for *A. fumigatus* was 1,64 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for amphotericin B, 1,38 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for itraconazole and 3.52 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for voriconazole, and 33,3 % of the isolates were resistant to voriconazole. For the other species tested, the mean MIC was 7,19 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for amphotericin B, 0,46 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for itraconazole and 1,58 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for voriconazole.

Conclusions: MIC values for amphotericin B and itraconazole of most *A. fumigatus* isolates were comparable to those of wild-type strains. However, a significant percentage of the isolates were resistant to voriconazole, the first line treatment for aspergillosis. Further, *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus* and *A. versicolor* demonstrated high MIC values for amphotericin B; thus, it is recommended to performed susceptibility testing in these cases if there is a poor response to therapy.

Keywords: Antifungal agents, *Aspergillus* spp., aspergillosis, microbial sensitivity test.

Fecha de recibido: 04, junio, 2025

Fecha de aceptado: 22, enero, 2026

La aspergilosis es una enfermedad cosmopolita causada por hongos pertenecientes al género *Aspergillus*. Estos agentes son causantes de más de 200 000 casos anuales de aspergilosis invasiva, más de 1 200 000 casos de aspergilosis pulmonar crónica y 10 000 000 de casos de asma severa con sensibilización fúngica. Sin embargo, los casos por año se han ido incrementando, lo que puede deberse al aumento concomitante de pacientes inmunosupresos.¹⁻²

La mortalidad relacionada con las infecciones es alta, especialmente en aquellos pacientes que poseen enfermedades de fondo o inmunosupresiones irreversibles, especialmente neutropenia. Además, la aspergilosis es la enfermedad causada por hongos más frecuente en pacientes con trasplante de células madre hematopoyéticas.^{2,3}

La resistencia a los antifúngicos es otra problemática asociada a estos hongos, siendo *Aspergillus fumigatus* una especie de interés por la creciente resistencia a los azoles que se ha demostrado en aislamientos de diversas matrices. Además, han surgido especies emergentes de *Aspergillus*, diferentes al *A. fumigatus* resistentes a los triazoles y, que eventualmente pueden generar resistencia a la anfotericina B.^{4,5}

La resistencia a los antifúngicos se puede desarrollar a nivel ambiental por prácticas agrícolas intensivas o en la clínica por el uso de tratamientos profilácticos. El uso indiscriminado de antifúngicos en cultivos agrícolas a nivel mundial es considerado una de las causas más importantes del incremento de cepas resistentes a estos compuestos. Los antifúngicos azólicos, son la primera línea para el tratamiento de aspergilosis en personas y también son utilizados en agricultura debido a su eficacia contra una amplia gama de hongos, lo que ha propiciado que los hongos adquieran esa resistencia en el ambiente y cuando causan enfermedad en las personas, no responden al tratamiento de forma adecuada.⁶

En Costa Rica no se dispone de estudios de susceptibilidad de las especies de *Aspergillus* patógenas al

ser humano; por lo tanto, la presente investigación tiene como objetivo determinar el patrón de susceptibilidad in vitro de aislamientos clínicos costarricenses de *Aspergillus* spp., con el fin de contribuir con el conocimiento sobre el estado actual en el país.

Métodos

Aislamientos de *Aspergillus* spp. En el presente trabajo se evaluó la susceptibilidad antifúngica de 42 aislamientos clínicos de diferentes especies de *Aspergillus*, a saber: *A. flavus* ($n = 7$), *A. fumigatus* ($n = 21$), *A. niger* ($n = 5$), *A. terreus* ($n = 4$) y *A. versicolor* ($n = 5$). Estos hongos fueron depositados en la Micoteca de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica (VI-430-B7-732), entre los años 1987 y 2021 y fueron obtenidos de pacientes diferentes. Los aislamientos de *A. fumigatus* provenían de esputo ($n=4$), biopsia pulmonar ($n=3$), aspirado bronquioalveolar ($n=2$), bronquios ($n=2$), oído ($n=2$), hemocultivo ($n=1$), piel ($n=1$), absceso ($n=1$), uña ($n=1$), córnea ($n=2$) y dos muestras no contaban con información. Los aislamientos de *A. flavus* provenían de uñas de pie ($n=5$), tejido de rodilla ($n=1$) y lavado bronquioalveolar ($n=1$), los de *A. niger* de oído ($n=4$) y lavado bronquioalveolar ($n=1$), los de *A. terreus* de uña de pie ($n=2$), dedo de mano ($n=1$) y seno esfenoidal ($n=1$), y todos los de *A. versicolor* de uñas de pie.

