



ANÁLISE DO USO DE ANTIFÚNGICOS NO HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO CLEMENTINO FRAGA FILHO E SEU
IMPACTO NA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA E
EPIDEMIOLOGIA DE ESPÉCIES DE *CANDIDA*

Juliana dos Santos Barbosa Netto

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias).

Orientador: Prof. Dr. Marcio Luiz Moore Nucci

Rio de Janeiro

março/2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Netto, Juliana dos Santos Barbosa

Análise do uso de antifúngicos no Hospital Universitário Clementino Fraga Filho e seu impacto na susceptibilidade antifúngica e epidemiologia de espécies de *Cândida* / Juliana dos Santos Barbosa Netto. – Rio de Janeiro: UFRJ / Faculdade de Medicina, 2006.

xi, 56 f. : il. ; 31 cm.

Orientador: Marcio Luiz Moore Nucci

Dissertação (Mestrado) – UFRJ, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina – Doenças Infecciosas e Parasitárias, 2006.

Referências Bibliográficas: f. 57-67

1. Antifúngicos. 2. *Candida*. 3. Resistência. 4. Epidemiologia. 5. Hospital. 6. Fluconazol. 7. Doenças Infecciosas e Parasitárias – Tese. I. Nucci, Marcio Luiz Moore. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina – Doenças Infecciosas e Parasitárias. III. Título.

ANÁLISE DO USO DE ANTIFÚNGICOS NO HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO CLEMENTINO FRAGA FILHO E SEU IMPACTO NA
SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA E EPIDEMIOLOGIA DE
ESPÉCIES DE *CANDIDA*

Juliana dos Santos Barbosa Netto

Orientador: Prof. Dr. Marcio Luiz Moore Nucci

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias).

Aprovada por:

Presidente, Prof. Dr. Ricardo Pereira Igreja

Prof^a. Dr^a. Simone Aranha Nouér

Prof. Dr. Arnaldo Lopes Colombo

Rio de Janeiro
Março/2006

**Aos meus pais, Gustavo, João e Gabriela com
todo meu amor.**

AGRADECIMENTOS

Ao mestre Márcio Nucci, meu orientador e também exemplo de competência e dedicação acadêmica, que me conduziu e apoiou neste longo caminho até aqui.

À Tiyomi e Glória, pelo suporte para que a parte laboratorial deste projeto fosse realizada. Vocês me ensinaram muito, não há palavras para agradecer por tudo que fizeram por mim. Obrigada pela paciência, carinho e apoio. Vocês vão sempre morar no meu coração.

À Wilma Magalhães Alves, pela ajuda, durante todo o curso e principalmente nos ajustes finais.

À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias HUCFF-UFRJ.

Ao CNPq, pelos recursos e bolsa concedidos.

Aos meus pais, que me ensinaram o amor pelo conhecimento e proporcionaram os meios para que chegasse até aqui. Obrigada pelo amor e apoio, por toda uma vida de dedicação.

Gustavo, meu querido companheiro, por me apoiar nesta jornada de todas as formas imagináveis, sobretudo com muita paciência. Obrigada pelo seu amor e estímulo nos momentos mais difíceis, em que parecia não ser possível chegar ao fim desta caminhada. Acima de tudo, obrigada por ter me dado uma família linda.

João, meu filho, por me mostrar a cada dia como olhar a vida sob uma nova e linda perspectiva. Você é sem dúvida minha maior inspiração.

À minha irmã Gabriela, obrigada pelo apoio e carinho

Jussara, minha sogra e grande exemplo de amor à ciência.

Bárbara, Gabriel, Alessandra e Ayrton, grandes aquisições.

À amiga Mônica Merçon, presença sempre certa nos momentos críticos ao longo de tantos anos.

À amiga Giovana Ianini, pelo apoio e pela presença em momentos importantes.

À amiga Juliana Matos, sempre a postos.

À amiga Isabela Baraúna Cerqueira, pelo constante apoio e compreensão.

Dr. Nelson Mesquita, exemplo de dedicação à medicina e ao paciente, obrigada pelo apoio.

A toda a equipe do SECIH do INTO, pela compreensão e apoio nos momentos finais.

Lucilene Freitas pelo carinho, compreensão e apoio.

Regina Barbosa Moreira, grande amiga, suas palavras foram fundamentais.

Aos meus queridos amigos, de quem me afastei nestes últimos meses, obrigada pela amizade e apoio. Em especial, Teca, Fernanda, Rex, Diana, Wally, Zaira e Isinha obrigada por continuarem a ser tão especiais na minha vida durante todos estes anos.

RESUMO

ANÁLISE DO USO DE ANTIFÚNGICOS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CLEMENTINO FRAGA FILHO E SEU IMPACTO NA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA E EPIDEMIOLOGIA DE ESPÉCIES DE *CANDIDA*

Juliana dos Santos Barbosa Netto

Orientador: Prof. Dr. Marcio Luiz Moore Nucci

Resumo da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias).

Objetivos: Analisar o uso de antifúngicos no HUCFF no período de janeiro de 1998 a dezembro de 2001; avaliar o impacto do uso de antifúngicos na distribuição de espécies de *Candida* isoladas no sangue e na urina; determinar a susceptibilidade dos isolados de *Candida* da urina e do sangue nos anos de 1999 e 2002. **Métodos:** Foram coletados dados das fichas de notificação do uso de antifúngicos utilizadas na instituição; o MIC das amostras analisadas foi determinado através do método de microdiluição em caldo padronizado pelo CLSI, Documento M-27 A2. O programa SPSS (SPSS for Windows Release 11.01.1 – 15 Nov 2001) foi utilizado para a realização da análise estatística. **Resultados:** Antes de 2000, fluconazol foi empregado em 49,4% dos tratamentos, e a partir deste ano este percentual elevou-se para 77,4% ($p=0,0001$). A proporção de *C. albicans* reduziu significativamente no segundo período (54% versus 34%, $p=0,0008$). Todas as amostras foram sensíveis a anfotericina B, e foi encontrada resistência a fluconazol e itraconazol em 3% das amostras.

Palavras-chave: *Candida*; antifúngicos; fluconazol; resistência.

Rio de Janeiro

Fevereiro/2006

ABSTRACT

ANALYSIS OF ANTIFUNGAL USE AT A UNIVERSITY HOSPITAL IN RIO DE JANEIRO AND ITS IMPACT ON ANTIFUNGAL SUSCEPTIBILITY AND SPECIES DISTRIBUTION OF *CANDIDA*.

Juliana dos Santos Barbosa Netto

Orientador: Prof. Dr. Marcio Luiz Moore Nucci

Abstract da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias).

Objective: To analyze the use of antifungal drugs at H.U.C.F.F. from January 1998 to December 2001; to evaluate the impact of the use antifungal drugs on species distribution of *Candida* recovered from blood and urine; and to determine the susceptibility of *Candida* isolates recovered from blood and urine in 1999 and 2002. **Methods:** Data were collected from the antifungal use notification formulary, used at the institution; the MIC of the isolates was determined by the microdilution broth method standardized by CLSI, Document M27-A2. Statistical analyses were made using the SPSS program (SPSS for Windows Release 11.01.1 – 15 Nov 2001). **Results:** Before 2000, fluconazole accounted for 49.4% of all antifungal prescriptions, while from this year on, the frequency increased to 77.4% ($p=0.0001$). The frequency of *C. albicans* decreased significantly in the second period of the study (54% versus 34%, $p=0.008$). All isolates were susceptible to amphotericin B; resistance to fluconazole and itraconazole was observed in 3% of the isolates.

Key-words: *Candida*, antifungal, fluconazole and resistance.

Rio de Janeiro

Março/2006

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	IX
LISTA DE FIGURAS E TABELAS	X
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 Candidíase	4
2.1.1 <i>Etiologia</i>	4
2.1.2 <i>Virulência</i>	5
2.1.3 <i>Patogenia</i>	5
2.1.4 <i>Fatores de Risco</i>	6
2.1.5 <i>Epidemiologia da resistência e das infecções hospitalares por Candida</i>	6
2.1.6 <i>Manifestações clínicas</i>	10
2.1.7 <i>Diagnóstico</i>	12
2.2 Antifúngicos	13
2.2.1 <i>Classes e mecanismos de ação</i>	13
2.2.2 <i>Resistência aos antifúngicos</i>	15
2.2.3 <i>Testes de susceptibilidade antifúngica</i>	15
3 OBJETIVOS	19
4 MATERIAIS E MÉTODOS	20
5 RESULTADOS	30
6 DISCUSSÃO	45
7 CONCLUSÕES	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AF	Antifúngico
ARN	Ácido ribonucléico
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>C. famata</i>	<i>Candida famata</i>
<i>C. glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>
<i>C. guilliermondii</i>	<i>Candida guilliermondii</i>
<i>C. kefyr</i>	<i>Candida kefyr</i>
<i>C. krusei</i>	<i>Candida krusei</i>
<i>C. lusitaniae</i>	<i>Candida lusitaniae</i>
<i>C. parapsilosis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>C. tropicalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<i>C. zeylanoides</i>	<i>Candida zeylanoides</i>
C.T.I.	Centro de terapia intensiva
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CIM	Concentração inibitória mínima
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
DAS	Sabouraud-dextrose-agar
DIP	Doenças Infecciosas e Parasitárias
DMSO	dimetil sulfóxido
H.U.C.F.F.	Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IV	Intravenoso
MOPS	Ácido morfolinopropanossulfônico
NaCl	Cloreto de sódio
NNIS	<i>National Nosocomial Infection Surveillance Program</i>
NR	Não relatado
NS	Não significativa
R	Resistente
SDD	Susceptibilidade dose-dependente
SIDA	Síndrome da imunodeficiência humana
SNC	Sistema nervoso central
TMO	Transplante de medula óssea
Tto	Tratamento
TX hepático	Transplante hepático
TX renal	Transplante renal
U.F.R.J.	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UC	Unidade coronariana
UCC	Unidade de cirurgia cardíaca
USA	Estados Unidos da América
VO	Via oral

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1	Freqüência relativa de diferentes antifúngicos utilizados no HUCFF entre 1998 e 2001	30
Figura 2	Freqüência (%) de uso de antifúngicos por unidade de internação	31
Figura 3	Freqüência (%) de uso de antifúngicos por doença de base	32
Figura 4	Razão do emprego de antifúngicos	33
Figura 5	Adequação do uso de fluconazol <i>versus</i> outros antifúngicos (AF)	35
Figura 6	Adequação do uso de anfotericina B <i>versus</i> outros antifúngicos	35
Figura 7	Adequação (%) do uso de fluconazol por motivo de emprego	36
Figura 8	Freqüência (%) do uso de fluconazol ao longo dos anos do período estudado	36
Tabela 1	Espectro clínico da infecção por <i>Candida</i>	11
Tabela 2	Síndromes clínicas relacionadas às espécies de <i>Candida</i>	12
Tabela 3	Valores de CIM da ATCC 22019 aceitos como válidos para as três drogas testadas:	28
Tabela 4	Definição da susceptibilidade antifúngica das espécies de <i>Candida</i> pelo CIM	28
Tabela 5	Adequação do uso de antifúngicos para as patologias mais freqüentes.	34
Tabela 6	Distribuição de espécies de <i>Candida</i> em 210 isolados da urina nos anos de 1999 e 2002	37
Tabela 7	Distribuição de espécies dos isolados em urina em 1999 e 2002	38
Tabela 8	Distribuição de espécies dos isolados de sangue nos anos de 1999 e 2002	39
Tabela 9	Susceptibilidade antifúngica de 210 isolados de <i>Candida</i> de urina	41

Tabela 10	Valores de CIM para isolados de <i>C. albicans</i> e não- <i>albicans</i> nos anos de 1999 e 2002, incluídos isolados de sangue e urina.	42
Tabela 11	Susceptibilidade antifúngica de 39 isolados de <i>Candida</i> do sangue	44

1 INTRODUÇÃO

As candidemias representam uma significativa causa de morbidade e mortalidade entre pacientes críticos. Nas duas últimas décadas, as espécies de *Candida* emergiram como importante patógeno humano, e encontram-se entre as cinco causas mais freqüentes de infecções nosocomiais de corrente sanguínea [1-4]. Entre 1980 e 1990, o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) documentou um aumento de 90% na incidência de infecções fúngicas nosocomiais em hospitais participantes do *National Nosocomial Infection Surveillance Program* (NNIS). Destas infecções fúngicas, 80% eram causadas por espécies de *Candida* [1]. As infecções fúngicas invasivas são uma consequência dos avanços terapêuticos da medicina. As infecções fúngicas graves eram pouco comuns antes da introdução de quimioterápicos citotóxicos para o tratamento de neoplasias hematológicas. O tratamento de pacientes graves, incluindo os portadores de neoplasias, resultou na adoção de medidas terapêuticas muitas vezes heróicas, colocando os pacientes em risco para infecções por organismos que em outra situação seriam apenas comensais. Foi neste contexto que as infecções por *Candida* emergiram como importante patógeno causador de infecções hospitalares, sendo de particular importância as candidemias, responsáveis por aumento no tempo de internação, e que têm um impacto substancial para os pacientes, com mortalidade atribuída chegando a 60% [5-7]. Tais desafios indicam a necessidade de se aprimorar os métodos diagnósticos e terapêuticos para estas infecções [8].

Junto com o aumento na freqüência de infecções por *Candida*, também foi descrita uma mudança na epidemiologia de espécies causadoras destas infecções,

com aumento da importância das espécies não *albicans*, algumas destas naturalmente menos sensíveis aos azólicos antifúngicos [7]. Isto pode, ao menos em parte, ser atribuído ao uso de fluconazol, que pode levar ao aparecimento de cepas resistentes [5].

Numerosos estudos de vigilância de infecções por *Candida* foram conduzidos em diferentes países, avaliando a epidemiologia de espécies e o perfil de susceptibilidade dos isolados [9-12]. Estudos realizados em nosso território mostraram que as candidemias em hospitais brasileiros são causadas predominantemente por espécies não-*albicans*, porém a grande maioria dos isolados era sensível ao fluconazol [13-16]. Entretanto, uma característica marcante destes estudos foi a baixa utilização de fluconazol nestes hospitais. Com a maior oferta de fluconazol em hospitais públicos, é possível que haja mudanças na epidemiologia e nos padrões de susceptibilidade aos antifúngicos. Assim, é necessário que sejam conduzidos estudos regionais, a fim de detectar o impacto do aumento do emprego de fluconazol na epidemiologia de espécies e susceptibilidade antifúngica em nossos hospitais, bem como orientar a terapia antifúngica.

O Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (H.U.C.F.F.), enquanto hospital terciário de referência para o tratamento de diversas patologias graves, com grande número de pacientes imunocomprometidos, está sujeito à emergência de cepas de *Candida* resistentes ao fluconazol, pois este agente tem sido empregado em escala cada vez maior, tanto para fins profiláticos como terapêuticos. Considerando a alta mortalidade associada às candidemias, é extremamente importante que se instituem medidas terapêuticas adequadas, tanto no que diz respeito à droga escolhida, quanto à sua dose e tempo de tratamento. Para isto, faz-se necessário o conhecimento da epidemiologia específica de cada hospital, a fim

de orientar a terapêutica e detectar a necessidade de implementação de políticas de controle de uso de antifúngicos, como já foi efetivado em outros centros [6].

Vimos, em resultados de estudo preliminar realizado em outubro de 2001, que houve um aumento importante no uso de fluconazol no H.U.C.F.F.[17, 18], justificando-se então, a vigilância da susceptibilidade antifúngica dos isolados de *Candida* da instituição. O presente estudo analisou a epidemiologia de espécies de *Candida* isoladas do sangue e da urina, a fim de verificar se houve aumento na freqüência de cepas resistentes em decorrência do aumento do uso de fluconazol na instituição.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Candidíase

2.1.1 Etiologia

Candida é um fungo com um modo de desenvolvimento predominantemente unicelular, sendo assim classificada como levedura. As formas de hifas e pseudohifas também podem ser observadas ao exame microscópico de espécimes clínicos. [7]. É um habitante normal da microbiota da pele, trato gastrointestinal e genital, podendo também ser encontrada no trato respiratório humano. Também pode ser isolada no meio ambiente [19]. *Candida albicans* é a espécie mais significativa em seres humanos. O gênero *Candida* compreende cerca de 200 diferentes espécies, sendo apenas 10% reconhecidas como causa de infecção humana. Dentre estas destacam-se *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii*, *Candida lusitanae* e *Candida krusei* [20]. O número de novas espécies relacionadas a diferentes síndromes clínicas vem aumentando progressivamente, sendo consequência de diferentes procedimentos médicos invasivos bem como da depressão do *status* imunológico dos pacientes atendidos nos hospitais terciários, o que torna possível a infecção por microorganismos de baixa patogenicidade como a *C. krusei*. A pressão seletiva do uso de azólicos para fins profiláticos e terapêuticos também é uma hipótese considerada, mas não totalmente aceita, uma vez que alguns estudos não conseguiram provar esta relação [7, 21].

