

Katherine da Silva Campos Prado

Infecção hospitalar fúngica: identificação fenotípica e perfil de susceptibilidade *in vitro* aos antifúngicos de leveduras do gênero *Candida* isoladas de pacientes internados nos hospitais universitários de Cuiabá - MT – Brasil

**Universidade Federal de Mato Grosso
Faculdade de Ciências Médicas
Programa de Pós-Graduação
Mestrado em Ciências da Saúde
Área de Concentração: Doenças Infecciosas e Tropicais**

**Cuiabá – Mato Grosso
2009**

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

**Universidade Federal de Mato Grosso
Faculdade de Ciências Médicas
Programa de Pós-Graduação
Mestrado em Ciências da Saúde
Área de Concentração: Doenças Infecciosas e Tropicais**

Infecção hospitalar fúngica: identificação fenotípica e perfil de susceptibilidade *in vitro* aos antifúngicos de leveduras do gênero *Candida* isoladas de pacientes internados nos hospitais universitários de Cuiabá- MT – Brasil

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Federal de Mato Grosso, como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências da Saúde**, Área de Concentração: Doenças Infecciosas e Tropicais.

Orientadora: Profa. Dra. Rosane Christine Hahn

**Cuiabá – Mato Grosso
2009**

FICHA CATALOGRÁFICA

P896i Prado, Katherine da Silva Campos

Infecção hospitalar fúngica: identificação fenotípica e perfil de susceptibilidade *in vitro* aos antifúngicos de leveduras do gênero *Candida* isoladas de pacientes internados nos hospitais universitários de Cuiabá-MT - Brasil / Katherine da Silva Campos Prado. – 2009.

xix, 95p. : il. ; color. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Ciências Médicas, Pós-graduação em Ciências da Saúde, Área de Concentração: Doenças Infecciosas e Tropicais, 2009.

“Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rosane Christine Hahn”.

1. Infecção hospitalar. 2. *Candida* – Antifúngicos. 3. Antifúngicos – Susceptibilidade *in vitro*. 4. Candidíase. I. Título.

CDU – 616-002.36

Ficha elaborada por: Rosângela Aparecida
Vicente Söhn – CRB-1/931

*Não sei o que possa parecer aos olhos do mundo,
mas aos meus pareço apenas ter sido como
uma menina brincando à beira-mar,
divertindo-me com o fato de encontrar
de vez em quando um seixo mais liso ou
uma concha mais bonita que o normal,
enquanto o grande oceano da ciência
permanece completamente por descobrir
à minha frente.*
Isaac Newton (modificado)

Dedico esta dissertação

Aos meus pais (Donizetti e Diva), que são meus exemplos de vida.

Às melhores irmãs do mundo (Karoline e Karine).

À minha orientadora Dra. Rosane Christine Hahn.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre esteve presente em minha vida, auxiliando e conduzindo os meus passos.

Aos meus pais, meu alicerce, pessoas mais importantes e especiais. Obrigada pela minha vida, pela educação, por nunca medirem esforços para que eu conseguisse alcançar meus objetivos, amor concedido, carinho, amizade, confiança e principalmente, por estarem ao meu lado sempre. Obrigada por tudo. Amo muito vocês!

A minhas irmãs, pela força, paciência, companheirismo, confiança, por serem carinhosas, amigas e compreensivas. Agradeço a Deus por ter colocado vocês em minha vida. Obrigada por tudo. Amo vocês!

A minha orientadora, Prof^ª. Dra. Rosane, a quem muito devo de minha formação. Obrigada pela confiança em mim depositada, por ter me dado a oportunidade para a realização deste sonho, pelo estímulo, motivação, por dividir seus conhecimentos e tão bem me orientar.

A Profa Dra Claudete Rodrigues Paula e toda a sua equipe por toda a colaboração na execução deste trabalho, e especialmente por nos incentivar ao início da linha de pesquisa em infecções fúngicas hospitalares.

Ao Hospital Universitário Júlio Müller e ao Hospital Geral Universitário que proporcionaram a execução deste trabalho.

Ao Programa de Pós Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Federal de Mato Grosso (FCM/UFMT), pela oportunidade em conceder-me o Mestrado em Ciências da Saúde e às secretarias da pós-graduação e da FCM.

Ao Laboratório de Investigação (FCM/UFMT), pela estrutura fornecida para o desenvolvimento desta pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT), pelo apoio financeiro a este trabalho.

Aos meus professores do curso de pós-graduação, pela imensa contribuição em meu aprendizado através das disciplinas.

Ao Prof. Dr. Cor Jesus, pelo apoio, sugestões e colaborações nas análises estatísticas.

A Tomoko Tadano, pelos isolados cedidos para a realização deste trabalho.