Pruebas de susceptibilidad. Los patrones de susceptibilidad se determinaron mediante el método de microdilución en caldo para hongos filamentosos M38-A del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (Cantón Lacasa E, Martín Mazuelos E, Espinel-Ingroff A. Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos. Rev Iberoam Micol. 2007). Los antifúngicos analizados fueron anfotericina B, itraconazol y voriconazol (Royal Pharm, Hangzhou, China).

Como controles se utilizaron las cepas control de *Candida krusei* American Type Culture Collection (ATCC, por sus siglas en inglés) 6258 y *Candida parapsilosis* ATCC 22019.

Los aislamientos fueron considerados como tipo silvestre si los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) obtenidos fueron menores al valor de corte epidemiológico (VCE) y si los valores de la CMI fueron mayores al VCE se contemplaron como aislamientos de susceptibilidad disminuida, con respecto al tipo silvestre. Para *A. versicolor*, solo existe VCE para anfotericina B (CLSI. 2020. Epidemiological cutoff values for antifungal susceptibility testing. 3rd edition. CLSI Supplement M59. Philadelphia: Clinical and Laboratory Standards Institute). Con respecto al voriconazol, los puntos de corte clínicos (PCC) establecidos por el CLSI para *A. fumigatus* son sensibles si la CMI $\leq 0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$, intermedio si es $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ y resistente si este valor es $\geq 2 \mu\text{g mL}^{-1}$

Análisis estadístico. Para analizar los resultados obtenidos se utilizó el programa estadístico SPSS® (IBM® SPSS® Statistics para Windows. Versión 20.0. Armonk, NY, Estados Unidos). Se determinó la media geométrica y el intervalo para las diferentes CMIs, también se determinó la CMI₅₀ para todos los casos y la CMI₉₀ para cada antifúngico analizado, para aquellos ensayos con un número de muestras suficiente. Además, se realizó un análisis de varianza ANOVA para

determinar si existían diferencias estadísticamente significativas entre las CMI obtenidas para los distintos antifúngicos y una prueba de t-student para ver si existían diferencias estadísticamente significativas entre las medias geométricas obtenidas para cada antifúngico comparando la población de *A. fumigatus* con las otras especies de *Aspergillus*.

Resultados

Se obtuvieron 42 aislamientos clínicos, los cuales fueron divididos en dos poblaciones, una incluyó aquellos identificados morfológicamente como *A. fumigatus* ($n = 21$) y la segunda población englobó las otras especies de *Aspergillus* estudiadas: *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus* y *A. versicolor* ($n = 21$).

En el Cuadro 1 se presenta la distribución de las CMIs para los aislamientos de *A. fumigatus*. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las CMIs de los tres antifúngicos ($F = 1,765$; $gl = 2$; $p = 0,180$). Se observó que la mayor cantidad de aislamientos silvestres se presentaron con itraconazol (90,48 %), seguido de anfotericina B (66,67 %) y voriconazol (61,90 %). Además, para el voriconazol los aislamientos se agruparon en sensibles (66,67 %) y resistentes (33,33 %).

Cuadro 1. Distribución de la CMI de la anfotericina B, itraconazol y voriconazol sobre la población de aislamientos clínicos de *Aspergillus fumigatus* ($n = 21$)

Antifúngico	CMI Promedio ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Rango ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	CMI ₅₀ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	CMI ₉₀ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Anfotericina B	1,64	0,25 – 4,00	1,00	4,00
Itraconazol	1,38	0,03 – 16,00	0,25	6,50
Voriconazol	3,52	0,06 – 16,00	0,25	16,00

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria

Para la población de las otras especies de *Aspergillus*, también se determinó la media geométrica de la CMI de cada antifúngico estudiado, el intervalo, la CMI₅₀ y CMI₉₀ de los resultados de toda la población agrupada (Cuadro 2). Además, se calcularon estos mismos paráme-

tros para cada especie de este grupo, excepto la CMI₅₀ debido al tamaño de la población (Cuadro 3). En el estudio se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las CMIs de la anfotericina B y de los azoles.