2.1.2 Virulência

Candida possui a habilidade de produzir fatores de virulência que aumentam sua capacidade de colonizar mucosas e superfícies inanimadas, bem como invadir tecidos do hospedeiro. Proteinases e fosfolipases espécie-específicas compõem a maioria das proteínas secretoras, agindo como fatores de virulência [22]. Já a habilidade das espécies de *Candida* de alternar entre diferentes formas fenotípicas em resposta a condições ambientais, pode estar relacionada à resistência a azólicos [23].

2.1.3 Patogenia

A origem da candidíase invasiva tem sido objeto de controvérsia. Como a colonização em geral precede a infecção, as fontes potenciais são o trato gastrointestinal, pele, trato urinário e árvore brônquica de pacientes críticos. No entanto, embora *Candida* seja freqüentemente isolada do trato respiratório e trato urinário deste tipo de paciente, não há dados que sugiram que estas sejam portas de entrada para infecção invasiva por *Candida*. Quanto à pele, Nucci e Anaisse, em revisão sistemática da literatura, mostraram que as evidências para a origem cutânea da candidemia são bastante escassas e incompletas. Por outro lado, vários estudos clínicos e experimentais mostram que a principal origem da candidíase invasiva é o trato gastrointestinal, que é colonizado por *Candida* em até 70% da população geral. No ambiente hospitalar, no entanto, a infecção por *Candida* também pode ser transmitida pelas mãos dos profissionais de saúde [24, 25].

2.1.4 Fatores de Risco

Fatores de risco para candidemia incluem o uso de antimicrobianos sistêmicos, hiperglicemia, colonização por *Candida* em diferentes sítios, colonização por espécies não *albicans*, nutrição parenteral total, quimioterapia, radioterapia, cirurgia, doença do enxerto *versus* hospedeiro aguda, neutropenia, uso de cateteres venosos centrais, uremia, hemodiálise [1, 19, 20, 26-28]. Esses fatores são mais prevalentes em hospitais terciários, especialmente em pacientes internados em Centros de Tratamento Intensivo (C.T.I.), o que explica porque a prevalência de candidemia é maior nestas unidades do que na população geral do hospital [8].

2.1.5 Epidemiologia da resistência e das infecções hospitalares por *Candida*

Paralelamente ao aumento da incidência de candidemias, houve um aumento na importância das espécies não-*albicans* na sua etiologia. Essa mudança de padrão pode ser em parte atribuída ao aumento no uso terapêutico e profilático de antifúngicos (AF) [29]. A profilaxia antifúngica com fluconazol tornou-se rotineira não só para os pacientes submetidos a transplantes de medula óssea, como para aqueles receptores de transplante de órgãos sólidos. Estudos com pacientes neutropênicos mostraram uma redução global na frequência de infecções fúngicas em pacientes tratados profilaticamente com azólicos. Essa redução foi documentada primeiramente com infecções causadas por *C. albicans* e *C. tropicalis*; no entanto, foi relatado um aumento na frequência de infecções causadas por *C. krusei* e *C. glabrata*, menos susceptíveis aos azólicos [30-41]. Estudo conduzido no Canadá, que avaliou o impacto da profilaxia com fluconazol na colonização e incidência de

infecções em pacientes neutropênicos, mostrou uma redução na colonização por *C. albicans*, acompanhado de um aumento na frequência de colonização por *C. glabrata* e *C. krusei* [11].

Profilaxia com azólicos tem sido empregada em receptores de transplante de órgãos sólidos [42], embora seu benefício seja menos claro do que nos transplantes de medula óssea (TMO) ou em pacientes com neutropenia. A profilaxia antifúngica é usualmente administrada a pacientes receptores de transplante hepático e pancreático, nos quais as infecções por *Candida* são responsáveis por até 30% das infecções graves. Fortún e colaboradores documentaram os casos de quatro receptores de transplante hepático que desenvolveram candidíase invasiva por *C. glabrata* resistente a azólicos (itraconazol e fluconazol). Três destes pacientes estavam recebendo azólicos (dois recebiam itraconazol e um fluconazol) quando a infecção foi diagnosticada. Todos os quatro pacientes receberam fluconazol profilático durante as três primeiras semanas pós transplante [43].

A candidíase mucosa, incluindo as formas orofaríngea, esofágica e vaginal, é a doença oportunista mais freqüente entre pacientes com SIDA. A classe dos azólicos é a mais freqüentemente empregada para o tratamento destas afecções. Apesar da sua efetividade clínica e farmacológica, a persistência e a recorrência da candidíase oral e esofágica é comumente observada, e a candidíase oral não responsiva a fluconazol já foram relatadas, tanto em pacientes soropositivos para o vírus da imunodeficiência humana (HIV), quanto em outros pacientes imunossuprimidos. O extenso uso de fluconazol pode levar à colonização por espécies menos susceptíveis e resistentes, como foi mostrado em um grande estudo multicêntrico realizado pelo *HIV Epidemiology Study Group* entre 1993 e 1995 [44]. Num estudo caso-controle realizado por Tumbarello e colaboradores [45], o uso

prévio de azólicos foi o único fator independentemente associado ao isolamento de cepas resistentes em pacientes com SIDA e candidíase oral. O risco de desenvolvimento de candidíase por *C. albicans* com susceptibilidade diminuída ao fluconazol foi associado à exposição cumulativa prévia mais prolongada à droga [46-48]. Em estudo em uma cidade americana com elevada prevalência de histoplasmose, 295 pacientes soropositivos para HIV com $CD4 \leq 150$ células/mm³ foram randomizados para receber profilaxia com itraconazol ou placebo. Foi determinada a susceptibilidade antifúngica dos isolados de *Candida* coletados dos pacientes que desenvolveram candidíase mucosa durante o estudo. Uma proporção menor dos isolados oriundos dos pacientes que receberam itraconazol foi considerada sensível a esta droga (63%) comparado ao grupo placebo (96%). Em relação à susceptibilidade ao fluconazol, também houve redução na susceptibilidade à droga no grupo em profilaxia (78%) comparado ao grupo placebo (96%), sugerindo a ocorrência de resistência cruzada entre os azólicos [49]. Estudo brasileiro que avaliou a microbiota oral de 114 pacientes soropositivos para HIV durante dois anos consecutivos (1997-1999), mostrou a emergência das espécies não-*albicans* como componentes da microbiota de cavidade oral [50]. Estes resultados se contrapõem com o resultado apresentado em outro estudo brasileiro, multicêntrico, envolvendo isolados de cavidade oral de 130 pacientes com SIDA, recrutados de seis hospitais universitários brasileiros entre 1998 e 2000, que mostrou ainda ser a *C. albicans* a espécie mais freqüentemente isolada (91% dos isolados), sensível a todos os antifúngicos na maioria dos casos [51].

Em C.T.I.s de grandes hospitais gerais, com pacientes com graves doenças de base e diversos dispositivos invasivos, é freqüente a ocorrência de candidemias, e o uso de fluconazol como agente terapêutico e empírico tem sido cada vez mais

empregado. Em pacientes imunodeprimidos, fluconazol é freqüentemente usado em profilaxia. Nestas unidades, também já foi constatada a emergência de cepas com susceptibilidade diminuída aos azólicos [52]. Dados do NNIS, de 1989 a 1999, mostram que nas C.T.I.s americanos houve uma redução significativa nas infecções de corrente sanguínea por *C. albicans* ($p=0,001$), acompanhada, entretanto, do aumento na participação de *C. glabrata* nestas infecções ($p=0,05$) [53].

Alguns estudos, no entanto, não mostraram mudanças no perfil de susceptibilidade antifúngica ou da epidemiologia de espécies de *Candida* [54-58]. Karlowski e colaboradores, em revisão das candidemias ocorridas em um hospital terciário canadense durante um período de 21 anos, de 1976 a 1996, demonstraram que *C. albicans* permaneceu a espécie mais prevalente, e não detectaram a emergência de resistência a fluconazol na instituição [57]. Um estudo retrospectivo analisando as candidemias em um hospital terciário em Genebra, também mostrou que *C. albicans* se mantinha como a espécie mais freqüentemente isolada, apesar do significativo aumento no uso de fluconazol [58]. Um grande estudo, incluindo 46.831 leveduras oriundas de 57 laboratórios em 33 países, com isolados coletados de diversos sítios corporais e sem representar nenhuma população clínica em particular, mostrou a manutenção do predomínio de *C. albicans*, e não mostrou tendência a emergência de resistência, uma vez que 96% do total de isolados manteve-se susceptível a fluconazol [56].

Há uma crescente preocupação em relação ao aumento na prevalência de *C. glabrata* e *C. tropicalis* com susceptibilidade reduzida ao fluconazol, infecções por *C. krusei*, que apresenta resistência intrínseca a este azólico, bem como o aparecimento de resistência entre cepas de *C. albicans* e de outras espécies normalmente susceptíveis à droga [59-62]. É importante ressaltar o caráter

oportunista da *C. krusei*, que tem virulência baixa [63-66]. Por estas fracas propriedades de virulência, é notável, embora não surpreendente, que a maioria das infecções por *C. krusei* sejam tratadas com sucesso com o uso de anfotericina B. O prognóstico, no entanto, é ruim quando se trata de fungemias por *C. albicans* e *C. tropicalis* tratadas com o mesmo agente [67].

2.1.6 Manifestações clínicas

O espectro de doenças relacionadas à *Candida* é amplo, podendo a mesma ser responsável por onicomicoses, infecções cutâneas, infecções mucocutâneas (candidíase oral, esofágica, vaginite e balanopostite), infecção urinária, peritonite, candidemia (podendo estar relacionada a infecções disseminadas com formas hepatoesplênicas, infecções hematogênicas como osteomielite, artrite, meningite, endocardite) [68]. A tabela 1 sumariza as manifestações clínicas da infecção por *Candida*, e a tabela 2 as síndromes clínicas mais frequentemente relacionadas às espécies de maior importância médica.

Tabela 1 Espectro clínico da infecção por *Candida**

Infecções Hematogênicas	Infecções não hematogênicas
Candidemia	<i>Infecções superficiais</i>
Endoftalmite	Candidíase cutânea
Infecção relacionada a acesso vascular	Candidíase orofaríngea
Tromboflebite séptica	Vaginite
Endocardite infecciosa	Balanopostite
Artrite	<i>Infecções profundas</i>
Osteomielite	Candidíase esofágica
Espondilodiscite	Cistite
Meningite	Pielonefrite
Pielonefrite	Peritonite
Candidíase pulmonar	Traqueíte
Candidíase hepatoesplênica	Bronquite

*Adaptado de Eggimann e colaboradores [19]

Tabela 2 Síndromes clínicas relacionadas às espécies de *Candida**

Espécie	Manifestações clínicas
<i>C. albicans</i>	Infecções mucocutâneas: orofaríngea, esofágica, vaginite. Infecções invasivas profundas: peritonite, pielonefrite. Infecções hematogênicas: candidemia, meningite, hepatoesplênica
<i>C. parapsilosis</i>	Candidemia, infecções relacionadas a dispositivos invasivos, infecções relacionadas a soluções contaminadas Responsável pela maioria das candidemias em neonatos
<i>C. tropicalis</i>	Candidemia e candidíase sistêmica nos pacientes imunodeprimidos
<i>C. glabrata</i>	Candidemia, candidíase sistêmica
<i>C. krusei</i>	Candidemia, endoftalmite, diarreia em neonatos
<i>C. guilliermondii</i>	Candidíase sistêmica Endocardite em usuários de drogas endovenosas
<i>C. lusitanae</i>	Candidemia e infecções disseminadas

* Adaptado de Eggimann e colaboradores[19]

2.1.7 Diagnóstico

O diagnóstico das infecções por *Candida* é realizado através do isolamento do fungo em culturas de material biológico. No entanto, culturas não oriundas de sangue ou sítios corporais normalmente estéreis são inespecíficas, e podem tornar-se positivas apenas em estágios tardios da infecção. Sorologias e testes moleculares ainda não estão disponíveis na prática clínica [19].

2.2 Antifúngicos

2.2.1 Classes e mecanismos de ação

Segue-se resumo das principais classes de antifúngicos e seus mecanismos de ação [69, 70]

◆ Poliênicos

São eles a anfotericina B em desoxicolato, em lipossoma, em dispersão coloidal, em complexo lipídico; nistatina, natamicina. São ativos contra fungos, protozoários e algas, não demonstrando qualquer ação antibacteriana. Ligam-se a membranas citoplasmáticas que contêm esteróis, provocando sua desorganização funcional. Por este motivo não são ativos contra populações bacterianas, desprovidas de tal substância em suas membranas. Nos fungos ligam-se sobretudo ao ergosterol, alterando a propriedade seletiva desta membrana, permitindo a saída de água e íons fundamentais à sobrevivência destes microorganismos. Ocorre então deterioração metabólica e morte da célula.

◆ Azólicos

Fazem parte desta classe clotrimazol, miconazol, econazol, isoconazol, tioconazol, oxiconazol, cetoconazol, itraconazol, fluconazol, voriconazol, ravuconazol e posaconazol, dentre outros. Alteram a permeabilidade da membrana citoplasmática de fungos sensíveis, que passam a perder cátions, proteínas e outros elementos vitais, ocorrendo por fim o rompimento da sua membrana. Esta atividade

decorre da interferência na síntese de esteróis da membrana, inibindo a formação do ergosterol a partir do seu precursor lanosterol. Causam o acúmulo de esteróis aberrantes e tóxicos na membrana celular. Isto é resultado da ação inibitória sobre o citocromo P450, responsável pela síntese e degradação dos ácidos graxos e esteróis endógenos nas células.

◆ Análogos de nucleosídeos:

Faz parte desta classe a 5-flucitosina. O mecanismo de ação relaciona-se ao metabolismo dos ácidos nucléicos e proteínas. Após a absorção pelo fungo, a droga é transformada em 5-fluorouracil, que por ação enzimática é fosforilado e incorporado ao ácido ribonucléico (ARN). O ARN defeituoso assim formado fica impedido de participar da síntese protéica normal que é, então, bloqueada, provocando ação fungistática da droga. Interfere também na síntese do ácido desoxiribonucléico.

◆ Alilaminas

Fazem parte desta classe a terbinafina e naftifina. Inibem a síntese do ergosterol da membrana plasmática dos fungos sensíveis e provocam acúmulo do esqualeno (precursor do lanosterol) no interior da célula.

◆ Antimitóticos:

Griseofulvina. Inibe a mitose na metáfase através da atuação no sistema de microtúbulos do fuso mitótico. Também lesa o sistema de microtúbulos de transporte do citoplasma para a periferia da célula, com isto impedindo a transferência de material constituinte da formação das hifas em crescimento.

◆ Morfolinas:

Amorolfina. Inibe a síntese do ergosterol.

◆ Equinocandinas:

Caspofungina, micafungina e anidulafungina. Inibem a síntese da glucana da parede celular dos fungos sensíveis.

2.2.2 Resistência aos antifúngicos

Vários mecanismos de resistência a *Candida* foram identificados. Estes incluem alterações na parede celular ou na membrana plasmática, levando a diminuição da captação de antifúngicos; bombas de efluxo, que retiram as drogas do meio intracelular; superexpressão de alvos dos antifúngicos; mutações nos alvos dos antifúngicos, diminuindo sua capacidade de ligação aos mesmos; ativação de vias alternativas, que aumentam o metabolismo dos antifúngicos; seqüestro da droga em vacúolos; e alterações cromossômicas que aumentam o número de cópias do gene necessário para o desenvolvimento de resistência. Alterações estruturais no esterol da parede celular são associadas com a habilidade de algumas cepas a serem resistentes aos poliênicos [19].