A mestre e amiga Luciana Basili Dias, pela paciência, por ter dividido seus conhecimentos, pela amizade, atenção e estímulo.

A amiga Naiana Fernandes Leotti, pela amizade, carinho, conselhos, constante motivações e ajuda neste trabalho. Obrigada por estar ao meu lado nos momentos difíceis, mostrando-se como uma grande amiga.

A mestre e amiga Daciene de Arruda Grossklaus, pela alegria, carinho, amizade e ajuda para a realização deste trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Investigação/UFMT – Ana Carolina, Dacie, Diniz, Janaína, Marta, Naiana, Nilson, Olívia, Ricardo, Sara e Sebastião, pela convivência e troca de experiências.

Aos técnicos, Marta, Nicolina e Nilson, pela amizade e ajuda técnica.

As médicas, Carla, Helane, Paula e Tássia, pela ajuda no levantamento dos prontuários.

A minha grande amiga Dra. Flávia Galindo Silvestre Silva, pela amizade, carinho, estímulo, confiança em mim depositada, pelos sábios conselhos, pelo sorriso contagiante, pela ajuda no desenvolvimento e entendimento profissional e pessoal. Obrigada por não medir esforços em me ajudar.

Aos meus coordenadores do Laboratório Forense, Alessandra Paiva Puertas Alves e Reginaldo Rossi do Carmo, pela compreensão, amizade e confiança em mim depositada.

Ao meu primo Maurício Prado Catharino (meu irmão) pela confiança, pelas palavras de carinho, amizade e pela ajuda na realização deste sonho.

Ao Eduardo Vessoni, pelo apoio e amizade concedida.

Aos tios (as) e primos (as) por existirem em minha vida, pelo abraço de conforto e sempre torcerem pelo meu sucesso.

A minha amiga Marina Said Brenner, por estar sempre ao meu lado.

A Maristela da Silva, pelo estímulo, amizade e paciência.

A Camila Gonçalves, pela ajuda em meu crescimento pessoal.

A todos que me ajudaram direta ou indiretamente para realização deste trabalho.

RESUMO

Este estudo teve como objetivo identificar fenotipicamente leveduras do gênero *Candida* isoladas de pacientes internados nos Hospitais Universitários em Cuiabá – MT e avaliar o perfil das mesmas em relação à susceptibilidade *in vitro* aos antifúngicos.

Após o isolamento e pureza das colônias em meio CHROMagar, foram realizadas as identificações das espécies de leveduras do gênero *Candida* através da metodologia clássica: prova do tubo germinativo, auxanograma, zimograma e microcultivo. Para avaliar a susceptibilidade *in vitro* foram utilizadas fitas comercialmente disponíveis impregnadas com gradiente de concentração de antifúngicos (Etest - AB Biodisk). Para leitura, utilizou-se como critério os valores para detecção de susceptibilidade *in vitro* preconizados para leveduras do gênero *Candida* (CLSI/2008).

Um total de 89 amostras foram obtidas de pacientes internados nos hospitais universitários de Cuiabá.

Em relação às doenças de base, condições associadas e procedimentos invasivos, neoplasia (24,2%), antibioticoterapia (89,4%) e sonda vesical (75,7%) foram as mais frequentes.

Das 89 amostras, 45 foram correspondentes a urina, 27 a sangue, 13 a ponta de cateter, 2 a lavado broncoalveolar e 2 a secreções. *C. tropicalis* foi a espécie mais frequente em ambos os hospitais, perfazendo 40 isolados. A UTI adulto foi o local de internação com maior número de isolamentos. Em hemoculturas, a espécie *C. albicans* (42,0%) foi a mais isolada

Em relação à susceptibilidade *in vitro*, 100% dos isolados mostraram-se susceptíveis à anfotericina B.

Quanto aos azólicos, *C. albicans* apresentou 10 (32,2%) isolados resistentes ao fluconazol, cetoconazol e voriconazol e 9 (29,0%) resistentes ao itraconazol. *C. tropicalis* apresentou 14 (35,0%) isolados resistentes ao itraconazol e voriconazol, 16 (40,0%) ao fluconazol e 13 (32,5%) resistentes ao cetoconazol. A espécie *C. glabrata* apresentou 3 (100%) resistentes ao itraconazol e 1 (33,3%) isolado resistente ao fluconazol, cetoconazol e voriconazol. Já, *C. parapsilosis* apresentou 2 (14,3%) dos isolados resistentes aos quatro azólicos, e *C. rugosa* apresentou 100% de susceptibilidade ao cetoconazol, itraconazol e voriconazol, sendo susceptível dose dependente ao fluconazol.

Em síntese, foi observado que *C. albicans* foi a espécie mais isolada em hemoculturas, e *C. tropicalis* esteve associada aos demais materiais clínicos (urina, lavado broncoalveolar, ponta de cateter e secreções).