Cuadro 2. Distribución de la CMI de la anfotericina B, itraconazol y voriconazol para la población de aislamientos clínicos de *Aspergillus* spp., distintos de *A. fumigatus* ($n = 21$)

Antifúngico	CMI Promedio ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Rango ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	CMI ₅₀ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	CMI ₉₀ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Anfotericina B	7,19	1,00 – 16,00	2,00	16,00
Itraconazol	0,46	0,06 – 0,25	0,25	1,00
Voriconazol	1,58	0,06 – 16,00	0,25	6,80

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria

Cuadro 3. Distribución de la CMI de la anfotericina B, itraconazol y voriconazol para cada especie perteneciente a la población de otras especies de <i>Aspergillus</i> (n=21)			
Antifúngico	CMI Promedio (µg mL⁻¹)	Rango (µg mL⁻¹)	CMI₅₀ (µg mL⁻¹)
<i>Aspergillus flavus</i> (n=7)			
Anfotericina B	10,00	1,00 – 16,00	16,00
Itraconazol	0,38	0,06 – 1,00	0,25
Voriconazol	0,38	0,13 – 0,50	0,50
<i>Aspergillus niger</i> (n=5)			
Anfotericina B	1,40	1,00 – 2,00	1,00
Itraconazol	0,15	0,13 – 0,25	0,13
Voriconazol	0,14	0,06 – 0,25	0,13
<i>Aspergillus terreus</i> (n=4)			
Anfotericina B	1,50	2,00 – 16,00	16,00
Itraconazol	0,16	0,06 – 0,25	0,16
Voriconazol	1,10	0,13 – 2,00	1,13
<i>Aspergillus versicolor</i> (n=5)			
Anfotericina B	4,80	1,00 – 16,00	2,00
Itraconazol	1,13	0,13 – 4,00	0,25
Voriconazol	5,10	0,25 – 16,00	1,00
CMI: Concentración Mínima Inhibitoria			

En *A. flavus* el antifúngico con más aislamientos que presentaron susceptibilidad disminuida fue la anfotericina B con un 71,43 %, seguido por el itraconazol con 14,28 % y; por último, el voriconazol, donde solo se obtuvieron tipos silvestres. Por otra parte, *A. niger* solo mostró fenotipos con susceptibilidad disminuida para la anfotericina B, en un 40,00 % de los aislamientos. *A. terreus* mostró susceptibilidad disminuida para la anfotericina B (75,00 %) y para el voriconazol (50,00 %). En un 60,00 % de los aislamientos de *A. versicolor* se observó susceptibilidad disminuida para anfotericina B.

Al comparar las medias geométricas de las CMIs de cada antifúngico entre la población de otras especies de *Aspergillus* y la de *A. fumigatus* se encontró diferencias estadísticamente significativas entre las CMIs de anfotericina B ($t = 3,511$; $gl = 40$; $p = 0,001$), pero no así para itraconazol y voriconazol ($[t = 1,093$; $gl = 40$; $p = 0,281]$ y $[t = 1,298$; $gl = 40$; $p = 0,202]$, respectivamente).

Discusión

Debido al aumento en la resistencia a los azoles en las diversas especies de *Aspergillus* y al hecho que esta pueda ser encontrada en aislamientos de pacientes que no han estado previamente expuestos a estos fármacos, el estudio sobre la susceptibilidad de estos hongos aislados de muestras clínicas a los antifúngicos ha tomado relevancia en los últimos años.⁷

En el presente estudio, con el itraconazol se presentó una cantidad significativa de aislamientos de *A.*

fumigatus silvestres. De manera similar, en estudios previos se encontraron aislamientos clínicos de *A. fumigatus* con valores medios de CMI bajos para itraconazol, clasificándolos como tipo silvestre.^{8,9,10} Por otro lado, en esta investigación, un número significativo de aislamientos de *A. fumigatus* fueron resistentes a voriconazol, el cual mostró la CMI₉₀ más alta de los tres antifúngicos evaluados. Esto contrasta con los resultados reportados por Romero et al.¹⁰, quienes documentaron una CMI₉₀ más baja que los aislamientos costarricenses. De manera similar, Bedin-Denardi et al.¹¹ informaron una CMI menor que los valores obtenidos en el presente estudio.