2.2.3 Testes de susceptibilidade antifúngica

Até a década de 1980, os testes de susceptibilidade antifúngica não tinham sido padronizados, e eram raramente realizados, tanto pela pouca freqüência de infecções fúngicas profundas, como pela existência de limitado número de quimioterápicos antifúngicos disponíveis para o uso clínico. Nos anos 80, com o aumento no número de pacientes imunossuprimidos, houve aumento significativo

nas infecções fúngicas sistêmicas e oportunistas. Houve então um grande investimento em novos agentes terapêuticos, e o crescimento do arsenal disponível para o tratamento destas infecções [70].

O aumento na frequência de infecções fúngicas graves, a disponibilidade de novas drogas antifúngicas, e a emergência de cepas resistentes a estas drogas, tornaram necessário o desenvolvimento de testes de susceptibilidade antifúngica que fossem padronizados e reprodutíveis. O *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) padronizou inicialmente o método de macrodiluição e, posteriormente, a microdiluição, para a determinação de susceptibilidade antifúngica de *Candida* sp. No entanto, estes testes são lentos e muito laboriosos, o que limita seu emprego na prática cotidiana. Por estes motivos, muitos laboratórios preferem utilizar testes comerciais, apesar da baixa reprodutibilidade [19].

Além de ser trabalhoso, o método de microdiluição padronizado pelo CLSI tem ainda outras limitações. Uma delas é que a seleção de variáveis como a duração da incubação e o percentual de inibição para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) para azólicos ainda é questionada [71]. Por muito tempo foi considerado que um período de incubação de 24 horas levaria a uma subestimação da CIM para os azólicos. No entanto, a correlação *in vitro* - *in vivo* mostrou haver uma superestimação da CIM com a incubação de 48 horas [72-75]. Também foi sugerido que uma redução no crescimento de 50% ao invés de 80%, poderia acarretar em melhor correlação dos resultados *in vitro* com a evolução clínica [74]. Um fenômeno que constitui um obstáculo à interpretação dos resultados da macrodiluição e também da microdiluição é o fenômeno de *trailing*, que é mais comumente observado com os azólicos, e é caracterizado por inibição incompleta do crescimento [73]. É considerado severo quando há inibição completa ou parcial do

crescimento com incubação de 24 horas, e inibição parcial com 48 horas, com CIM elevada. Ostrosky-Zeichner e cols, em estudo que avaliou a susceptibilidade antifúngica de 2000 isolados de *Candida*, definiram arbitrariamente a ocorrência de *trailing* como um aumento de oito vezes na CIM entre 24 e 48 horas [76]. O fenômeno parece ser artefato do método, podendo não se correlacionar com a evolução clínica. Isto se aplica particularmente à *C. tropicalis*, que apresenta *trailing* com elevada frequência e, no entanto, parece ser uma espécie bastante sensível aos azólicos. Em contraste, *C. glabrata* e *C. krusei* também apresentam *trailing*, mas são sabidamente menos sensíveis a esta classe de antiúngicos. A verdadeira natureza e o mecanismo de ocorrência deste fenômeno ainda estão em investigação.

Outros métodos disponíveis são o Etest e a difusão em disco. O método clássico de difusão em disco utiliza concentração única da droga a ser avaliada, não permitindo a determinação da CIM. Os métodos de difusão em agar apresentam baixa reprodutibilidade e limitação do poder preditivo positivo na identificação de cepas resistentes a fluconazol. Deste modo, na ausência de definição quanto à padronização, ainda não é desejável sua utilização em laboratórios de rotina. O Etest (AB Biodisk, Solna, Suécia) consiste em uma fita plástica contendo drogas em diferentes concentrações expressas no verso da tira. Uma vez colocada em meio sólido, a droga difunde-se para ele. A difusão a partir da fita para o agar causa inibição do microorganismo em caso de susceptibilidade à droga, causando halo de inibição de crescimento. O Etest reúne a vantagem da simplicidade do método e as informações quantitativas fornecidas pelos métodos de diluição [29]. Colombo e colaboradores, em estudo com 100 leveduras, mostraram equivalência entre o Etest e a macrodiluição de 71, 84 e 80% para cetoconazol, itraconazol e fluconazol,

respectivamente [77]. Segundo estudo de Espinel-Ingroff, o teste ainda merece modificações para melhorar seu desempenho [78].

A microdiluição em caldo, realizada segundo os parâmetros do CLSI, por ser mais prática, é o teste de maior aceitação internacional como alternativa à macrodiluição. [70]

3 OBJETIVOS

Analisar o uso de antifúngicos no HUCFF no período de janeiro de 1998 a dezembro de 2001, levando em consideração a razão do emprego (se profilático, para tratamento direcionado ou empírico) e sua adequação em relação à dose, tempo de tratamento e indicação.

Avaliar o impacto do uso de antifúngicos na distribuição de espécies de *Candida* isoladas em sangue e urina, analisando se houve mudanças no perfil epidemiológico das espécies de *Candida* isoladas no H.U.C.F.F.

Determinar a susceptibilidade dos isolados de *Candida* de urina e sangue nos anos de 1999 e 2002, avaliando se houve alteração no seu perfil de susceptibilidade.

Verificar se houve desenvolvimento de resistência ao fluconazol.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi realizado no Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (H.U.C.F.F.), da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Trata-se de um hospital federal, público, terciário, e de ensino, com aproximadamente 450 leitos ativados, distribuídos em unidades de clínica médica, cirurgia, e especialidades como hematologia e transplante de medula óssea, nefrologia e transplante renal, e doenças do tórax. Conta ainda com 33 leitos de cuidados intensivos. O hospital é referência no Estado do Rio de Janeiro para transplante de órgãos sólidos e transplante de medula óssea (T.M.O.). Conta ainda com um setor de hemodiálise e uma emergência voltada para o atendimento de pacientes matriculados no hospital. O hospital não possui setores de obstetrícia, pediatria ou berçário.

Este é um estudo retrospectivo composto de duas partes: análise de uso de antifúngicos no HUCFF, e posterior avaliação do seu impacto na distribuição de espécies e perfis de susceptibilidade de isolados de *Candida* obtidos de pacientes do hospital. Os dados para análise do uso de antifúngicos foram obtidos através de fichas de notificação de uso de antifúngicos, utilizadas rotineiramente no HUCFF. No presente estudo foram avaliadas todas as fichas preenchidas no período de janeiro de 1998 a dezembro de 2001. As informações foram armazenadas em um banco de dados do programa Epi Info (Centers for Disease Control and Prevention, USA, version DC, version 6.04d – January 2001). Os seguintes dados foram avaliados: doença de base, unidade de internação, e razão para o emprego do antifúngico. Na análise da razão para o emprego do antifúngico, foram definidas: profilaxia, como uso de AF para prevenção de infecções fúngicas em pacientes imunodeprimidos, ou

quando o AF foi empregado para prevenção de recidivas após doença fúngica tratada; terapia empírica, quando o AF foi utilizado baseado em suspeita clínica antes da confirmação do diagnóstico; tratamento direcionado, quando usado para tratamento de infecção fúngica com diagnóstico estabelecido; ou ignorado, quando o motivo do emprego não foi informado.

A adequação do tratamento antifúngico foi julgada utilizando-se os critérios empregados nos guias de terapia antifúngica da “*Infectious Diseases Society of América*”, publicados no ano de 2000 [79, 80]. Foram considerados adequados os tratamentos que seguiam as seguintes recomendações:

- Candidíase oral: nistatina suspensão oral, por 7 a 14 dias ou fluconazol 100 mg/dia por 7 a 14 dias, ou cetoconazol 200 a 400 mg/dia por 7 a 14 dias;
- Candidíase esofágica: fluconazol 200 mg no primeiro dia e 100 mg nos dias subsequentes, por 14 a 21 dias; anfotericina B na dose de 0,3 a 0,7 mg/kg/dia foi considerada para os casos refratários ao tratamento com azólicos.
- Candidíase cutânea: terapia com agentes tópicos (nistatina, miconazol, clotrimazol) por 7 a 14 dias, ou cetoconazol 400 mg/dia por via oral por 14 dias;
- Candidíase vaginal: fluconazol 150 mg por via oral em dose única ou itraconazol 200 mg por via oral a cada 12 horas por 1 dia ou 200 mg/dia por 3 dias ou cetoconazol 500 mg por via oral a cada 12 horas por 5 dias. O uso de azólicos tópicos também foi considerado adequado;

- Candidemia: anfotericina B 0,6 a 1,0 mg/kg/dia IV ou fluconazol 400 a 800 mg/dia IV ou VO para adultos não neutropênicos. Para adultos neutropênicos as opções consideradas adequadas foram anfotericina B 0,7 a 1,0 mg/kg/dia IV ou fluconazol 6 a 12 mg/kg/dia (400 a 800 mg) IV ou VO. O tempo de tratamento foi considerado adequado quando um antifúngico foi usado por pelo menos 14 dias após a última cultura positiva, desde que os sinais e sintomas clínicos tivessem desaparecido;
- Candidúria: fluconazol 200 mg/dia por 7 a 14 dias ou anfotericina B 0,3 a 1,0 mg/kg/dia IV por 1 a 7 dias;
- Peritonite: fluconazol 200 mg/dia IV ou VO ou anfotericina B IV (doses semelhantes às de candidemia);
- Criptococose:
 - a) Pacientes soronegativos para HIV:

Forma pulmonar, sintomatologia leve a moderada ou cultura positiva de material pulmonar - fluconazol 200 a 400 mg/dia IV ou VO por 6 a 12 meses ou itraconazol 200 a 400 mg/dia VO por 6 a 12 meses ou anfotericina B 0,5 a 1,0 mg/kg/dia;

Sintomatologia grave ou pacientes imunodeprimidos – tratamento igual à doença no sistema nervoso central (SNC);

SNC - anfotericina B 0,7 a 1,0 mg/kg/dia por 6 a 10 semanas ou formulação lipídica de anfotericina B 3 a 6 mg/kg/dia por 6 a 10 semanas. Indução com anfotericina B por 2 semanas, seguida de fluconazol 400 mg VO ou IV por um mínimo de 10 semanas;

b) Pacientes soropositivos para HIV:

Forma pulmonar, sintomatologia leve a moderada - fluconazol 200 a 400 mg/kg/dia, indefinidamente;

Meningite criptocócica ou criptococemia - anfotericina B 0,7 a 1,0 mg/kg/dia por 6 a 10 semanas ou fluconazol 400 a 800 mg/dia por 10 a 12 semanas ou formulação lipídica de anfotericina B 3 a 6 mg/kg/dia por 6 a 10 semanas. Anfotericina B 0,7 a 1,0 mg/kg/dia por 2 semanas ou até a estabilização clínica, seguida de fluconazol 400 mg/dia até um total de 10 semanas de tratamento.

A avaliação da distribuição de espécies de *Candida* sp. isoladas de pacientes do HUCFF foi feita através da consulta aos registros do Laboratório de Micologia do hospital e à micoteca do laboratório. Foram considerados apenas os isolados do sangue e da urina. Foram selecionados todos os isolados de *Candida* sp. obtidos do sangue e todos os isolados da urina dos anos de 1999 e 2002. A seguir são descritos os métodos para identificação das espécies e determinação da susceptibilidade aos antifúngicos.

a) Identificação de espécies:

Das amostras clínicas de urina eram semeados 100µL em tubos agar inclinado. Das amostras clínicas de sangue, 0.5 a 1.0 mL eram semeados em tubos de agar inclinado.

Caso houvesse crescimento de leveduras, estas eram submetidas a exame direto por microscopia óptica e à prova do tubo germinativo. As amostras positivas na prova do tubo germinativo eram consideradas sugestivas de *C. albicans*.

Em seguida era feito um sub-cultivo de 5 destas colônias em placas de CHROMagar *Candida* (CHROMagar, Paris, France), fazendo-se estrias para obter colônias puras. O CHROMagar é um meio de cultura utilizado para o isolamento seletivo de *Candida* sp., através da diferenciação das colônias por cores, além de oferecer a pré-identificação das espécies:

Candida albicans: verde

Candida tropicalis: azul

Candida krusei: rosa frisada

Outras espécies de *Candida* variam do branco ao rosa.

Após crescimento no CHROMagar eram pinçadas 5 colônias de mesmo aspecto e cor e sub-cultivadas em Sabouraud-dextrose-ágar (SDA) inclinado. Após 24 a 48 horas, era realizado o auxonograma/zimograma para a identificação final das espécies.

b) Teste de susceptibilidade:

Foi determinada a susceptibilidade a anfotericina B, fluconazol e itraconazol dos isolados de *Candida* sp. O método utilizado foi o dilucional, de acordo com as determinações do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), documento M27-A2 [81].

a. Preparo e diluição das Drogas Antifúngicas

▪ Preparação da solução estoque

Para a droga solúvel em água (fluconazol, *Pfizer Incorporated, New York, N.Y., EUA*): foi preparada a solução estoque a uma concentração molar de 1280 µg/mL. O diluente utilizado foi água destilada esterilizada.

Para as drogas insolúveis em água (anfotericina B, *Sigma Chemical Corporation, St Louis, M.O., EUA*, e itraconazol, *Janssen Pharmaceutical, Titusville, N.J., EUA*): foi preparada uma solução estoque a uma concentração de 1600 µg/mL. O diluente utilizado foi o Dimetil Sulfóxido (DMSO).

- Foram preparadas as diluições das drogas em tubos de 5 mL.
- Cada concentração de droga foi diluída em meio RPMI 1640 (*Angus Buffers & Biochemicals, Niagara Falls, N.Y., EUA.*), com L-glutamina, sem bicarbonato de sódio e tamponado com ácido morfolinopropanossulfônico (MOPS) 0,165 M, pH 7,0. Este meio foi diluído em água destilada esterilizada nas concentrações de 46,5 g/L e esterilizado por filtração em filtro biológico (*Cornig Incorporated Costar, Cornig, N.Y., EUA*).

Para o fluconazol: colocados 4 mL de RPMI em cada tubo com a diluição preparada anteriormente.

Para o itraconazol e anfotericina B: retirados 100 µL de cada um dos tubos com as diluições das drogas preparadas anteriormente, e adicionados 4,9 mL de RPMI.

- Identificadas as placas de microtitulação (ELISA), de fundo chato e com 96 poços.
- Foram distribuídos 100 µL de cada diluição das drogas em cada um dos poços das placas de microdiluição, começando

da de menor concentração para a de maior concentração (poço 11 ao poço 2).

- Foram dispensados 100 µL de meio RPMI com 2% de DMSO no poço 12 que serviu como controle de crescimento.
- Foram dispensados 200 µL de RPMI no poço 1, que serviu como controle de esterilidade.

Ao inocular as concentrações de antifúngicos, utilizamos uma diluição de $\frac{1}{2}$. A concentração final dos antifúngicos foi de 64 µL/mL a 0,125 µL para o fluconazol e de 16 µL/mL a 0,03 µL/mL para o itraconazol e anfotericina B.

b. Preparação do inóculo

- Todas as leveduras foram descongeladas e inoculadas em um meio de Sabouraud líquido e incubadas por 48 horas a 35° C; em seguida foi feito sub-cultivo em placas de SDA por mais 48 horas; foi feito novo sub-cultivo em tubos de SDA inclinado por 48 horas para certificar a pureza e viabilidade da cultura e, por último um outro sub-cultivo em tubos inclinados por 24 horas, quando então estavam prontas para serem testadas.
- O inóculo foi preparado tomando-se 5 colônias de *Candida* após 24 horas de incubação. As colônias foram suspensas em 5 mL de solução salina estéril (8,5g/L de NaCl; salina a 0,85%).
- A suspensão resultante era agitada em Vortex por 15 segundos e a transmitância ajustada no espectrofotômetro.

Quando necessário era adicionada salina estéril ou colônias de leveduras para obter uma suspensão com transmitância de 90%, com 530 nanômetros de comprimento de onda.

- 0,1 mL desta suspensão era colocado em 4,9 mL de salina estéril e agitado por 15 segundos.
- 0,3 mL desta última solução era colocado em 5,7 mL de RPMI estéril.