Considerando a susceptibilidade *in vitro*, foram detectados vários isolados resistentes aos diferentes azólicos, e susceptibilidade absoluta à anfotericina B.

ABSTRACT

The study conducted phenotypical identification of yeasts of the *Candida* genus isolated from patients admitted to university hospitals in Cuiabá, MT, and evaluated the profiles of the same in relation to their susceptibility *in vitro* to antifungal drugs.

Following colony isolation and purification in CHROMagar medium, species identification of *Candida* yeasts was conducted using the classic methodology: germinative tube test, auxanogram, zymogram and microculture. To determine susceptibility *in vitro*, commercially available gradient strips with increasing antifungal drug concentrations were used (Etest, AB Biodisk). Test readings were conducted according to the recommended criteria for detecting susceptibility *in vitro* for yeasts of the *Candida* genus (CLSI/2008).

A total of 89 samples were obtained from patients admitted to university hospitals in Cuiabá.

Neoplasia (24.2%), antibiotic therapy (89.4%) and vesicle probe (75.7%) were, respectively, the most frequent primary diseases, associated conditions and invasive procedures registered.

Of the 89 samples, 45 corresponded to urine collection, 27 were blood specimens, 13 were catheter tip specimens, 2 were obtained by bronchoalveolar lavage and 2 were secretions. *C. tropicalis* was the most frequently isolated species in both hospitals, totaling 40 isolates. The adult ICU was the hospital unit with the highest number of isolations. *C. albicans* (42.0%) was the most frequently identified isolate in hemocultures.

Regarding susceptibility *in vitro*, 100% of the isolates were susceptible to amphotericin B. In relation to azolic antifungal drugs, 10 *C. albicans* isolates (32.2%) were resistant to fluconazole, ketoconazole and voriconazole and 9 (29.0%) were resistant to itraconazole. Among *C. tropicalis* isolates, 14 (32.5%) were resistant to itraconazole and voriconazole, 16 (40.0%) to fluconazole and 13 (32.5%) to ketoconazole. For the species *C. glabrata*, 3 isolates (100%) were resistant to itraconazole and 1 was resistant to fluconazole, ketoconazole and voriconazole. The species *C. parapsilosis* presented 2 resistant isolates (14.3%) and *C. rugosa* presented 100% susceptibility to itraconazole, ketoconazole and voriconazole and showed dose-dependent susceptibility to fluconazole.

In summary, the study determined that *C. albicans* was the most common isolate in hemocultures and *C. tropicalis* was associated with the remaining clinical materials (urine, bronchoalveolar lavage and catheter tip specimens and secretions). Concerning susceptibility

in vitro, several isolates resistant to azolic antifungal drugs were detected; however, all isolates were susceptible to amphotericin B.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE FIGURAS	xv
LISTA DE ABREVIATURAS	xvii
1 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA	01
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	04
2.1 Infecção hospitalar	07
2.2 Fatores de virulência	12
2.3 Drogas antifúngicas	15
2.3.1 Polienos	15
2.3.2 Derivados azólicos	17
2.4 Susceptibilidade aos antifúngicos	21
3 OBJETIVOS	24
3.1 Objetivo geral	25
3.2 Objetivos específicos	25
4 METODOLOGIA	26
4.1 Seleção de pacientes	27
4.1.1 Definição de caso de infecção hospitalar fúngica	27
4.1.2 Aspectos éticos	27
4.2 Isolamento da colônia fúngica	28
4.3 Identificação das espécies de leveduras do gênero Candida	28
4.3.1 Avaliação quanto à pureza	28
4.3.2 Pesquisa do tubo germinativo	29
4.3.3 Microcultivo (Técnica de Ridell)	29
4.3.4 Provas bioquímicas	31
4.3.4.1 Zimograma	31
4.3.4.2 Auxanograma	32
4.4 Teste de susceptibilidade aos antifúngicos: cetoconazol, fluconazol, itraconazol, voriconazol e anfotericina B	35
4.4.1 Metodologia comercial Etest	35
4.5 Procedimentos de análise dos resultados	35
5 RESULTADOS	36
5.1 Infecção hospitalar na unidades avaliadas	37