Se han reportados mutaciones asociadas con el fenotipo resistente a los azoles en *A. fumigatus* en países latinoamericanos como Colombia, Brasil, Perú y Argentina.^{12,13} En Costa Rica, se ha documentado el uso de azoles en cultivos agrícolas, por lo que es de interés realizar estudios que aporten sobre el conocimiento de la resistencia a los antifúngicos de productos agrícolas en el país.¹⁴ De esta manera se podría determinar si la resistencia observada en los aislamientos clínicos costarricenses podría deberse al uso indiscriminado de antifúngicos en la agricultura (Vargas Castro E. Uso aparente de plaguicidas en la agricultura de Costa Rica. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD-Costa Rica); 2022. Disponible en: <https://d1qqtien6gys07.cloudfront.net>). El uso prolongado de azoles en pacientes con formas crónicas de aspergilosis también podría contribuir a la resistencia a estos fármacos. Cabe destacar que, de los siete aislamientos clínicos costarricenses resistentes a voriconazol,

cinco se obtuvieron de muestras clínicas sugestivas de aspergilosis invasiva, como los hemocultivos y lavados bronquioalveolares, mientras que los otros aislamientos clasificados como resistentes provinieron de una úlcera corneal y una muestra de oído. Los aislamientos de *A. fumigatus* provenientes de esputo y lavado bronquioalveolar analizados por Macedo *et al.*¹⁵ fueron clasificados como resistentes a voriconazol, y varios de ellos se originaron en pacientes con exposición previa a azoles. Resendiz-Sharpe *et al.*¹⁵ encontraron que la resistencia a voriconazol en pacientes hematológicos con aspergilosis invasiva fue mayor en muestras de lavado bronquioalveolar, seguido de los obtenidos en esputos, pero no reportaron si existía exposición previa a azoles en los pacientes. De igual manera, en el presente estudio se desconoce este dato, por lo que es necesario realizar futuros estudios en este campo para poder determinar si existe asociación entre la exposición previa a azoles y la resistencia a este antifúngico en aislamientos costarricenses. En la presente investigación, la anfotericina B mostró una mayor actividad antifúngica en comparación con lo reportado por Arikan *et al.*¹⁶ Por otro lado, Wang *et al.* y Bedin-Denardi *et al.* observaron una mayor actividad antifúngica para este polieno que en el presente estudio.^{8,11} Además, Romero *et al.*¹⁰ reportó que ninguno de los aislamientos clínicos de *A. fumigatus* fue clasificado con susceptibilidad reducida. Sin embargo, la mayoría de los aislamientos clínicos costarricenses de *A. fumigatus* mostraron un fenotipo silvestre para anfotericina B, lo cual es consistente con estudios previos de esta especie, donde la resistencia durante el tratamiento es poco común y la resistencia adquirida en el laboratorio también es rara.¹⁷

En cuanto a los aislamientos clínicos de otras especies de *Aspergillus*, estos exhibieron valores medios de CMI altos para anfotericina B. Esto puede explicarse por el hecho de que la mayoría de los aislamientos de *A. terreus* presentan resistencia a este polieno y que en los últimos años *A. flavus* se ha observado como una especie resistente también.¹⁸⁻²⁰ En contraste, los aislamientos de las mismas especies en este estudio exhibieron valores medios de CMI bajos para los azoles, lo que concuerda con estudios previos, que mostraron valores medios de CMI similares tanto para itraconazol como para voriconazol.^{16,17}