1.5. 100 mL da solução resultante desta última diluição eram distribuídos nas placas com os antifúngicos diluídos, resultando numa diluição final de 5.0×10^2 . Também era repicada uma alíquota de 10 μ L em placas de SDA de tamanho pequeno, com auxílio de uma alça de Drigalski, para controle da quantidade do inóculo.

- Leitura

Foram realizadas leituras com 24 e 48 horas de incubação a 35°C.

Para determinação da CIM foram considerados: a diluição em que não se observava mais crescimento, a olho nu, para a anfotericina B; para o fluconazol e itraconazol, foi considerada a diluição em que se observava a olho nu 50% do crescimento observado no controle positivo.

- Cepa padrão

Foi sempre utilizada como controle de qualidade da diluição dos antifúngicos, a cepa padrão, ATCC 22019, da espécie *Candida parasilosis*. ATCC é marca registrada de American

Type Culture Collection. Os valores de CIM das cepas padrão, aceitáveis para validação da qualidade de diluição das drogas estão listados na tabela 3.

Tabela 3 Valores de CIM da ATCC 22019 aceitos como válidos para as três drogas testadas:

Antifúngico	Varição de CIM ($\mu\text{g/mL}$)
Anfotericina B	0,25-1,0
Fluconazol	2,0-8,0
Itraconazol	0,06-0,25

A definição da susceptibilidade antifúngica das leveduras testadas em sensível, sensível dose-dependente e resistente, seguiu as definições presentes no documento M27 A2 do CLSI, que são descritas abaixo na tabela 4

Tabela 4 Definição da susceptibilidade antifúngica das espécies de *Candida* pelo CIM

	anfotericina B	fluconazol	itraconazol
sensível	≤ 1	≤ 8	0,125
SDD		16-32	0,25-0,5
resistente	≥ 2	≥ 64	≥ 1

Para se avaliar o impacto do uso de antifúngicos na distribuição de espécies de *Candida* e nos perfis de susceptibilidade, foram comparadas as frequências das diferentes espécies e os valores de CIM nos dois períodos de estudo, bem como nas diferentes situações de uso de antifúngicos (tipo de antifúngico, classificação em

adequada ou não). As freqüências de variáveis categóricas foram expressas em valores absolutos e percentuais, e das variáveis contínuas em medianas e variações. Além disso, os valores de CIM 90 foram determinados (percentil 90 da distribuição de CIMs). Na comparação de variáveis dicotômicas, foram utilizados os testes de Fisher (bicaudal) ou Chi-quadrado, e para variáveis contínuas foi usado o teste de Wilcoxon. Os dados foram armazenados no programa Epi Info (Centers for Disease Control and Prevention, USA, version DC, version 6.04d – January 2001) e analisados no programa SPSS (SPSS for Windows Release 11.01.1 – 15 Nov 2001).

5 RESULTADOS

Foram analisados retrospectivamente os dados contidos em 250 fichas de justificativa de uso de antifúngicos (AF), compreendendo o período entre janeiro de 1998 a dezembro de 2001.

Como mostra a figura 1, fluconazol foi o agente mais utilizado (68% das prescrições de AF no período estudado), seguido da anfotericina B (20%).

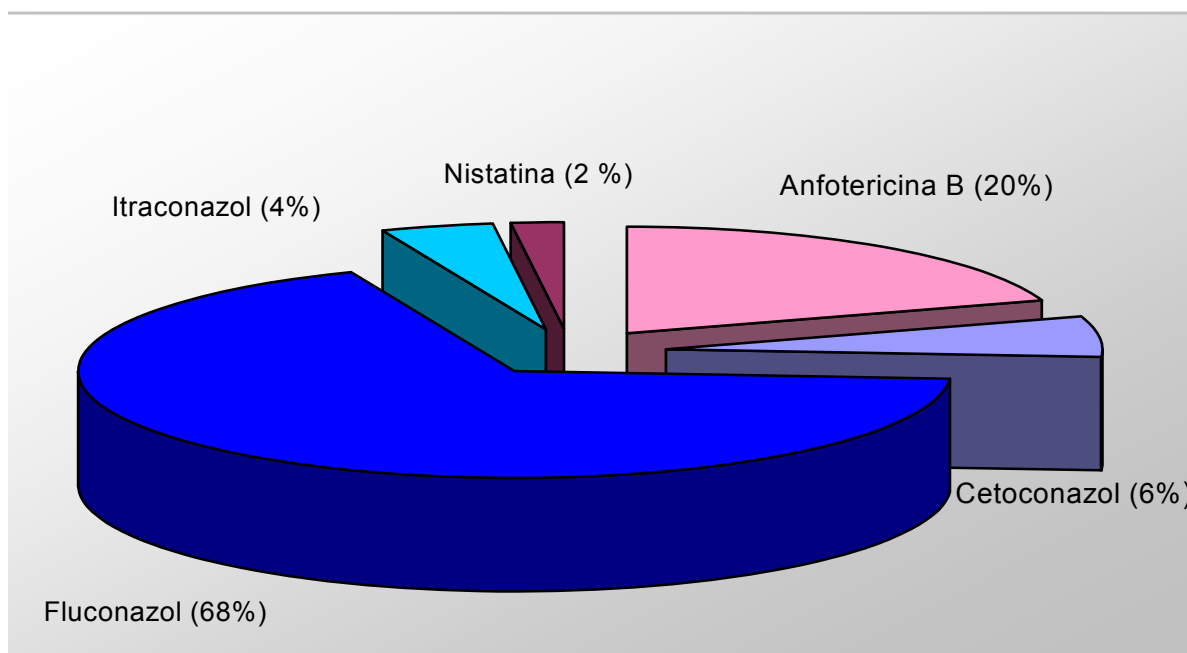
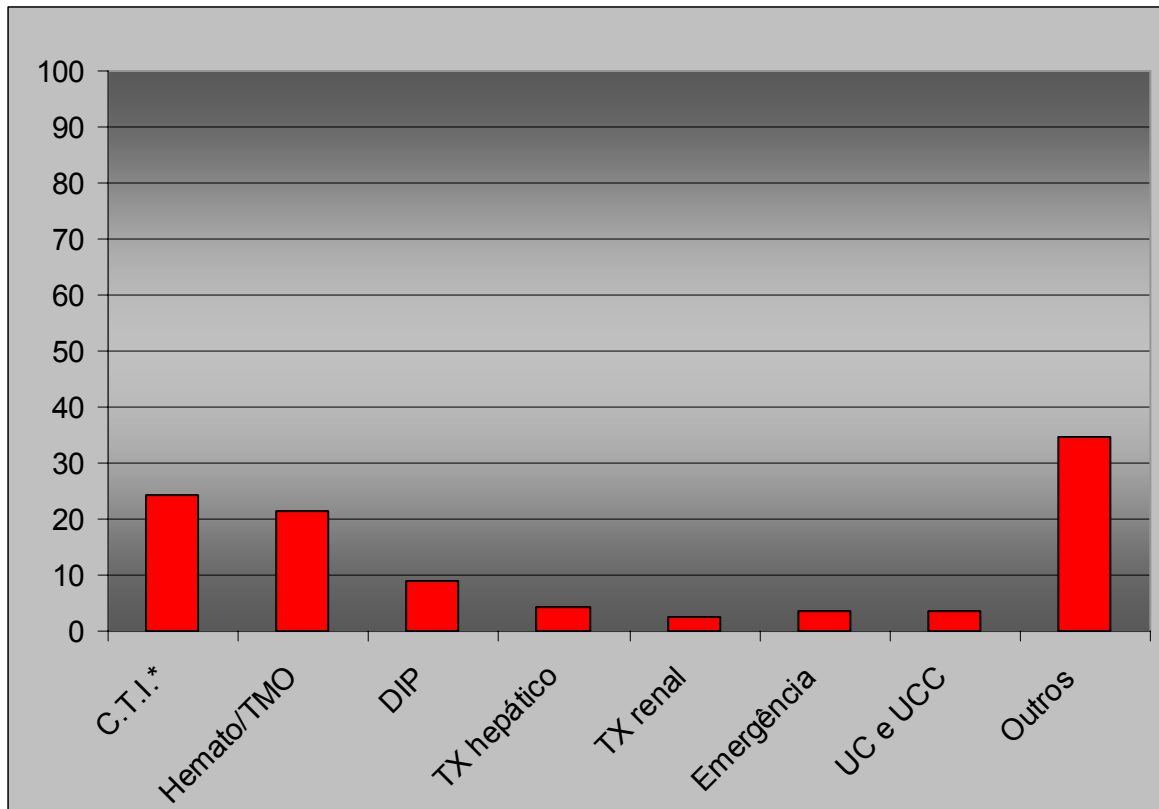


Figura 1 Frequência relativa de diferentes antifúngicos utilizados no HUCFF entre 1998 e 2001

A unidade que mais freqüentemente empregou AF foi o C.T.I médico-cirúrgico, sendo responsável por 24% do total de notificações, seguido pelas unidades de Hematologia / Transplante de Medula Óssea (TMO) com 22%. O Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias (DIP) vem em terceiro lugar com 9%, estando as unidades de transplantes hepático e renal em quarto e quinto lugares,

com 4 e 2% respectivamente (figura 2).



C.T.I.*: Centro de Terapia Intensiva (Unidade Médico-Cirúrgica)

TMO: Transplante de Medula Óssea

DIP: Doenças Infecciosas e Parasitárias

TX hepático: Transplante hepático

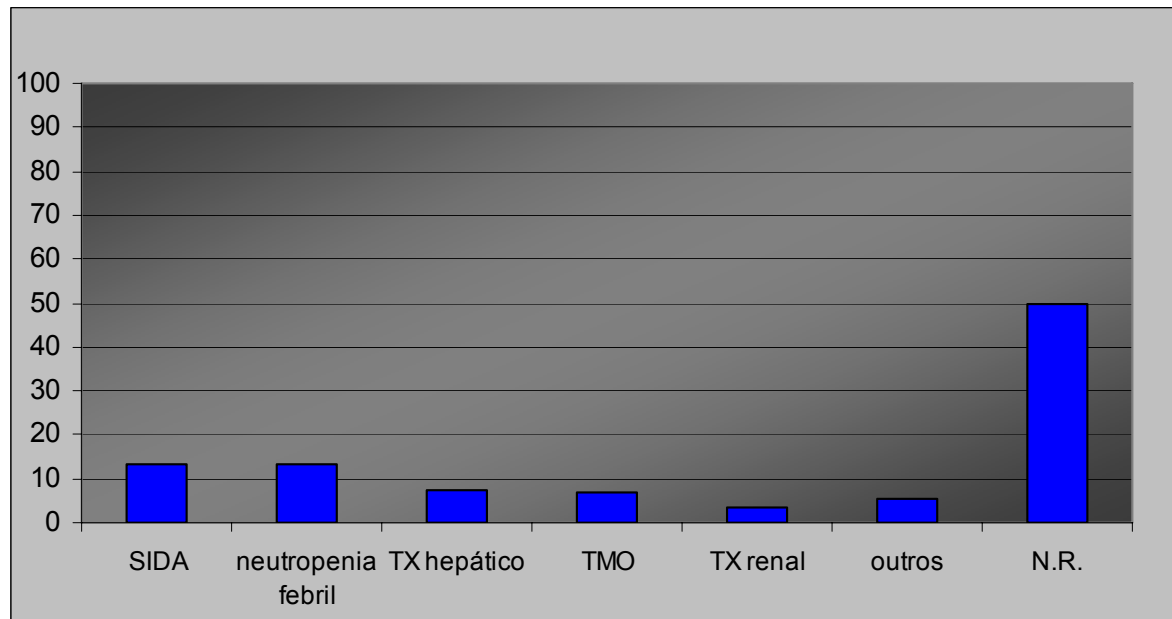
TX renal: Transplante renal

UC: Unidade coronariana

UCC: Unidade de cirurgia cardíaca

Figura 2 Frequência (%) de uso de antifúngicos por unidade de internação

A doença de base não foi informada em 50% dos casos. SIDA e câncer no contexto de neutropenia febril foram as condições mais frequentes, com 13% cada, seguidas pelo transplante hepático e TMO (7% cada), e transplante renal (4%) (Figura 3).



SIDA: Síndrome da imunodeficiência adquirida.
 TX hepático: Transplante hepático
 TMO: transplante de medula óssea

TX renal: Transplante renal
 NR: não relatado.

Figura 3 Frequência (%) de uso de antifúngicos por doença de base

Os AF foram utilizados para tratamento direcionado em 42% dos casos, para terapia empírica em 46% e para profilaxia em 12% (Figura 4). Terapia empírica foi utilizada na maioria das vezes no C.T.I (37%) e na hematologia (35%). Em relação ao antifúngico usado em terapia empírica, enquanto que na hematologia anfotericina B foi usada na maioria das vezes (58%), no C.T.I. fluconazol foi utilizado em 61% das vezes.

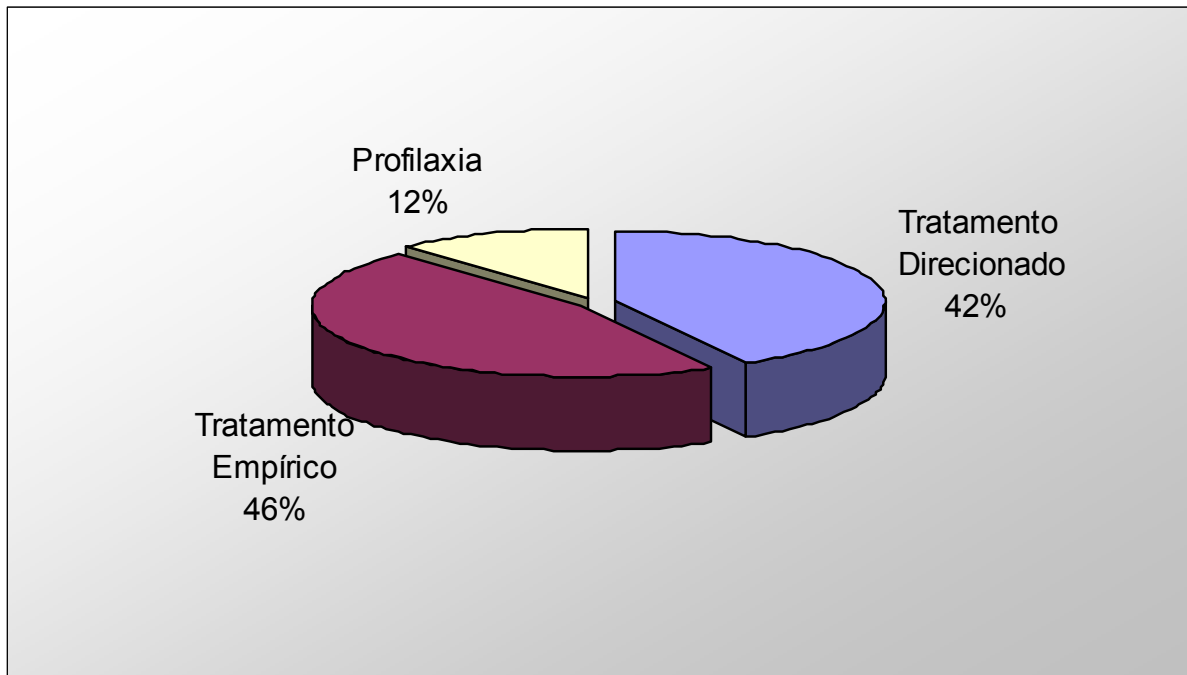


Figura 4 Razão do emprego de antifúngicos

As patologias que motivaram o uso de AF mais freqüentemente foram a esofagite por *Candida* (22%), seguida por sepse (16%), candidíase oral (15%), criptococose (9%), candidemia (6%) e candidíase cutânea (5%). Não houve confirmação micológica em 65% dos casos em que o motivo de uso foi o tratamento direcionado.

O emprego dos AF em geral foi considerado adequado em 82% dos casos. A candidíase esofágica foi adequadamente tratada em 88% dos casos. De um total de 24 tratamentos para candidíase oral, o uso de AF foi adequado em apenas 71% dos casos. Houve adequação do tratamento direcionado em 86% para candidíase cutânea, e 100% dos casos de criptococose, candidíase vaginal, colangite e peritonite. A tabela a seguir mostra a adequação do tratamento direcionado para as patologias mais freqüentes (tabela 5).