5.2	Isolamento das colônias fúngicas provenientes dos pacientes com infecção hospitalar	37
5.3	Caracterização dos pacientes com infecção hospitalar fúngica	37
5.3.1	<i>Perfil demográfico dos pacientes com infecção hospitalar fúngica</i>	37
5.3.2	<i>Doenças de base, condições associadas e procedimentos invasivos nos pacientes internados nos hospitais universitários de Cuiabá – MT, 2006-2008.....</i>	38
5.4	Identificação das espécies	40
5.5	Determinação da concentração inibitória mínima de cinco drogas antifúngicas testadas para leveduras do gênero Candida isoladas de pacientes internados com infecção hospitalar em dois hospitais universitários de Cuiabá MT	50
5.5.1	<i>Etest</i>	51
5.5.2	<i>Variação do perfil de susceptibilidade obtido pela metodologia comercial Etest</i>	56
6	DISCUSSÃO	59
7	CONCLUSÕES	69
8	PERSPECTIVAS	71
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
10	ANEXO	90
11	APÊNDICES	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Caracterização macro e micromorfológicas das espécies de leveduras do gênero <i>Candida</i>	30
Tabela 2 -	Perfil bioquímico (assimilação e fermentação) das espécies de leveduras do gênero <i>Candida</i> segundo Kwon-Chung & Bennett 1992; Kurtzamn & Fell, 1998	34
Tabela 3 -	Dados demográficos dos 66 pacientes internados nos hospitais universitários de Cuiabá-MT, 2006-2008	38
Tabela 4 -	Distribuição dos pacientes internados nos hospitais universitários de Cuiabá-MT, 2006-2008 quanto às doenças de base	39
Tabela 5 -	Condições clínicas associadas entre os pacientes internados nos hospitais universitários de Cuiabá-MT, 2006-2008.....	39
Tabela 6 -	Distribuição quanto aos procedimentos invasivos dos pacientes internados nos hospitais universitários de Cuiabá-MT, 2006-2008	40
Tabela 7 -	Variações das concentrações inibitórias mínimas (CIM), CIM ₅₀ e CIM ₉₀ de cinco drogas antifúngicas testadas contra isolados de <i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. glabrata</i> e <i>C. rugosa</i> em pacientes internados nos hospitais universitários, determinadas pela metodologia comercial Etest ...	53
Tabela 8 -	Perfis de susceptibilidade <i>in vitro</i> de isolados de leveduras do gênero <i>Candida</i> em pacientes internados nos hospitais universitários utilizando metodologia Etest	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Colônias de leveduras do gênero <i>Candida</i> coradas pela técnica de Gram	41
Figura 2 -	Plaqueamento de colônias de leveduras do gênero <i>Candida</i> em meio CHROMagar	41
Figura 3 -	Presença de tubo germinativo de levedura da espécie <i>Candida albicans</i>	42
Figura 4 -	Teste de assimilação de carboidratos com leveduras do gênero <i>Candida</i>	42
Figura 5 -	Teste de fermentação de carboidratos, evidenciando fermentação e formação de gás em glicose, maltose, galactose e trealose com leveduras do gênero <i>Candida</i>	43
Figura 6 -	Aspecto micromorfológico de levedura da espécie <i>C. tropicalis</i>	44
Figura 7 -	Aspecto micromorfológico de levedura da espécie <i>C. albicans</i>	44
Figura 8 -	Aspecto micromorfológico de levedura da espécie <i>C. parapsilosis</i>	45
Figura 9 -	Aspecto micromorfológico de levedura da espécie <i>C. glabrata</i>	45
Figura 10 -	Aspecto micromorfológico de levedura da espécie <i>C. rugosa</i>	46
Figura 11 -	Identificação das espécies de leveduras do gênero <i>Candida</i> em amostras biológicas de pacientes internados nos hospitais universitários de Cuiabá-MT, 2006-2008	46
Figura 12 -	Quantidade de amostras distribuídas por unidade de internação dos pacientes internados nos hospitais universitários de Cuiabá-MT, 2006-2008	47
Figura 13 -	Distribuição das espécies de leveduras do gênero <i>Candida</i> identificadas em hemoculturas dos hospitais universitários de Cuiabá-MT, 2006-2008	48
Figura 14 -	Distribuição das espécies de leveduras do gênero <i>Candida</i> identificadas em outros espécimens clínicos nos hospitais universitários de Cuiabá-MT, 2006-2008	49
Figura 15 -	Distribuição das espécies de leveduras do gênero <i>Candida</i> identificadas por unidade de internação em pacientes internados nos hospitais universitários de Cuiabá-MT, 2006-2008	50
Figura 16 -	Distribuição dos valores de CIM de cetoconazol (A) e fluconazol (B)	

	frente às espécies de leveduras do gênero <i>Candida</i> , isoladas de pacientes com infecção hospitalar fúngica, hospitais universitários, Cuiabá (MT), 2006-2008	54
Figura 17 -	Distribuição dos valores de CIM de itraconazol (A) e voriconazol (B) frente às espécies de leveduras do gênero <i>Candida</i> , isoladas de pacientes com infecção hospitalar fúngica, hospitais universitários, Cuiabá (MT), 2006-2008	55
Figura 18 -	Distribuição dos valores de CIM de anfotericina B frente às espécies de leveduras do gênero <i>Candida</i> , isoladas de pacientes com infecção hospitalar fúngica, hospitais universitários, Cuiabá (MT), 2006-2008 ..	56