Los aislamientos de *A. niger* mostraron susceptibilidad reducida a la anfotericina B, mientras que todos los aislamientos de esta especie fueron categorizados como tipo silvestre para los otros dos antifúngicos estudiados. Esto difiere de los resultados obtenidos por Jing *et al.*²¹, quienes evaluaron la susceptibilidad antifúngica a los azoles y la anfotericina B en muestras de otomicosis. Los autores mostraron que los 11 aislamientos fueron clasificados como tipo silvestre para el polieno, mientras que el 9,09 % mostró susceptibilidad reducida a itraconazol y voriconazol. Esta discrepancia podría deberse a la meto-

dología utilizada por los autores previos, ya que los aislamientos fueron incubados 24 horas menos, lo que podría haber llevado a valores de CMI más bajas que los observados en los aislamientos costarricenses, ya que tiempos de incubación más largos arrojan valores más altos.²²

En la presente investigación, tres de los cuatro aislamientos de *A. terreus* exhibieron valores altos de CMI para anfotericina B. Vahedi Shahandashti *et al.*²⁰ reportaron valores de CMI más bajas para *Aspergillus* sección *Terrei* y *A. terreus* en comparación con los obtenidos en los aislamientos costarricenses. En el estudio mencionado, las placas con antifúngicos fueron incubadas durante 48 horas, en comparación con las 72 horas en el presente trabajo, lo que podría explicar los valores más bajos.²² Con respecto a itraconazol, los cuatro aislamientos de *A. terreus* en el presente estudio fueron clasificados como tipo silvestre; sin embargo, el 50,00 % de los aislamientos mostró susceptibilidad reducida a voriconazol, pero los valores de CMI de los azoles para esta especie han sido generalmente bajos, según la literatura.^{8,17} Además, Won *et al.* y Jing *et al.* reportaron aislamientos de tipo silvestre al voriconazol al estudiar 31 y 11 aislamientos respectivamente; sin embargo, este último estudio realizó la incubación de la prueba por solo 48 horas.^{21,23}

En cuanto a los aislamientos de *A. versicolor*, los resultados mostraron que el 60,00 % de los aislamientos presentaron susceptibilidad reducida a la anfotericina B. Heo *et al.*²⁴ clasificaron seis aislamientos clínicos como tipo silvestre según el ECV. Pfaller *et al.*²⁵ estudiaron nueve aislamientos clínicos de *A. versicolor*, determinando un CMI₅₀ menor que el obtenido en el presente estudio. Sin embargo, ambos estudios incubaron los aislamientos por un tiempo menor que en el presente estudio, lo que podría explicar las diferencias en los valores obtenidos.

Las CMIs de anfotericina B e itraconazol de los aislamientos clínicos de *A. fumigatus* costarricenses mostraron un fenotipo comparable con las cepas de tipo silvestre, pero en una cantidad importante de aislamientos de *A. fumigatus* se observó resistencia al voriconazol. Al comparar la CMI media de los aislamientos de *A. fumigatus* con las otras especies de *Aspergillus* estudiadas se observaron diferencias significativas con la anfotericina B. Estos resultados sugieren la necesidad de realizar pruebas de susceptibilidad al voriconazol en *A. fumigatus* y a la anfotericina B en aislamientos de *A. flavus*, *A. terreus*, *A. niger* y *A. versicolor* ante una pobre respuesta al tratamiento en casos de infecciones causadas por estos hongos. Asimismo, la presente investigación recalca la importancia de continuar realizando estudios de este tipo y contribuir con información actualizada necesaria para guiar la elección del tratamiento de la aspergilosis en el país.

Agradecimientos

Se agradece a la señorita Alejandra Gómez Arrieta, asistente de laboratorio de Micología Médica, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, por su apoyo durante la realización de este proyecto.