Tabela 5 Adequação do uso de antifúngicos para as patologias mais freqüentes*

Patologia	Tratamentos (n)	Adequados (n)	Adequação (%)
Esofagite	33	29	88
Candidíase oral	24	17	71
Candidíase cutânea	7	6	86
Candidíase vaginal	6	6	100
Candidemia	8	5	62,5
Candidúria	5	1	20
Dermatofitoses	5	0	0
Criptococose	5	5	100
Peritonite	3	3	100

*Foram incluídos apenas os tratamentos direcionados.

Em relação ao uso dos diferentes AF, anfotericina B foi utilizada de forma adequada em 96% dos casos, seguido de cetoconazol (93%), fluconazol (78%) e itraconazol (60%). A adequação do uso de fluconazol foi menor quando comparado com outros agentes (78% versus 89%, $p=0,004$), ao passo que anfotericina B apresentou melhor adequação (96% versus 78%, $p=0,004$) (Figuras 5 e 6).

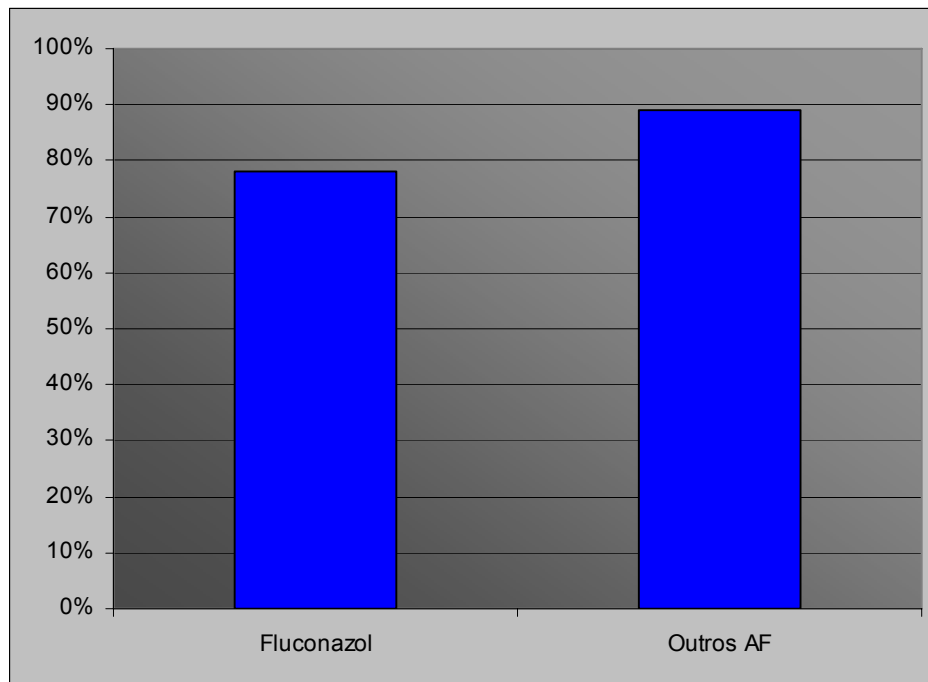


Figura 5 Adequação do uso de fluconazol *versus* outros antifúngicos (AF)

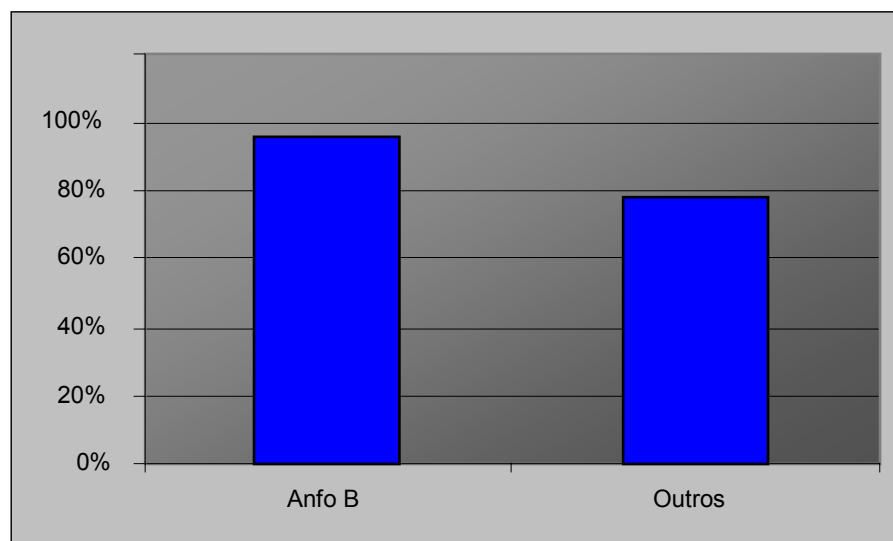
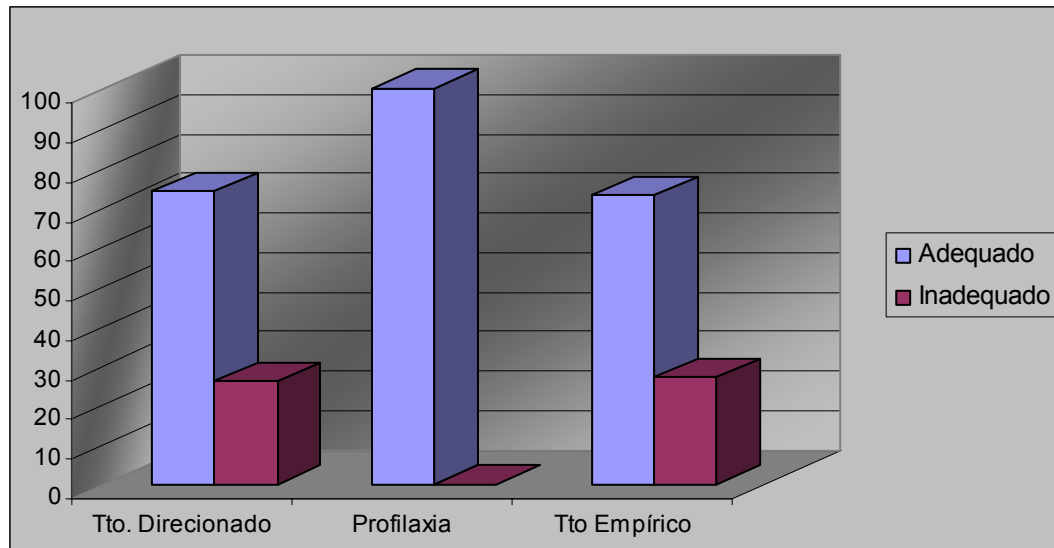


Figura 6 Adequação do uso de anfotericina B *versus* outros antifúngicos

Ainda em relação ao fluconazol, a adequação ao uso foi maior em profilaxia (100%) que em terapia empírica ou direcionada (Figura 7).



Tto: tratamento

Figura 7 Adequação (%) do uso de fluconazol por motivo de emprego

Como mostra a figura 8, houve um significativo aumento na frequência de uso de fluconazol ao longo dos anos, marcadamente a partir do ano de 2000. Antes de 2000, fluconazol foi empregado em 49% dos tratamentos, enquanto a partir deste ano este percentual elevou-se para 77% ($p=0,0001$). Não houve diferença estatisticamente significativa na proporção de uso adequado de fluconazol nos anos recentes (67% antes de 2000 e 81% a partir deste ano, $p=0,67$).

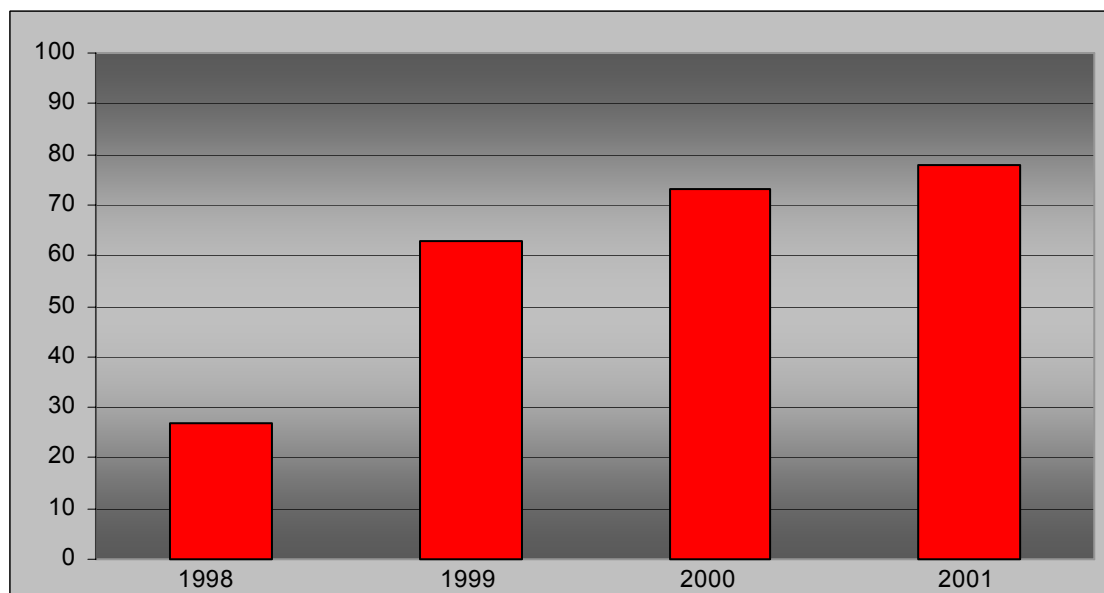


Figura 8 Frequência (%) do uso de fluconazol ao longo dos anos do período estudado

A tabela 6 mostra a distribuição de espécies de *Candida* isoladas de amostras de urina. *C. albicans* foi a espécie mais freqüente (46%), seguindo-se *C. glabrata* (21%), *C. tropicalis* (15%) e *C. parapsilosis* (12%).

Tabela 6 Distribuição de espécies de *Candida* em 210 isolados da urina nos anos de 1999 e 2002

Espécie	N	%
<i>C. albicans</i>	96	46
<i>C. glabrata</i>	44	21
<i>C. tropicales</i>	31	15
<i>C. parapsilosis</i>	24	12
<i>C. kefyr</i>	5	2
<i>C. krusei</i>	3	1
<i>C. guilliermondii</i>	3	1
<i>C. lusitaniae</i>	1	0,5
<i>C. zeylanoides</i>	1	0,5
<i>C. famata</i>	1	0,5
<i>Candida</i> spp*.	1	0,5

*Espécie não identiicada.

Em relação à distribuição de espécies dos isolados da urina em cada ano separadamente, houve uma inversão no padrão de distribuição em relação à proporção de *C. albicans* e espécies não-*albicans* (tabela 7). No ano de 1999 *C. albicans* representava 58% dos 104 isolados, enquanto no ano de 2002 passou a representar apenas 38% de um total de 106 isolados ($p=0,04$). Por outro lado, houve um aumento significativo na proporção de *C. parapsilosis* (7% em 1999 e 16% em 2002, $p=0,03$).

Tabela 7 Distribuição de espécies dos isolados em urina em 1999 e 2002

Espécie	Ano 1999 n=104 (%)	Ano 2002 n=106 (%)	p
<i>C. albicans</i>	58 56%	38 36%	0,04
<i>C. glabrata</i>	23 22%	21 20%	NS
<i>C. tropicalis</i>	13 12%	18 17%	NS
<i>C. parapsilosis</i>	7 7%	17 16%	0,03
<i>C. kefyr</i>	1 1%	4 4%	NS
<i>C. guilliermondii</i>	0	3 3%	NS
<i>C. lusitaniae</i>	0	1 1%	NS
<i>C. krusei</i>	2 2%	1 1%	NS
<i>C. famata</i>	0	1 1%	NS
<i>C. zeylanoides</i>	0	1 1%	NS
<i>Candida</i> spp.	0	1 1%	NS

NS: Não significante

A tabela 8 mostra a distribuição de espécies de *Candida* isoladas de hemoculturas (10 episódios de candidemia 1999 e 29 em 2002). *C. albicans* representou 40% do total de isolados do sangue em 1999 e 24% em 2002 (p não significante). Houve 3 episódios de candidemia por *C. glabrata* em 1999 e nenhum em 2002 (p=0,02). Por outro lado, nenhum episódio de candidemia por *C. parapsilosis* foi diagnosticado em 1999, comparado com 8 episódios (28%) em 2002 (p=0,03).

Tabela 8 Distribuição de espécies dos isolados de sangue nos anos de 1999 e 2002

Espécie	Ano 1999 n=10 (%)	Ano 2002 n=29 (%)	p
<i>C.albicans</i>	4 40%	7 24%	NS
<i>C.glabrata</i>	3 30%	0	0,02
<i>C.tropicalis</i>	3 30%	8 28%	NS
<i>C.parapsilosis</i>		8 28%	0,03
<i>C.krusei</i>		2 7%	NS
<i>C.lipolytica</i>		3 10%	NS
<i>C.kefyr</i>		1 3%	NS

NS = não significante

A análise conjunta dos isolados de sangue e urina (114 isolados em 1999 e 135 em 2002) mostrou que a proporção de *C. albicans* reduziu significativamente no período mais recente (54% versus 34%, $p=0,0008$).

Foram realizados testes de susceptibilidade antifúngica para anfotericina B, fluconazol e itraconazol em 210 amostras de urina, obtidas nos anos de 1999 e 2002. Foi realizada a leitura em 48 horas de todos os isolados de urina. A leitura em 24 horas não foi realizada em todos os casos. Os valores de CIM estão na tabela 9. Em geral, os valores de CIM 50 para *C. albicans* apresentaram 1 diluição mais baixa que os isolados de espécies não-*albicans* ($p<0,001$ para anfotericina B, fluconazol e itraconazol). Em relação à susceptibilidade aos azólicos de todos os 210 isolados, 11 dos 17 isolados (65%) com susceptibilidade reduzida ao fluconazol (SDD + resistente) também apresentaram susceptibilidade reduzida ao itraconazol ($p<0,001$).

Tabela 9 Susceptibilidade antifúngica de 210 isolados* de *Candida* de urina

Espécie (N)	Antifúngico	CIM ^a (µg/ml)			% susceptível
		Varição	CIM 50	CIM 90	
<i>C. albicans</i> (96)	Anfotericina B	0,125 – 0,5	0,25	0,5	100
	Fluconazol	0,125 - 64	0,25	2,0	96
	Itraconazol	0,03 – 16	0,03	0,06	93
<i>C. glabrata</i> (44)	Anfotericina B	0,25 – 0,5	0,25	0,5	100
	Fluconazol	0,25 - 64	4,0	16	86
	Itraconazol	0,03 – 1,0	0,25	0,5	23
<i>C. tropicalis</i> (31)	Anfotericina B	0,125 – 0,5	0,25	0,5	100
	Fluconazol	0,125 – 4,0	0,5	1,0	100
	Itraconazol	0,03 – 0,25	0,06	0,25	87
<i>C. parapsilosis</i> (24)	Anfotericina B	0,125 – 0,5	0,25	0,5	100
	Fluconazol	0,25 – 64	1,0	64	79
	Itraconazol	0,03 – 0,5	0,03	0,25	8
<i>C. kefyr</i> (5)	Anfotericina B	0,125 – 0,5	0,25	0,5	100
	Fluconazol	0,125 – 2,0	0,125	2,0	100
	Itraconazol	0,03 – 0,03	0,03	0,03	100
<i>C. krusei</i> (3)	Anfotericina B	0,25 – 0,5	0,25	0,5	100
	Fluconazol	32 - 64	64	64	0
	Itraconazol	0,03 – 0,25	0,125	0,25	67
<i>C. guilliermondii</i> (3)	Anfotericina B	0,06 – 0,25	0,125	0,125	100
	Fluconazol	0,5 – 2,0	1,0	2,0	100
	Itraconazol	0,03 – 0,25	0,06	0,25	67

* *C. famata* (1): anfotericina B 0,03 µg/ml, fluconazol 0,5 µg/ml, itraconazol 0,03 µg/ml; *C. zeylanoides* (1): anfotericina B 0,25 µg/ml, fluconazol 0,25 µg/ml, itraconazol 0,03 µg/ml; *Candida* sp. (1): anfotericina B 1,0 µg/ml, fluconazol 2,0 µg/ml, itraconazol 0,06 µg/ml; *C. lusitanae* (1) anfotericina B 0,25 µg/ml, fluconazol 2 µg/ml, itraconazol 0,06 µg/ml ^a CIM = concentração inibitória mínima

Comparando os valores de CIM nos anos de 1999 e 2002 (tabela 10), para *C. albicans* não houve diferença estatisticamente significativa para fluconazol ($p=0,44$) e itraconazol ($p=0,61$), mas as CIMs para anfotericina B foram significativamente mais baixas no ano de 2002 ($p<0,001$). Para os isolados de espécies não-*albicans*, não houve diferença estatisticamente significativa para fluconazol ($p=0,17$), mas para itraconazol ($p=0,03$) e anfotericina B ($p=0,008$), os valores de CIM foram mais altos no ano de 2002 (Tabela 10).