LISTA DE ABREVIATURAS

% - por cento

α – alfa

β – beta

° C - graus Celsius

10^6 - 1.000.000

AIDS - Síndrome da imunodeficiência adquirida

AMB – Anfotericina B

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATCC – American Type Culture Collection

C. albicans – *Candida albicans*

C. dubliniensis – *Candida dubliniensis*

C. grabrata – *Candida grabrata*

C. guilliermondii – *Candida guilliermondii*

C. krusei – *Candida krusei*

C. lusitaniae – *Candida lusitaniae*

C. pseudotropicalis – *Candida pseudotropicalis*

C. tropicalis – *Candida tropicalis*

CEP – Comitê de ética em pesquisa

CIM – Concentração inibitória mínima

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute

CTZ – Cetoconazol

dL – Decilitro

DMSO – Dimetilsulfóxido

ELISA – Enzyme-linked immunosorbent assay

EUA – Estados Unidos da América

FCZ - Fluconazol

FDA – Food and drug administration

GAL – Galactose

GLI – Glicose

G.O - Ginecologia e Obstetrícia

HIV - Human immunodeficiency vírus

IC – Intervalo de confiança

IH – Infecção hospitalar
IHF – Infecção hospitalar fúngica
ITU – Infecção do trato urinário
ITZ - Itraconazol
Kg – Kilograma
KH₂PO₄ – Fosfato de potássio monobásico
KOH – Hidróxido de potássio
L – Litro
LAC – Lactose
LBA – Lavado broncoalveolar
MAL – Maltose
MEL - Melibiose
Min. - Minutos
µg – Microgramas
mg – Miligramas
MgSO₄.7H₂O – Sulfato de magnésio hepta hidratado
mL – Mililitro
mm – Milímetro
mol – Quantidade de matéria
MT – Mato Grosso
NCCLS – National Committee for Clinical Laboratory Standards
nm – Nanômetro
pH - Potencial hidrogeniônico
R – Resistente
RAF – Rafinose
RAPD – Randomly amplified polymorphic DNA
RN – Recém-nascido
RPMI-1640 – Meio Roswell Park Memorial Institute - 1640
S – Susceptível
SAC – Sacarose
SDD – Susceptível dose-dependente
TRE - Trealose
UFC – Unidade formadora de colônia
UTI – Unidade de terapia intensiva

XIL – Xilose

1. RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

Candidíases são infecções fúngicas predominantemente endógenas e de caráter oportunista. As leveduras do gênero *Candida* incluem aproximadamente 200 espécies, dentre as quais *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *C. dubliniensis*, *C. famata*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. lambica*, *C. lipolytica*, *C. lusitaniae* e *C. rugosa* estão associadas com candidíase no homem e/ou animais.

A candidíase pode ocorrer pelo rompimento do equilíbrio parasita-hospedeiro, que pode ser desencadeado pelas alterações das barreiras teciduais, da microbiota autóctone e da resposta imune.

Alterações na superfície da pele ou mucosa possibilitam a proliferação ou mudança do sítio anatômico da levedura contribuindo para a instalação de leveduras do gênero *Candida* no organismo do hospedeiro. Esse fator é comum em pacientes que sofrem constantemente traumatismo devido a procedimentos invasivos, como sondas e cateteres, e em pacientes com extensas queimaduras.

Espécies de leveduras do gênero *Candida*, especialmente *C. albicans*, consideradas como pertencentes à microbiota autóctone humana, de orofaringe, dobras da pele, secreções brônquicas, vagina, urina e fezes podem, em determinadas circunstâncias tais como uso de antibioticoterapia prolongada, proliferarem desencadeando infecção. Pacientes de Unidade de Terapia Intensiva (UTI), que geralmente recebem altas doses de antibióticos, tornam-se mais propensos ao desenvolvimento de infecção por estas leveduras.

O aumento da incidência das infecções fúngicas nosocomiais nas últimas décadas, faz com que esse tema seja abordado por muitos pesquisadores. O registro de incidência dessas infecções é observado principalmente em indivíduos imunocomprometidos, como pacientes com AIDS, transplantados de medula óssea e órgãos sólidos, naqueles submetidos à quimioterapia e os que permanecem longos períodos em hospitais essencialmente nos pacientes de UTI. Aliados a uma série de procedimentos invasivos muitas vezes necessários ao manejo das doenças de base destes pacientes, vêm sendo associada à progressiva emergência de várias infecções fúngicas, tanto superficiais quanto sistêmicas, muito mais frequentes nestes grupos de indivíduos. A maior sobrevida detectada nesses indivíduos induz uma infecção oportunista como a candidíase. Em pacientes imunocomprometidos com granulocitopenia acentuada, há um risco maior de infecção sistêmica por leveduras do gênero *Candida*, como a candidemia.