Referencias

- Chowdhary A, Sharma C, Meis JF. Azole-resistant aspergillosis: epidemiology, molecular mechanisms, and treatment. *J Infect Dis*. 2017; 216:436-444. DOI: [10.1093/infdis/jix210](https://doi.org/10.1093/infdis/jix210)
- Cadena J, Thompson GR, Patterson TF. Aspergillosis: Epidemiology, diagnosis, and treatment. *Infect Dis Clin*. 2021; 35:415-434. DOI: [10.1016/j.idc.2021.03.008](https://doi.org/10.1016/j.idc.2021.03.008)
- Neofytos, D., Horn, D., Anaissie, E., Steinbach, W., Olyaei, A., Fishman, et al. Epidemiology and outcome of invasive fungal infection in adult hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 2009; 48: 265-273. DOI: [10.1086/595846](https://doi.org/10.1086/595846)
- Gonçalves SS, Souza ACR, Chowdhary A, Meis JF, Colombo AL. Epidemiology and molecular mechanisms of antifungal resistance in *Candida* and *Aspergillus*. *Mycoses*. 2016; 59:198-219. DOI: [10.1111/myc.12469](https://doi.org/10.1111/myc.12469)
- Reichert Lima F, Lyra L, Pontes L, Moretti ML, Pham CD, Lockhart SR, et al. Surveillance for azoles resistance in *Aspergillus* spp. highlights a high number of amphotericin B resistant isolates. *Mycoses*. 2018; 61:360-365. DOI: [10.1111/myc.12759](https://doi.org/10.1111/myc.12759)
- Berger S, El Chazli Y, Babu AF, Coste AT. Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a consequence of antifungal use in agriculture? *Front Microbiol*. 2017; 8:1024. DOI: [10.3389/fmicb.2017.01024](https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01024)
- Buil JB, Hagen F, Chowdhary A, Verweij PE, Meis JF. Itraconazole, voriconazole, and posaconazole CLSI MIC distributions for wild-type and azole-resistant *Aspergillus fumigatus* isolates. *J Fungi*. 2018; 4:1-9. DOI: [10.3390/jof4030103](https://doi.org/10.3390/jof4030103)
- Wang HC, Hsieh MI, Choi PC, Wu CJ. Comparison of the Sensititre Yeastone and CLSI M38-A2 microdilution methods in determining the activity of amphotericin B, itraconazole, voriconazole, and posaconazole against *Aspergillus* species. *J Clin Microbiol*. 2018; 56: e00780-18. DOI: [10.1128/JCM.00780-18](https://doi.org/10.1128/JCM.00780-18)
- Borman AM, Fraser M, Palmer MD, Szekely A, Houldsworth M, Patterson Z, Johnson EM. MIC distributions and evaluation of fungicidal activity for amphotericin B, itraconazole, voriconazole, posaconazole and caspofungin and 20 species of pathogenic filamentous fungi determined using the CLSI broth microdilution method. *J Fungi*. 2017; 3:27-41. DOI: [10.3390/jof3020027](https://doi.org/10.3390/jof3020027)
- Romero M, Messina F, Marin E, Arechavala A, Depardo R, Walker L, Santiso G. Antifungal resistance in clinical isolates of *Aspergillus* spp.: when local epidemiology breaks the norm. *J Fungi*. 2019; 5:41-48. DOI: [10.3390/jof5020041](https://doi.org/10.3390/jof5020041)
- Bedin Denardi LB, Hoch Dalla-Lana B, Pantella Kunz de Jesus F, Bittencourt Severo C, Santurio JM, Zanette RA, Alves SH. In vitro antifungal susceptibility of clinical and environmental isolates of *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus flavus* in Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2018; 22:30-36. DOI: [10.1016/j.bjid.2017.10.005](https://doi.org/10.1016/j.bjid.2017.10.005)
- Kahle M, Buerge IJ, Hauser A, Muller MD, Poiger T. Azole fungicides: occurrence and fate in wastewater and surface waters. *Environ Sci Technol*. 2008; 42:7193-7200. DOI: [10.1021/es8009309](https://doi.org/10.1021/es8009309)
- Macedo D, Leonardelli F, Gamarra S, Garcia-Effron G. Emergence of triazole resistance in *Aspergillus* spp. in Latin America. *Curr Fungal Infect Rep*. 2021; 15:93-103. DOI: [10.1007/s12281-021-00418-6](https://doi.org/10.1007/s12281-021-00418-6)