Tabela 10 Valores de CIM para isolados de *C. albicans* e não-*albicans* nos anos de 1999 e 2002, incluídos isolados de sangue e urina

	1999	2002	p
<i>C. albicans</i>			
Anfotericina B			
CIM 50 / CIM 90 (variação)	0,25 / 0,5 (0,06-0,5)	0,25 / 0,25 (0,06-0,5)	<0,001
Fluconazol			
CIM 50 / CIM 90 (variação)	0,25 / 2,0 (0,125-64)	0,25 / 2,0 (0,125-64)	0,74
Itraconazol			
CIM 50 / CIM 90 (variação)	0,03 / 0,06 (0,03-16)	0,03 / 0,3 (0,03-16)	0,41
Espécies não-<i>albicans</i>			
Anfotericina B			
CIM 50 / CIM 90 (variação)	0,25 / 0,5 (0,25-0,5)	0,25 / 0,5 (0,06-1,0)	0,008
Fluconazol			
CIM 50 / CIM 90 (variação)	2,0 / 16 (0,125-64)	1,0 / 16 (0,125-64)	0,17
Itraconazol			
CIM 50 / CIM 90 (variação)	0,25 / 0,5 (0,03-0,5)	0,06 / 0,25 (0,03-1,0)	0,03

Foi realizada a leitura em 24 e 48 horas em 72% dos isolados de *Candida albicans* da urina, 84% dos isolados de *C. glabrata*, 71% dos de *C. tropicalis* e 54% dos de *C. parapsilosis*. Não houve mudança na faixa de susceptibilidade para nenhuma das amostras de *C. albicans* para fluconazol. Para *C. glabrata*, apenas 11% tiveram os mesmos valores nas leituras de 24 e de 48 horas. Cinco isolados (14%) passaram de susceptíveis para SDD na leitura de 48 horas. Em relação à *C. tropicalis*, apenas 9% tiveram os mesmos valores nas duas leituras; entretanto, todos os isolados se mantiveram susceptíveis nas leituras com 24 e 48 horas. Em 62% dos isolados de *C. parapsilosis* as leituras de 24 e 48 horas foram iguais. Um isolado (7%) passou de susceptível a SDD na leitura de 48 horas.

A tabela 11 mostra os valores de CIM de 39 isolados de *Candida* de hemoculturas. Todos os isolados foram sensíveis a anfotericina B; todos os isolados de *C. albicans* e *C. parapsilosis* foram sensíveis a fluconazol, em contraste com 91% dos isolados de *C. tropicalis* e apenas 1/3 dos de *C. glabrata* sensíveis a esta mesma droga.

Tabela 11 Susceptibilidade antifúngica de 39 isolados* de *Candida* do sangue

Espécie (N)	Antifúngico	CIM ^a (µg/ml)			% susceptível
		Variação	CIM 50	CIM 90	
<i>C. albicans</i> (11)	Anfotericina B	0,125 – 1,0	0,5	1,0	100
	Fluconazol	0,125 – 0,5	0,25	0,5	100
	Itraconazol	0,03 – 0,6	0,03	0,06	100
<i>C. glabrata</i> (3)	Anfotericina B	0,5 – 0,5	0,5	0,5	100
	Fluconazol	8,0 – 32	16	32	33
	Itraconazol	0,06 – 0,5	0,5	0,5	33
<i>C. tropicalis</i> (11)	Anfotericina B	0,125 – 1,0	0,5	1,0	100
	Fluconazol	0,25 – 64	0,25	32	91
	Itraconazol	0,06 – 0,5	0,06	0,5	82
<i>C. parapsilosis</i> (8)	Anfotericina B	0,5 – 1,0	0,5	1,0	100
	Fluconazol	0,5 – 4,0	1,0	4,0	100
	Itraconazol	0,03 – 0,5	0,25	0,5	38
<i>C. lipolytica</i> (3)	Anfotericina B	0,125 – 0,25	0,25	0,25	100
	Fluconazol	0,25 – 8,0	4,0	8,0	100
	Itraconazol	0,5 – 1,0	0,5	1,0	0
<i>C. krusei</i> (2)	Anfotericina B	1,0	1,0	1,0	100
	Fluconazol	32	32	32	0
	Itraconazol	1,0	1,0	1,0	0

* *C. kefyr* (1): anfotericina B 0,25 µg/ml, fluconazol 0,25 µg/ml, itraconazol 0,06 µg/ml; ^a MIC = concentração inibitória mínima

A análise global de susceptibilidade aos azólicos, incluindo todas as espécies isoladas nos dois períodos, mostrou que 5% das amostras apresentaram susceptibilidade dose dependente ao fluconazol e 20% ao itraconazol. Somente 3% das amostras apresentou resistência aos dois azólicos.

6 DISCUSSÃO

Neste estudo, que teve como principal objetivo traçar um perfil do uso de antifúngicos em um hospital geral no Brasil, observamos que fluconazol foi a droga mais empregada (68% das prescrições), e a unidade em que mais freqüentemente foi usado um antifúngico foi o C.T.I, especialmente em terapia empírica. Esta combinação C.T.I, terapia empírica e fluconazol, reflete a preocupação dos médicos intensivistas em relação às infecções fúngicas: há uma consciência do aumento na freqüência de infecções fúngicas invasivas nesta população de pacientes [26], motivando o uso de antifúngicos antes de um diagnóstico definitivo (terapia empírica). Entretanto, o médico fica hesitante em usar uma droga tóxica como a anfotericina B em uma situação de diagnóstico não confirmado, especialmente no C.T.I, onde há potencialmente um risco maior de nefrotoxicidade associada ao uso da anfotericina B [69, 82]. Já na unidade de Hematologia/TMO, apesar dos riscos, a terapia empírica acaba sendo feita com anfotericina B por duas razões: infecções por fungos filamentosos são freqüentes nesta população [83], em contraste com o C.T.I; e terapia empírica é prática consagrada em neutropenia febril [84, 85], contrário do que acontece nos pacientes de C.T.I.

Além do C.T.I, antifúngicos foram utilizados com freqüência na Unidade de Hematologia/TMO. Nesta unidade, o uso de antifúngicos em profilaxia é rotineiro, bem como em terapia empírica. No Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias, terceira unidade em freqüência de uso de antifúngicos, são tratados os pacientes com SIDA, doença de base mais freqüente na nossa análise. Os pacientes com SIDA são freqüentemente acometidos pela candidíase oral e esofágica [50], assim

como não são raras as internações para tratamento de criptococose meníngea [86].

Ainda como reflexo da alta frequência de pacientes com SIDA na instituição, candidíase oral e esofágica foram as doenças que mais motivaram o uso de AF. Entretanto, a maioria destes diagnósticos foi baseada em dados clínicos: 65% dos diagnósticos não tiveram confirmação microbiológica.

A anfotericina B foi considerada bem empregada em 96% dos casos, o cetoconazol em 93%, o fluconazol em 78% e o itraconazol em apenas 60% dos casos. A adequação em relação ao tipo de tratamento foi de 100% nos casos de profilaxia, refletindo a prática na instituição de se utilizar profilaxia com base em evidências científicas.

Em relação à análise de adequação do uso de antifúngicos para tratamento direcionado, é surpreendente o achado de adequação para apenas 71% dos casos de candidíase oral. A publicação que norteou nossa classificação do uso de antifúngicos em adequado ou não é do ano de 2000 [79]. Nossa amostra incluiu prescrições dos anos de 1998, 1999 e 2000, antes destas recomendações serem publicadas, o que pode explicar em parte este achado. Neste contexto, a escolha da droga, posologia e tempo de tratamento podem ter sido baseados em outras recomendações.

Embora a doença de base não tenha sido informada em 50% dos casos, os resultados encontrados são compatíveis com os dados da literatura, em que as infecções fúngicas são mais frequentemente diagnosticadas em pacientes imunossuprimidos, tendo particular importância a SIDA, já que no curso da infecção pelo HIV, a candidíase oral ocorre em até 90% dos pacientes [50]. Além disso, é bem estabelecido o papel do uso de antifúngicos na profilaxia de infecções fúngicas em pacientes neutropênicos pós-transplante de medula óssea [35], bem como nos

transplantes de órgãos sólidos [42].

Em relação à adequação do emprego dos antifúngicos separadamente, foram considerados adequados 78% dos tratamentos com fluconazol e 60% dos com itraconazol, contrastando com adequação em 96% dos casos em que foi empregada a anfotericina B e 93% dos casos em que o cetoconazol foi a droga escolhida. A anfotericina B foi o primeiro antifúngico ativo no tratamento da maioria das micoses profundas, promovendo verdadeira revolução no prognóstico destas infecções, estando disponível para uso clínico há muitos anos [69]. O uso correto em 96% dos casos pode ser consequência de uma maior experiência clínica acumulada com a droga. Seguindo a mesma tendência, o cetoconazol, um imidazol antifúngico introduzido para terapêutica há mais de vinte anos [69], também mostrou ser bem empregado na maioria dos tratamentos (93%), provavelmente pelo mesmo motivo da anfotericina B. Já o fluconazol e o itraconazol, disponíveis para uso clínico no Brasil há menos tempo que as duas drogas anteriormente comentadas, foram usados de forma correta em proporção bem inferior às duas outras drogas (78 e 60%, respectivamente). Entretanto, é importante ressaltar que, embora não tenha apresentado significância estatística, houve tendência ao melhor emprego do fluconazol ao longo dos anos, acompanhando o aumento no número de tratamentos com a droga.

A frequência em que o fluconazol foi empregado, 68% das prescrições avaliadas, é relevante, e aumenta a necessidade de se estar alerta para a possibilidade de seleção de cepas com susceptibilidade diminuída ou mesmo resistência à droga [87-90].

C. albicans foi a espécie mais frequente em 1999 (54%), mas em 2002 respondeu por apenas por 34% dos isolados de *Candida*. *C. krusei* e *C. glabrata* não

sofreram variação significativa na freqüência nos dois períodos. No sangue, a relação *C. albicans* / não *albicans* também se inverteu, mas devido ao pequeno número de episódios de candidemia, esta inversão não foi estatisticamente significativa. Embora tenha havido alguma mudança na distribuição de espécies causadoras de candidemia (particularmente *C. parapsilosis*, que em 2002 passou a ser responsável por mais de um quarto das candidemias), não é possível se fazer uma análise de tendências, dado o pequeno número de casos. Na urina, o mesmo padrão foi observado, sendo significativo o aumento da incidência de *C. parapsilosis* nos dois materiais estudados.

A epidemiologia de infecção por *Candida* vem mudando nos últimos anos. Em um estudo, a distribuição de espécies causadoras de candidemia foi avaliada em um hospital de 606 leitos em Detroit, Estados Unidos, antes e depois da introdução do fluconazol [91]. O estudo incluiu todas as hemoculturas positivas no período de 1986 a 1989 (pré fluconazol) e de 1994 a 1997 (pós fluconazol). No primeiro período, *C. albicans* foi responsável por 67% dos episódios de infecção de corrente sangüínea, caindo para 50% no segundo período, diferença que foi estatisticamente significativa ($p=0,04$). *C. parapsilosis*, que foi responsável por 9% dos casos no período pré fluconazol, passou a ser responsável por 24% dos episódios no segundo período. A incidência de candidemias por *C. krusei* e *C. glabrata* manteve-se estável. No Brasil, Colombo e colaboradores mostraram em um estudo multicêntrico prospectivo conduzido entre 1995 e 1996 em seis hospitais universitários brasileiros, que 63% dos episódios de candidemia foram causados por espécies não *albicans*, sendo *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*, respectivamente a segunda e a terceira espécies mais freqüentes. *C. glabrata* foi responsável por apenas 4% das infecções de corrente sangüínea por *Candida*, e *C. krusei* por apenas 1% dos casos [9, 15]. Na

casuística de Antunes e cols., em estudo conduzido entre 2002 e 2003 no estado de Santa Catarina, as espécies não *albicans* também foram predominantes na etiologia das candidemias, estando a *C. parapsilosis* em segundo lugar na frequência de isolamento, sendo responsável por 25,8% dos episódios. Também neste estudo a frequência de infecção pelas espécies menos susceptíveis ao fluconazol, *C. glabrata* e *C. krusei*, foi baixa [13]. Nucci mostrou que em meados da década de 90, as espécies não *albicans* já eram responsáveis pela maioria dos episódios de fungemia em pacientes com câncer, independente da doença de base, profilaxia antifúngica, ou presença de neutropenia [16]. Esta parece ser uma tendência não só do Brasil, mas da América Latina [92, 93].

Como nosso estudo preliminar [17] mostrou que houve aumento importante do uso de fluconazol a partir de 2000, escolhemos analisar a susceptibilidade dos isolados de sangue e urina de 1999 e 2002, representando respectivamente um ano anterior e um ano posterior à grande elevação de frequência de uso de fluconazol. Todos os isolados foram considerados sensíveis a anfotericina B. Em relação ao fluconazol, a resistência entre os isolados de *C. albicans* foi baixo, embora tenha havido um aumento de 5% na frequência de resistência nesta espécie, do ano de 1999 para o ano de 2002. Também houve discreta redução na susceptibilidade ao itraconazol. Dentre as espécies não *albicans*, *C. glabrata* e *C. krusei* foram as que apresentaram as CIM mais elevadas para os dois azólicos testados. Este achado já era esperado, uma vez que as duas espécies possuem susceptibilidade sabidamente reduzida à classe [19, 94]. A susceptibilidade a itraconazol foi proporcionalmente menor, sendo que somente 21% dos isolados de *C. glabrata* foram considerados sensíveis à droga. Para *C. tropicalis*, houve uma diferença de cerca de 12% a menos da susceptibilidade ao itraconazol em relação ao fluconazol.

Na análise global de susceptibilidade aos azólicos, incluindo todas as espécies, observamos que 5% das amostras apresentaram susceptibilidade dose dependente ao fluconazol, e 20% ao itraconazol. Somente 3% das amostras apresentou resistência aos dois azólicos. Maior frequência de resistência ao itraconazol em relação ao fluconazol já foi observada em outros estudos como o de Castañeda e cols., que encontrou 63% de susceptibilidade a fluconazol, contra somente 31% para itraconazol em um hospital oncológico no México [95]. Cuenca-Estrella e cols., avaliando a susceptibilidade de 744 isolados oriundos de 99 hospitais da Espanha e da Argentina, encontraram 9,9% e 21,9% de isolados com susceptibilidade diminuída (SDD) a fluconazol e itraconazol, respectivamente [96].