A identificação da espécie de leveduras do gênero *Candida*, nos últimos anos, tem-se mostrado de grande importância, pois tem sido verificada uma tendência de mudança

de etiologia da candidíase. Apesar de *C. albicans* ser o agente etiológico mais comumente identificado, espécies não-albicans, têm-se mostrado predominantes.

O tratamento rápido de candidíase, provavelmente faz com que ocorra diminuição dos casos de mortalidade. A eficácia dos agentes antifúngicos pode ser detectada através da realização prévia de susceptibilidade *in vitro*, pois há alguns microorganismos que podem ser resistentes aos diferentes antifúngicos. Tem sido descrito que há uma concordância *in vitro* e *in vivo* dos resultados de susceptibilidade, principalmente quando se refere à detecção de resistência.

Há vários fatores que interferem na aquisição de candidíase nos pacientes de UTI e imunocomprometidos. Eliminar os fatores endógenos é uma tarefa difícil, mas fatores exógenos podem perfeitamente ser contornados, o que provavelmente evitaria vários casos de candidíase nosocomial.

No Estado de Mato Grosso não foram encontrados registros referentes à trabalhos associados ao esclarecimento de infecções hospitalares de origem fúngica. Portanto, este trabalho teve como proposta em casos confirmados de infecções fúngicas hospitalares, realizar identificação fenotípica das leveduras consideradas agentes causais destas infecções, além da determinação do perfil de susceptibilidade *in vitro* aos antifúngicos. Vale ressaltar que diante do cenário nacional, os dados obtidos provenientes dos hospitais universitários em Cuiabá – MT, constituem ferramenta importante para o conhecimento do perfil epidemiológico destas unidades hospitalares, assim como identificar o comportamento *in vitro* destas cepas frente aos antifúngicos utilizados, inclusive empíricamente (fluconazol).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As leveduras do gênero *Candida* possuem distribuição universal podendo ser encontradas em homens ou animais, solos, água, vegetais, alimentos e em diversos ambientes, inclusive hospitalares (Odds, 1988a; Komshian *et al.*, 1989; Paula *et al.*, 1990; Lacaz *et al.*, 1991; Branchini *et al.*, 1995).

Leveduras do gênero *Candida* são classificadas no Reino Fungi, como membros do Phylum Ascomycota, divisão Deuteromycetes, ordem Saccharomycetales, família Saccharomycetaceae (Alexopoulos *et al.*, 1996). O gênero *Candida* compreende aproximadamente 200 espécies que se reproduzem assexuadamente por brotamento. Essas leveduras possuem tanto a capacidade fermentativa quanto assimilativa, sendo capazes de crescer em uma variedade de substratos orgânicos (Segal & Baum, 1994). A maioria das espécies patogênicas cresce muito bem em cultivos aeróbios, embora possa crescer também em elevadas concentrações de gás carbônico atmosférico e em meios pobres ou ricos em nutrientes, com um pH entre 2,5 e 7,5 e temperatura entre 20°C e 38°C sendo classificadas como mesófilas. Quase todas as espécies do gênero requerem biotina para o crescimento e algumas delas exigem um suplemento vitamínico mais elaborado (Odds, 1988a). Algumas espécies têm a propriedade de formar estruturas filamentosas, como hifas e pseudo-hifas, sendo esta característica um obstáculo à fagocitose, principal mecanismo de defesa contra as infecções (Lacaz *et al.*, 1991).

São microorganismos predominantemente unicelulares e imóveis e congregam um grupo funcional de organismos heterotróficos que colonizam substratos contendo fontes de carbono (Kurtzman & Fell, 1998).

As leveduras do gênero *Candida* têm grande importância pela alta frequência com que colonizam e infectam o hospedeiro humano. Espécies de *Candida* são encontradas no tubo gastrointestinal em 20 a 80% da população adulta saudável. Entre as mulheres, cerca de 20 a 30% apresentam colonização por *Candida* na vagina. Estes microorganismos comensais tornam-se patogênicos caso ocorram alterações nos mecanismos de defesa do hospedeiro ou o comprometimento de barreiras anatômicas secundariamente a queimadura ou procedimentos médicos invasivos. Alterações dos mecanismos de defesa do hospedeiro podem ser decorrentes de mudanças fisiológicas características da infância (prematuridade) e envelhecimento ou mais frequentemente, associadas a doenças degenerativas, neoplásicas, imunodeficiências congênitas ou adquiridas e imunodepressão induzida por atos médicos (Dignani *et al.*, 2003).

Infecções por *Candida* envolvem um espectro amplo de doenças superficiais e invasivas, acometendo pacientes expostos a uma grande diversidade de fatores de risco.