- Ramírez-Muñoz F, Fournier-Leiva ML, Ruepert C, Hidalgo Ardón C. Uso de agroquímicos en el cultivo de papa en Pacayas, Cartago, Costa Rica. *Agron. Mesoam*. 2014; 25:338-345. DOI: [10.15517/am.v25i2.15441](https://doi.org/10.15517/am.v25i2.15441)
- Resendiz Sharpe A, Mercier T, Lestrade PP, van der Beek MT, von dem Borne PA, Cornelissen JJ, Lagrou K. Prevalence of voriconazole-resistant invasive aspergillosis and its impact on mortality in hematology patients. *J Antimicrob Chemother*. 2019; 74:2759-2766. DOI: [10.1093/jac/dkz258](https://doi.org/10.1093/jac/dkz258)
- Arikan S, Lozano-Chiu M, Paetznick V, Nangia S, Rex JH. Microdilution susceptibility testing of amphotericin B, itraconazole, and voriconazole against clinical isolates of *Aspergillus* and *Fusarium* species. *J Clin Microbiol*. 1999; 37:3946-3951. DOI: [10.1128/JCM.37.12.3946-3951.1999](https://doi.org/10.1128/JCM.37.12.3946-3951.1999)
- Ashu EE, Korfanty GA, Samarasinghe H, Pum N, You M, Yamamura D, Xu J. Widespread amphotericin B-resistant strains of *Aspergillus fumigatus* in Hamilton, Canada. *Infect Drug Resist*. 2018; 1549-1555. DOI: [10.2147/IDR.S170952](https://doi.org/10.2147/IDR.S170952)
- Perlin DS, Rautemaa Richardson R, Alastruey Izquierdo A. The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management. *Lancet Infect Dis*. 2017; 17: e383-e392. DOI: [10.1016/S1473-3099\(17\)30316-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30316-X)
- Carolus H, Pierson S, Lagrou K, Van Dijck P. Amphotericin B and other polyenes-discovery, clinical use, mode of action and drug resistance. *J Fungi*. 2020; 6:321- 342. DOI: [10.3390/jof6040321](https://doi.org/10.3390/jof6040321)
- Vahedi Shahandashti R, Dietl AM, Binder U, Nagl M, Würzner R, Lass Flörl C. *Aspergillus terreus* and the interplay with amphotericin B: from resistance to tolerance? *Antimicrob Agents Chemother*. 2022; 66:02274-21. DOI: [10.1128/aac.02274-21](https://doi.org/10.1128/aac.02274-21)
- Jing R, Yang WH, Xiao M, Li Y, Zou GL, Wang CY, Hsueh PR. Species identification and antifungal susceptibility testing of *Aspergillus* strains isolated from patients with otomycosis in northern China. *J Microbiol Immunol Infect*. 2022; 55:282-290. DOI: [10.1016/j.jmii.2021.03.011](https://doi.org/10.1016/j.jmii.2021.03.011)
- Kidd SE, Crawford LC, Halliday CL. Antifungal susceptibility testing and identification. *Infect Dis Clin North Am*. 2021; 35:313-339. DOI: [10.1016/j.idc.2021.03.004](https://doi.org/10.1016/j.idc.2021.03.004)
- Won EJ, Choi MJ, Shin JH, Park YJ, Byun SA, Jung JS, Suh SP. Diversity of clinical isolates of *Aspergillus terreus* in antifungal susceptibilities, genotypes and virulence in *Galleria mellonella* model: comparison between respiratory and ear isolates. *PLoS One*. 2017; 12: e0186086. DOI: [10.1371/journal.pone.0186086](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186086)
- Heo MS, Shin JH, Choi MJ, Park YJ, Lee HS, Koo SH, Ryang DW. Molecular identification and amphotericin B susceptibility testing of clinical isolates of *Aspergillus* from 11 hospitals in Korea. *Ann Lab Med*. 2015; 35:602-606. DOI: [10.3343/alm.2015.35.6.602](https://doi.org/10.3343/alm.2015.35.6.602)
- Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN. Antifungal activities of posaconazole, ravuconazole, and voriconazole compared to those of itraconazole and amphotericin B against 239 clinical isolates of *Aspergillus* spp. and other filamentous fungi: report from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2000. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002; 46:1032-1037. DOI: [10.1128/AAC.46.4.1032-1037.2002](https://doi.org/10.1128/AAC.46.4.1032-1037.2002)