No Brasil, estudo conduzido entre 1996 e 1998, analisando 200 isolados de *Candida* spp. de sangue, oriundos de 5 hospitais terciários, mostrou que as candidemias em hospitais públicos brasileiros eram causadas predominantemente por espécies não *albicans* sensíveis a fluconazol na maioria das vezes. Das 200 amostras, somente 3 (duas *C. glabrata* e uma *C. krusei*) apresentaram resistência a fluconazol [14]. Na casuística de Aquino e colaboradores, com 113 isolados de sangue coletados entre 1998 e 2004, também houve predomínio das espécies não *albicans*; a grande maioria dos isolados foi sensível a fluconazol. Todos os isolados resistentes ou com susceptibilidade dose-dependente eram das espécies *C. glabrata* (45% SDD) ou *C. krusei* (100% resistentes) [97]. Antunes e colaboradores, analisando 120 amostras de sangue coletadas entre 2002 e 2003, além de mostrar um predomínio das espécies não *albicans* (51,6% dos casos), não encontraram resistência ao fluconazol e ao itraconazol; 1,6% destas amostras foram consideradas SDD para fluconazol e 14,2% SDD para o itraconazol [13]. Estudo que avaliou isolados de saliva e da cavidade oral de 114 pacientes soropositivos para HIV, entre

1997 e 1999, encontrou um predomínio de *C. albicans* (57,8%); 29 *C. albicans* e 13 não *albicans* apresentaram baixa susceptibilidade ao fluconazol, o que pode representar sérios problemas para a seleção de terapia antifúngica efetiva para este grupo de pacientes [50]. Estudo multicêntrico, também avaliando isolados de cavidade oral de pacientes com SIDA, encontrou predomínio de *C. albicans* (91% dos casos), sendo que somente cerca de 6% dos isolados pertencentes a esta espécie apresentaram susceptibilidade dose-dependente ou resistência aos azólicos [51]. Ainda em relação a isolados de orofaringe de pacientes com SIDA, Branchini e colaboradores avaliaram 44 isolados de pacientes que apresentaram episódios de candidíase orofaríngea ou esofágica. Destes, 35 eram pertencentes à espécie *C. albicans*, 6 *C. tropicalis*, 1 *C. glabrata*. Embora todos os isolados tenham se mostrado sensíveis à anfotericina B, 5/35 isolados de *C. albicans* apresentaram resistência a todos os azólicos testados, incluindo o fluconazol. Todos os isolados de *C. tropicalis* mostraram-se resistentes a fluconazol e miconazol; o único isolado de *C. glabrata* apresentou baixa sensibilidade a fluconazol, itraconazol e cetoconazol [98]. Esta baixa susceptibilidade aos azólicos encontrada neste estudo indica a necessidade de monitoração contínua da susceptibilidade antifúngica dos isolados de *Candida* spp de pacientes com SIDA, em que os episódios de candidíase oral e esofágica são freqüentes e muitas vezes recorrentes [73]. Ribeiro e colaboradores avaliaram a susceptibilidade antifúngica de isolados vaginais de mulheres infectadas pelo HIV, bem como avaliaram a expressão de genes relacionados a resistência aos azólicos. Susceptibilidade reduzida foi encontrada com baixa freqüência e, quando presente em *C. albicans*, estava relacionada com a expressão de *CDR1*, gen relacionado a bombas de efluxo transportadoras de azólicos e terbinafina [99]. Estudo com isolados vaginais de mulheres imunocompetentes não hospitalizadas,

realizado em período próximo ao do estudo anterior, mostrou haver predomínio de *C. albicans*, com baixa frequência de resistência e susceptibilidade dose-dependente aos azólicos; quando estas estavam presentes, eram em geral relacionadas às espécies não *albicans*, incluindo *C. glabrata* e *C. krusei* [100]. Trabalho realizado entre 1998 e 2000, avaliando através de difusão em disco a susceptibilidade a fluconazol de 1784 isolados de *Candida* de materiais biológicos diversos, encontrou 94% de susceptibilidade à droga, sendo que *C. glabrata* e *C. krusei* foram as espécies que apresentaram MICs mais elevados [101].

No nosso estudo, todos os isolados de *C. albicans* se mantiveram sensíveis a fluconazol nas duas leituras, mas o mesmo não aconteceu com o itraconazol: 13% das amostras sensíveis na leitura de 24 horas passaram a SDD ou R na leitura de 48 horas. Para os isolados de *C. glabrata*, a leitura em 48 horas fez uma grande diferença: para fluconazol, 5 amostras (13%) passaram de S a SDD; para itraconazol, 22 (61%) passaram de S para SDD, e 2 (5%) passaram de S para R. Um quarto dos isolados de *C. tropicalis* teve a sua faixa de susceptibilidade alterada de S para SDD na segunda leitura. É sabido que a *C. glabrata* tem susceptibilidade aos azólicos inferior a outras espécies [19], porém *C. tropicalis* é em geral bastante sensível a estas drogas. É possível que estas alterações de faixa de susceptibilidade sejam secundárias ao fenômeno de *trailing*. Das 11 amostras em que ficou caracterizada a ocorrência deste fenômeno, 7 (64%) eram *C. tropicalis* e 3 (28%) eram *C. albicans*, similar ao descrito na por Saint-Germain [71]. Neste estudo, em que 2000 amostras de *Candida* foram testadas por microdiluição, os autores concluíram que um período de incubação de 24 horas e o uso do parâmetro de diminuição de 50% na turbidez do inóculo para determinação do ponto de corte apresentaram melhor correlação clínica. O fenômeno de *trailing* representa uma

dificuldade crucial na determinação do MIC para os azólicos, podendo levar a interpretações errôneas de MICs elevados para isolados susceptíveis. Para buscar soluções para este problema, modificações para o método padronizado pelo CLSI têm sido propostas, com alterações no tempo de incubação, tampão, pH, concentração de glicose e tamanho do inóculo [102, 103]. As bases celulares e moleculares que explicam o fenômeno de *trailing* têm sido objeto de estudo. Os azólicos inibem a lanosterol dimetilase, uma das enzimas envolvidas na biossíntese do ergosterol, principal componente da membrana celular fúngica [104]. Uma grande limitação dos azólicos antifúngicos é sua falta de atividade fungicida, o que pode contribuir para falhas terapêuticas comuns nos pacientes imunodeprimidos. Além disso, as leveduras sobreviventes podem constituir um reservatório para desenvolvimento de resistência aos azólicos. *In vitro*, não só os azólicos parecem falhar em matar mas também em suprimir completamente o crescimento, resultando em *trailing* no método da microdiluição, mesmo em concentrações bem acima do MIC [73, 74, 103-105]. Uma possível explicação é que o *trailing* para os inibidores da biossíntese de esterol derive, ao menos em parte, da capacidade da *C. albicans* de regular para cima, em resposta à exposição à droga, a transcrição de genes codificadores da lanosterol dimetilase (*ERG11*), esqualeno epoxidase (*ERG1*) ou de bombas de efluxo transportadoras de azólicos e terbinafina (*CDR1*, *CDR2*, *MDR1*) [104]. Os mesmos mecanismos, bem como mutações pontuais no *ERG11*, têm sido apontados como tendo importância no desenvolvimento de resistência da *C. albicans* aos azólicos. Um estudo que comparou isolados de *C. albicans* que apresentavam *trailing* com isolados não-*trailing* com susceptibilidade reduzida aos azólicos, mostrou que os *trailers* possuem um número muito maior de mutações no *ERG11* [106]. Em outro estudo incluindo amostras de pacientes soropositivos para

HIV com candidíase oral recorrente (definida como 3 a 12 episódios num período de 12-15 meses), Revankar e colaboradores detectaram isolados *trailing* e não-*trailing*. Em todos os casos os pacientes responderam a um curso de 7 dias de fluconazol, sugerindo que isolados que apresentam *trailing*, ao contrário dos resistentes, não estão associados com falência de tratamento, mas podem estar associados com a recorrência da infecção, por sobreviverem ao tratamento e iniciarem uma nova infecção [73]. Caso isto se prove verdadeiro, agentes bloqueadores de *trailing* como os inibidores das histona-deacetilases podem se mostrar benéficos para pacientes imunodeprimidos em que a recorrência é freqüente. As histona-deacetilases têm papel importante na expressão e regulação dos genes supracitados e envolvidos no desenvolvimento de resistência e no fenômeno de *trailing* [104].

Uma limitação do nosso estudo é a ausência de correlação dos dados micológicos com os dados clínicos. Não houve avaliação do uso prévio de antifúngicos ou da evolução clínica dos pacientes de quem foram isoladas as amostras analisadas. Deste modo, não podemos saber se a exposição prévia aos azólicos correlacionou-se individualmente com o isolamento de espécies não *albicans* ou com isolados com susceptibilidade diminuída a estas drogas. A leitura de 24 horas não foi realizada em todos os isolados de urina e em nenhum dos isolados de sangue, não permitindo uma avaliação mais completa das diferenças de interpretação das duas leituras.

É de relevância clínica a verificação de que, embora as espécies não *albicans* sejam responsáveis pela maioria dos isolados em nossa instituição, a freqüência de resistência ainda é baixa.

É interessante que a vigilância da epidemiologia de espécies e da susceptibilidade antifúngica seja realizada periodicamente na instituição, para

orientar a terapia das infecções fúngicas que, como vimos, têm aumentado em frequência e atingido populações de pacientes de gravidade crescente.

Estudos futuros são necessários para melhor entender o significado do fenômeno de *trailing*. Como o método da microdiluição, embora possua boa reprodutibilidade, ainda é muito trabalhoso e de realização lenta, bem como sujeito à interferência do fenômeno de *trailing*, estudos para a validação e padronização de métodos de realização mais simples e confiáveis para a determinação da susceptibilidade antifúngica também devem ser realizados.

7 CONCLUSÕES

- ✓ Foi verificado um aumento significativo na frequência de uso de fluconazol na instituição ao longo do período estudado.
- ✓ Houve inversão do padrão de distribuição de espécies de *Candida*, passando as espécies não *albicans* a ser predominantes no segundo período do estudo.
- ✓ A resistência a fluconazol foi de 3%.
- ✓ A resistência global aos azólicos foi baixa (3%).
- ✓ Foi encontrado 100% de susceptibilidade a anfotericina B.
- ✓ Não houve desenvolvimento de resistência ao fluconazol em consequência do aumento da frequência de emprego na instituição.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Beck-Sague C, Jarvis WR. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. National Nosocomial Infections Surveillance System. *J Infect Dis* 1993 May; 167(5):1247-51.
- (2) Blumberg HM, Jarvis WR, Soucie JM, et al. Risk factors for candidal bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: the NEMIS prospective multicenter study. *The National Epidemiology of Mycosis Survey. Clin Infect Dis* 2001 Jul 15; 33(2):177-86.
- (3) Rentz AM, Halpern MT, Bowden R. The impact of candidemia on length of hospital stay, outcome, and overall cost of illness. *Clin Infect Dis* 1998 Oct; 27(4):781-8.
- (4) Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 2004 Aug 1; 39(3):309-17.
- (5) Rex JH, Rinaldi MG, Pfaller MA. Resistance of *Candida* species to fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 1995 Jan; 39(1):1-8.
- (6) Chen YC, Chang SC, Luh KT, Hsieh WC. Stable susceptibility of *Candida* blood isolates to fluconazole despite increasing use during the past 10 years. *J Antimicrob Chemother* 2003 Jul; 52(1):71-7.
- (7) Moosa MY, Sobel JD. Non-albicans *Candida* infections in patients with hematologic malignancies. *Semin Respir Infect* 2002 Jun; 17(2):91-8.
- (8) Macphail GL, Taylor GD, Buchanan-Chell M, Ross C, Wilson S, Kureishi A. Epidemiology, treatment and outcome of candidemia: a five-year review at three Canadian hospitals. *Mycoses* 2002 Jun; 45(5-6):141-5.
- (9) Colombo AL. Epidemiology and treatment of hematogenous candidiasis: a Brazilian perspective. *Braz J Infect Dis* 2000 Jun; 4(3):113-8.

- (10) Kao AS, Brandt ME, Pruitt WR, et al. The epidemiology of candidemia in two United States cities: results of a population-based active surveillance. *Clin Infect Dis* 1999 Nov; 29(5):1164-70.
- (11) Laverdiere M, Rotstein C, Bow EJ, et al. Impact of fluconazole prophylaxis on fungal colonization and infection rates in neutropenic patients. The Canadian Fluconazole Study. *J Antimicrob Chemother* 2000 Dec; 46(6):1001-8.
- (12) Swinne D, Watelle M, Suetens C, Mertens K, Fonteyne PA, Nolard N. A one-year survey of candidemia in Belgium in 2002. *Epidemiol Infect* 2004 Dec; 132(6):1175-80.
- (13) Antunes AG, Pasqualotto AC, Diaz MC, d'Azevedo PA, Severo LC. Candidemia in a Brazilian tertiary care hospital: species distribution and antifungal susceptibility patterns. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2004 Sep; 46(5):239-41.
- (14) Colombo AL, Nakagawa Z, Valdetaro F, Branchini ML, Kussano EJ, Nucci M. Susceptibility profile of 200 bloodstream isolates of *Candida* spp. collected from Brazilian tertiary care hospitals. *Med Mycol* 2003 Jun; 41(3):235-9.
- (15) Colombo AL, Nucci M, Salomao R, et al. High rate of non-albicans candidemia in Brazilian tertiary care hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999 Aug; 34(4):281-6.
- (16) Nucci M, Silveira MI, Spector N, et al. Fungemia in cancer patients in Brazil: predominance of non-albicans species. *Mycopathologia* 1998; 141(2):65-8.
- (17) Nucci M, Netto J, Nouér S. Avaliação do Uso de Antifúngicos em Um Hospital Terciário. 5 (Supplement 2), 103 ed. 2001.
- (18) Nucci M, Nouér SA, Rady P, et al. Epidemiological Trends in Candidemia at Two Tertiary Hospitals in Brasil, 1995-2001. Abstract ed. 2002:389.
- (19) Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis* 2003 Nov; 3(11):685-702.
- (20) Nouér SA, Nucci M. Infecções Fúngicas Nosocomiais. In: Adriana Cristina Oliveira (Org.), ed. Rio de Janeiro: 2005:348-53.

- (21) Hobson RP. The global epidemiology of invasive *Candida* infections- is the tide turning? 55 ed. 2003:159-68.
- (22) Ghannoum MA. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. *Clin Microbiol Rev* 2000 Jan; 13(1):122-43, table.
- (23) Sanglard D, Odds FC. Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. *Lancet Infect Dis* 2002 Feb; 2(2):73-85.
- (24) Nucci M, Anaissie E. Revisiting the source of candidemia: skin or gut? *Clin Infect Dis* 2001 Dec 15; 33(12):1959-67.
- (25) Lupetti A, Tavanti A, Davini P, et al. Horizontal transmission of *Candida parapsilosis* candidemia in a neonatal intensive care unit. *J Clin Microbiol* 2002 Jul; 40(7):2363-9.
- (26) Wey SB, Mori M, Pfaller MA, Woolson RF, Wenzel RP. Risk factors for hospital-acquired candidemia. A matched case-control study. *Arch Intern Med* 1989 Oct; 149(10):2349-53.
- (27) Wey SB, Mori M, Pfaller MA, Woolson RF, Wenzel RP. Hospital-acquired candidemia. The attributable mortality and excess length of stay. *Arch Intern Med* 1988 Dec; 148(12):2642-5.
- (28) Fraser VJ, Jones M, Dunkel J, Storfer S, Medoff G, Dunagan WC. Candidemia in a tertiary care hospital: epidemiology, risk factors, and predictors of mortality. *Clin Infect Dis* 1992 Sep; 15(3):414-21.
- (29) Nguyen MH, Peacock JE, Jr., Morris AJ, et al. The changing face of candidemia: emergence of non-*Candida albicans* species and antifungal resistance. *Am J Med* 1996 Jun; 100(6):617-23.
- (30) Persons DA, Laughlin M, Tanner D, Perfect J, Gockerman JP, Hathorn JW. Fluconazole and *Candida krusei* fungemia. *N Engl J Med* 1991 Oct 31; 325(18):1315.
- (31) Wingard JR, Merz WG, Rinaldi MG, Miller CB, Karp JE, Saral R. Association of *Torulopsis glabrata* infections with fluconazole prophylaxis in neutropenic bone marrow transplant patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1993 Sep; 37(9):1847-9.