Infecções de pele e mucosas podem ser documentadas em pacientes saudáveis, mas com pequenas alterações locais de resposta do hospedeiro no sítio da infecção por *Candida*, a exemplo de mulheres que desenvolvem candidíase vaginal. Por outro lado, infecções sistêmicas por *Candida* podem comprometer vísceras como resultado de disseminação hematogênica da levedura pelo organismo, complicações infecciosas estas geralmente documentadas em pacientes críticos, portadores de doenças degenerativas e/ou neoplásicas (Dignani *et al.*, 2003).

Entre as infecções invasivas causadas pelo gênero *Candida*, vale salientar a relevância clínica dos casos de infecção de corrente sanguínea, complicação esta conhecida como candidemia ou candidíase hematogênica. Na verdade, o termo candidíase hematogênica engloba um espectro amplo de situações clínicas, incluindo desde episódios isolados de candidemia até casos onde o fungo presente na corrente sanguínea dissemina-se para um ou vários órgãos do hospedeiro infectado. Considerando-se que a maior parte dos dados publicados sobre infecções hematogênicas por *Candida* referem-se a candidemia, este será o termo utilizado na maior parte deste artigo (Colombo, 2000).

Até alguns anos atrás, *Candida albicans* era a espécie de maior interesse clínico, contudo, paralelamente ao aumento geral das infecções, observou-se aumento das espécies não-*albicans* como: *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. pseudotropicalis* (ou *C. kefyr*) e *C. lusitaniae* (ou *C. rugosa*) (Gudlaugsson *et al.*, 2003).

C. dubliniensis foi reconhecida como uma nova espécie cujas características morfológicas e bioquímicas são muito semelhantes à *C. albicans*, aparentemente essa espécie emergente é menos patogênica que a *C. albicans*, mas tem maior facilidade de desenvolver resistência aos azólicos (Tortorano *et al.*, 2004; Moreira, 2005).

As leveduras do gênero *Candida* fazem parte da microbiota da pele, das mucosas, do trato digestivo e geniturinário humano ou de animais, encontrando-se também saprofiticamente em plantas, objetos inanimados e no meio ambiente (Lópes Dupla *et al.*, 1997; Galván & Mariscal, 2006).

Independente do potencial patogênico de diferentes espécies do gênero *Candida*, é observado que as doenças determinadas por essas leveduras se constituem em quadros infecciosos essencialmente oportunistas, ocorrendo sempre em associações com alguma condição mórbida subjacente. Uma série de fatores predisponentes vem sendo associada à ocorrência das candidíases, podendo ser agrupados àqueles inerentes ao hospedeiro e, por outro, naqueles extrínsecos, ou referentes aos procedimentos médicos iatrogênicos (Odds, 1988a; Rippon, 1988; Lacaz *et al.*, 1991; Kwon-Chung & Bennet, 1992;).

Quando há ruptura do equilíbrio, local ou imunológico, leveduras do gênero *Candida* passam do estado saprofito para o patogênico, podendo formar pseudo-hifas, invadir tecidos e provocar candidíase, ocasionando sintomas indesejáveis (Fidel, 2002).

As infecções causadas por tais leveduras representam um grave problema nos hospitais e têm emergido como importantes causas de morbidade e mortalidade em pacientes comprometidos (Kauffman *et al.*, 2000; Angus, 2001; Zaoutis *et al.*, 2005; Ruiz, 2005).

2.1 INFECÇÃO HOSPITALAR

As infecções hospitalares (IH) constituem graves problemas de saúde pública, e o período de 72 hs é definidor de IH. Estão entre as principais causas de morbidade e mortalidade, acarretando um aumento no tempo de hospitalização e, conseqüentemente, gerando elevados custos adicionais para o tratamento do doente (Barchiesi *et al.*, 2004).

Os Centros de Controle de Doenças (CDC – EUA) definem como infecção nosocomial aquela que não está incubada nem presente à admissão no hospital. O diagnóstico da presença e localização é dado pelo conjunto de dados clínicos e laboratoriais. O tempo de acompanhamento do paciente para que se defina a infecção será de até 48 horas após a alta do CTI; 30 dias após cirurgia sem colocação de prótese ou 1 ano após a cirurgia com colocação de prótese. Qualquer infecção de neonato ocorrida até o 28º dia de vida é classificada como hospitalar, desde que a via de aquisição não seja transplacentária (Couto & Pedrosa, 2004).

A aquisição de uma infecção hospitalar depende de uma complexa interação entre o hospedeiro susceptível e o agente infeccioso. Os fatores referentes ao patógeno incluem dose do inóculo suficiente para causar infecção, fatores relacionados à patogenicidade e infectividade (Ghonnoum & Abu-Elteen, 1990). Além da unidade hospitalar e dos mecanismos fisiopatológicos, envolvendo o paciente, fatores relacionados ao microrganismo infectante são de relevante importância para o agravamento da infecção hospitalar adquirida (Hota, 2004).