- (32) Chandrasekar PH, Gatny CM. The effect of fluconazole prophylaxis on fungal colonization in neutropenic cancer patients. Bone Marrow Transplantation Team. *J Antimicrob Chemother* 1994 Feb; 33(2):309-18.
- (33) Winston DJ, Chandrasekar PH, Lazarus HM, et al. Fluconazole prophylaxis of fungal infections in patients with acute leukemia. Results of a randomized placebo-controlled, double-blind, multicenter trial. *Ann Intern Med* 1993 Apr 1; 118(7):495-503.
- (34) Wingard JR, Merz WG, Rinaldi MG, Johnson TR, Karp JE, Saral R. Increase in *Candida krusei* infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treated prophylactically with fluconazole. *N Engl J Med* 1991 Oct 31; 325(18):1274-7.
- (35) Goodman JL, Winston DJ, Greenfield RA, et al. A controlled trial of fluconazole to prevent fungal infections in patients undergoing bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 1992 Mar 26; 326(13):845-51.
- (36) Marr KA, Seidel K, White TC, Bowden RA. Candidemia in allogeneic blood and marrow transplant recipients: evolution of risk factors after the adoption of prophylactic fluconazole. *J Infect Dis* 2000 Jan; 181(1):309-16.
- (37) Antoniadou A, Torres HA, Lewis RE, et al. Candidemia in a tertiary care cancer center: in vitro susceptibility and its association with outcome of initial antifungal therapy. *Medicine (Baltimore)* 2003 Sep; 82(5):309-21.
- (38) Abi-Said D, Anaissie E, Uzun O, Raad I, Pinzowski H, Vartivarian S. The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida* species. *Clin Infect Dis* 1997 Jun; 24(6):1122-8.
- (39) Viscoli C, Girmenia C, Marinus A, et al. Candidemia in cancer patients: a prospective, multicenter surveillance study by the Invasive Fungal Infection Group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Clin Infect Dis* 1999 May; 28(5):1071-9.
- (40) Krcmery V, Krupova Y, Mateicka F, et al. *Candida glabrata* fungemia in a tertiary cancer institution in Slovakia. 5 ed. 1999:163-7.
- (41) Nucci M, Colombo AL. Emergence of resistant *Candida* in neutropenic patients. *Braz J Infect Dis* 2002 Jun; 6(3):124-8.

- (42) Winston DJ, Pakrasi A, Busuttill RW. Prophylactic fluconazole in liver transplant recipients. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 1999 Nov 16; 131(10):729-37.
- (43) Fortun J, Lopez-San Roman A, Velasco JJ, et al. Selection of *Candida glabrata* strains with reduced susceptibility to azoles in four liver transplant patients with invasive candidiasis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997 Apr; 16(4):314-8.
- (44) Sobel JD, Ohmit SE, Schuman P, et al. The evolution of *Candida* species and fluconazole susceptibility among oral and vaginal isolates recovered from human immunodeficiency virus (HIV)-seropositive and at-risk HIV-seronegative women. *J Infect Dis* 2001 Jan 15; 183(2):286-93.
- (45) Tumbarello M, Caldarola G, Tacconelli E, et al. Analysis of the risk factors associated with the emergence of azole resistant oral candidosis in the course of HIV infection. *J Antimicrob Chemother* 1996 Oct; 38(4):691-9.
- (46) Sangeorzan JA, Bradley SF, He X, et al. Epidemiology of oral candidiasis in HIV-infected patients: colonization, infection, treatment, and emergence of fluconazole resistance. *Am J Med* 1994 Oct; 97(4):339-46.
- (47) Revankar SG, Kirkpatrick WR, McAtee RK, et al. A randomized trial of continuous or intermittent therapy with fluconazole for oropharyngeal candidiasis in HIV-infected patients: clinical outcomes and development of fluconazole resistance. *Am J Med* 1998 Jul; 105(1):7-11.
- (48) Maenza JR, Keruly JC, Moore RD, Chaisson RE, Merz WG, Gallant JE. Risk factors for fluconazole-resistant candidiasis in human immunodeficiency virus-infected patients. *J Infect Dis* 1996 Jan; 173(1):219-25.
- (49) Goldman M, Cloud GA, Smedema M, et al. Does long-term itraconazole prophylaxis result in in vitro azole resistance in mucosal *Candida albicans* isolates from persons with advanced human immunodeficiency virus infection? The National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses study group. *Antimicrob Agents Chemother* 2000 Jun; 44(6):1585-7.
- (50) Melo NR, Taguchi H, Jorge J, et al. Oral *Candida* flora from Brazilian human immunodeficiency virus-infected patients in the highly active antiretroviral therapy era. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2004 Jun; 99(4):425-31.
- (51) Sant'Ana PL, Milan EP, Martinez R, et al. Multicenter Brazilian study of oral *Candida* species isolated from AIDS patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002 Mar; 97(2):253-7.

- (52) Rocco TR, Reinert SE, Simms HH. Effects of fluconazole administration in critically ill patients: analysis of bacterial and fungal resistance. *Arch Surg* 2000 Feb; 135(2):160-5.
- (53) Trick WE, Fridkin SK, Edwards JR, Hajjeh RA, Gaynes RP. Secular trend of hospital-acquired candidemia among intensive care unit patients in the United States during 1989-1999. *Clin Infect Dis* 2002 Sep 1; 35(5):627-30.
- (54) Baddley JW, Smith AM, Moser SA, Pappas PG. Trends in frequency and susceptibilities of *Candida glabrata* bloodstream isolates at a university hospital. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001 Mar; 39(3):199-201.
- (55) Testore GP, Falco F, Sarrecchia C, Sordillo P, Bontempo G, Andreoni M. Two-year surveillance on fluconazole susceptibility of *Candida* spp isolates in a general and university hospital in Rome. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001 Sep; 41(1-2):23-7.
- (56) Liebowitz LD, Ashbee HR, Evans EG, et al. A two year global evaluation of the susceptibility of *Candida* species to fluconazole by disk diffusion. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001 May; 40(1-2):27-33.
- (57) Karlowsky JA, Zhanel GG, Klym KA, Hoban DJ, Kabani AM. Candidemia in a Canadian tertiary care hospital from 1976 to 1996. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1997 Sep; 29(1):5-9.
- (58) Garbino J, Kolarova L, Rohner P, Lew D, Pichna P, Pittet D. Secular trends of candidemia over 12 years in adult patients at a tertiary care hospital. *Medicine (Baltimore)* 2002 Nov; 81(6):425-33.
- (59) Safdar A, Chaturvedi V, Cross EW, et al. Prospective study of *Candida* species in patients at a comprehensive cancer center. *Antimicrob Agents Chemother* 2001 Jul; 45(7):2129-33.
- (60) Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ, et al. Trends in species distribution and susceptibility to fluconazole among blood stream isolates of *Candida* species in the United States. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999 Apr; 33(4):217-22.
- (61) Pavese P, Brion JP, Lebeau B, Grillot R, Ambroise-Thomas P. Epidemiology of fungemia in an university Hospital; therapeutic incidence. 47(5), 579-583 ed. 1999.
- (62) Chakrabarti A, Ghosh A, Batra R, Kaushal A, Roy P, Singh H. Antifungal susceptibility pattern of non-albicans *Candida* species & distribution of

species isolated from Candidaemia cases over a 5 year period. Indian J Med Res 1996 Aug; 104:171-6.

- (63) Edwards JE, Jr., Montgomerie JZ, Ishida K, Morrison JO, Guze LB. Experimental hematogenous endophthalmitis due to *Candida*: species variation in ocular pathogenicity. J Infect Dis 1977 Feb; 135(2):294-7.
- (64) Calderone RA, Scheld WM. Role of fibronectin in the pathogenesis of candidal infections. Rev Infect Dis 1987 Jul; 9 Suppl 4:S400-S403.
- (65) King RD, Lee JC, Morris AL. Adherence of *Candida albicans* and other *Candida* species to mucosal epithelial cells. Infect Immun 1980 Feb; 27(2):667-74.
- (66) Lee JC, King RD. Characterization of *Candida albicans* adherence to human vaginal epithelial cells in vitro. Infect Immun 1983 Sep; 41(3):1024-30.
- (67) Wingard JR. Infections due to resistant *Candida* species in patients with cancer who are receiving chemotherapy. Clin Infect Dis 1994 Aug; 19 Suppl 1:S49-S53.
- (68) Edwards JE. *Candida* Species. 2 ed. Pennsylvania, USA: Churchill Livingstone, 2000:2656-74.
- (69) Tavares W. Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antiinfeciosos. Atheneu, 2001.
- (70) Sidrim J, Moreira J. Fundamentos Clínicos e Laboratoriais da Micologia Médica. Guanabara Koogan, 1999:36-44.
- (71) St Germain G. Impact of endpoint definition on the outcome of antifungal susceptibility tests with *Candida* species: 24- versus 48-h incubation and 50 versus 80% reduction in growth. Mycoses 2001; 44(1-2):37-45.
- (72) Tornatore MA, Noskin GA, Hacek DM, Obias AA, Peterson LR. Effects of incubation time and buffer concentration on in vitro activities of antifungal agents against *Candida albicans*. J Clin Microbiol 1997 Jun; 35(6):1473-6.
- (73) Revankar SG, Kirkpatrick WR, McAtee RK, et al. Interpretation of trailing endpoints in antifungal susceptibility testing by the National Committee for Clinical Laboratory Standards method. J Clin Microbiol 1998 Jan; 36(1):153-6.

- (74) Rex JH, Nelson PW, Paetznick VL, Lozano-Chiu M, Espinel-Ingroff A, Anaissie EJ. Optimizing the correlation between results of testing in vitro and therapeutic outcome in vivo for fluconazole by testing critical isolates in a murine model of invasive candidiasis. *Antimicrob Agents Chemother* 1998 Jan; 42(1):129-34.
- (75) Nguyen MH, Yu CY. Influence of incubation time, inoculum size, and glucose concentrations on spectrophotometric endpoint determinations for amphotericin B, fluconazole, and itraconazole. *J Clin Microbiol* 1999 Jan; 37(1):141-5.
- (76) Ostrosky-Zeichner L, Rex JH, Pappas PG, et al. Antifungal susceptibility survey of 2,000 bloodstream *Candida* isolates in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2003 Oct; 47(10):3149-54.
- (77) Colombo AL, Barchiesi F, McGough DA, Rinaldi MG. Comparison of Etest and National Committee for Clinical Laboratory Standards broth macrodilution method for azole antifungal susceptibility testing. *J Clin Microbiol* 1995 Mar; 33(3):535-40.
- (78) Espinel-Ingroff A. Etest for antifungal susceptibility testing of yeasts. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1994 Aug; 19(4):217-20.
- (79) Rex JH, Walsh TJ, Sobel JD, et al. Practice guidelines for the treatment of candidiasis. Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2000 Apr; 30(4):662-78.
- (80) Saag MS, Graybill RJ, Larsen RA, et al. Practice guidelines for the management of cryptococcal disease. Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2000 Apr; 30(4):710-8.
- (81) National Committee for Clinical Laboratory Standards N. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeast: Approved Standard M27-A2. Wayne, PA, USA: 2002.
- (82) Phillips P, Shafran S, Garber G, et al. Multicenter randomized trial of fluconazole versus amphotericin B for treatment of candidemia in non-neutropenic patients. Canadian Candidemia Study Group. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997 May; 16(5):337-45.
- (83) Wanke B, Lazera MS, Nucci M. Fungal infections in the immunocompromised host. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2000; 95 Suppl 1:153-8.

- (84) Marr KA. Antifungal therapy for febrile neutropenia: issues in clinical trial design. *Curr Opin Investig Drugs* 2004 Feb; 5(2):202-7.
- (85) Martino R, Viscoli C. Empirical antifungal therapy in patients with neutropenia and persistent or recurrent fever of unknown origin. *Br J Haematol* 2006 Jan; 132(2):138-54.
- (86) Corrêa RB, Rosso ALZ, Fonseca, BA. Manifestações Neurológicas da AIDS In: *Medicina Tropical : Abordagem Atual das Doenças Infecciosas e Parasitárias*:787-800. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2001.
- (87) Vazquez JA, Peng G, Sobel JD, et al. Evolution of antifungal susceptibility among *Candida* species isolates recovered from human immunodeficiency virus-infected women receiving fluconazole prophylaxis. *Clin Infect Dis* 2001 Oct 1; 33(7):1069-75.
- (88) Just G, Steinheimer D, Schnellbach M, Bottinger C, Helm EB, Stille W. Change of causative organisms under antifungal treatment in immunosuppressed patients with HIV-infections. *Mycoses* 1989; 32 Suppl 2:47-51.
- (89) Johnson EM, Warnock DW, Luker J, Porter SR, Scully C. Emergence of azole drug resistance in *Candida* species from HIV-infected patients receiving prolonged fluconazole therapy for oral candidosis. *J Antimicrob Chemother* 1995 Jan; 35(1):103-14.
- (90) Fichtenbaum CJ, Powderly WG. Refractory mucosal candidiasis in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis* 1998 Mar; 26(3):556-65.
- (91) Baran J, Jr., Muckatira B, Khatib R. Candidemia before and during the fluconazole era: prevalence, type of species and approach to treatment in a tertiary care community hospital. *Scand J Infect Dis* 2001; 33(2):137-9.
- (92) Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Hollis RJ, Messer SA. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and antifungal susceptibilities of isolates collected in 1997 in the United States, Canada, and South America for the SENTRY Program. The SENTRY Participant Group. *J Clin Microbiol* 1998 Jul; 36(7):1886-9.
- (93) Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, et al. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of

isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial surveillance program. *J Clin Microbiol* 2001 Sep; 39(9):3254-9.

- (94) Xisto Sena Passos et al. *Candida* colonization in intensive care unit patient's urine. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 2005, vol 100 (8):925-8.
- (95) Amanda Pliego-Castañeda, Antonio Yañez-Viguri, Tibúrcio López-Valle, Francisco Valdés de la Torre. Prevalencia y sensibilidad de *Candida albicans* en cultivos obtenidos en un hospital oncológico. *Gac Méd Méx* 2000; 136 (3):193-9.
- (96) Cuenca-Estrella M, Rodero L, Garcia-Effron G, Rodriguez-Tudela JL. Antifungal susceptibilities of *Candida* spp. isolated from blood in Spain and Argentina, 1996-1999. *J Antimicrob Chemother* 2002 Jun; 49(6):981-7.
- (97) Aquino VR, Lunardi LW, Goldani LZ, Barth AL. Prevalence, susceptibility profile for fluconazole and risk factors for candidemia in a tertiary care hospital in southern Brazil. *Braz J Infect Dis* 2005 Oct; 9(5):411-8.
- (98) Branchini ML, Aoki FH, Colombo AL, Taguchi H, Yamamoto K, Miyazi M. Effect of Antifungal Agents on *Candida* spp. and *Pichia anomala* Isolated from Oropharyngeal Candidiasis of AIDS Patients in a University Hospital in Brazil. *Braz J Infect Dis* 1998 Aug; 2(4):187-96.
- (99) Ribeiro MA, Paula CR, John R, Perfect JR, Cox GM. Phenotypic and genotypic evaluation of fluconazole resistance in vaginal *Candida* strains isolated from HIV-infected women from Brazil. *Med Mycol* 2005 Nov; 43(7):647-50.
- (100) Ribeiro MA, Dietze R, Paula CR, da Matta DA, Colombo AL. Susceptibility profile of vaginal yeast isolates from Brazil. *Mycopathologia* 2001; 151(1):5-10.
- (101) Colombo AL, Da Matta D, De Almeida LP, Rosas R. Fluconazole susceptibility of Brazilian *Candida* isolates assessed by a disk diffusion method. *Braz J Infect Dis* 2002 Jun; 6(3):118-23.
- (102) Girmenia C, Tuccinardi C, Santilli S, et al. In vitro activity of fluconazole and voriconazole against isolates of *Candida albicans* from patients with haematological malignancies. *J Antimicrob Chemother* 2000 Sep; 46(3):479-83.

- (103) Marr KA, Rustad TR, Rex JH, White TC. The trailing end point phenotype in antifungal susceptibility testing is pH dependent. *Antimicrob Agents Chemother* 1999 Jun; 43(6):1383-6.
- (104) Smith WL, Edlind TD. Histone deacetylase inhibitors enhance *Candida albicans* sensitivity to azoles and related antifungals: correlation with reduction in CDR and ERG upregulation. *Antimicrob Agents Chemother* 2002 Nov; 46(11):3532-9.
- (105) Ruhnke Mea. Comparative evaluation of three antifungal susceptibility test methods for *Candida albicans* isolates and correlation with response to fluconazole therapy. 34 ed. 200:3208-11.
- (106) Lee MK, Williams LE, Warnock DW, Arthington-Skaggs BA. Drug resistance genes and trailing growth in *Candida albicans* isolates. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53(2):217-24.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)