Nas últimas décadas houveram numerosos avanços na tecnologia na área médica, representados pela introdução de diversos métodos diagnósticos e novas técnicas cirúrgicas, disponibilidade de novos biomateriais para próteses, sondas e cateteres, avanços na quimioterapia de tumores, desenvolvimento de novos antibióticos e técnicas de transplante de órgãos. Estes avanços possibilitaram a maior sobrevivência de doentes críticos. Tais pacientes, frequentemente internados em unidades de terapia intensiva (UTIs), quando submetidos a

procedimentos invasivos, quimioterapia ou antibioticoterapia, apresentam maior risco para aquisição de infecções nosocomiais, particularmente infecção fúngica. Estes microrganismos, em outras épocas frequentemente consideradas contaminantes ou colonizantes, passaram a ter características oportunistas, tendo sido responsável por surtos de infecções hospitalares também por causarem infecção de alta letalidade, particularmente nos imunossuprimidos, onde se apresentam como infecção rapidamente progressiva, de difícil diagnóstico e refratária a terapêutica (Araújo & Colombo, 1998).

A incidência de infecção hospitalar por fungo tem aumentado substancialmente nas últimas décadas acarretando alto índice de mortalidade, sendo responsável por até 60% das ocorrências de mortes causadas pelas mesmas (Hota, 2004). As causas para o acréscimo do risco de IHS em UTIs têm sido relacionadas com aumento no tempo de internamento nas UTIs, procedimentos invasivos, pacientes com sistema imunológico deprimido e exposição múltipla a antibióticos (Meric *et al.*, 2005). Outros aspectos relevantes a serem considerados, em relação aos episódios de infecção fúngica, é o custo decorrente do atendimento ao paciente (Gudlaugsson *et al.*, 2003).

A maioria das IHS são causadas por microrganismos da microbiota normal, com baixo potencial de virulência, que agridem o doente em situações especiais (Tamura *et al.*, 2003). Nesses pacientes, considerados de risco, micoses invasivas são frequentemente severas, com rápida progressão e dificuldade no diagnóstico ou tratamento (Ruiz *et al.*, 2005).

As infecções causadas por leveduras do gênero *Candida* podem ser adquiridas por via endógena, onde o indivíduo já é colonizado pelo microrganismo que faz parte da microbiota normal do indivíduo, mas em condições diversas pode haver a translocação e proliferação do patógeno através do trato gastrointestinal para diferentes sítios anatômicos, ocasionando a infecção. A via exógena pode ocorrer através do contato das mãos dos profissionais de saúde com pacientes ou ainda através de cateteres, implante de prótese, bem como a administração parenteral de soluções contaminantes (Bonassoli *et al.*, 2005).

As manifestações clínicas das infecções nosocomiais podem apresentar-se sob diversas formas: infecção de corrente sanguínea (fungemia), infecção de trato urinário (ITU), infecção de ferida cirúrgica, abscesso cutâneo relacionado à inserção de cateter, infecção de músculo cardíaco, entre outras (Fried *et al.*, 1999; Christensen *et al.*, 2000; Jarvis, 2002).

Embora a maioria das infecções seja causada pela espécie *C. albicans*, vários dados mostram um aumento de outras espécies do gênero *Candida*, causando infecção, tais como: *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* e *C. dubliniensis* (Nucci *et al.*, 1998; Matsumoto *et al.*, 2001; Gudlaugsson *et al.*, 2003).

A razão para essa inversão no padrão de distribuição das espécies ainda não foi completamente elucidada, podendo estar fortemente relacionada com o potencial de virulência e a resistência desses microrganismos a antifúngicos (Moreira, 2005).

Candida albicans é, sem dúvida alguma a espécie mais frequentemente isolada de infecções superficiais e invasivas em diferentes sítios anatômicos e em casuística de todas as partes do mundo. Trata-se de leveduras com potencial patogênico bastante conhecido, apresentando como principais fatores de patogenicidade e virulência a capacidade de aderência a diferentes mucosas e epitélios, o dimorfismo com a produção de estruturas filamentosas que auxiliam a invasão tissular, a termotolerância significativa, e a produção de enzimas como fosfolipases e proteinases (Colombo & Guimarães, 2003).

Recentemente, *C. dubliniensis* foi reconhecida como uma nova espécie que compartilha várias características fenotípicas com a *C. albicans*, sendo necessária a utilização de métodos moleculares para diferenciá-las. Esta nova espécie foi descrita inicialmente na Irlanda, onde 17 a 35 % dos pacientes com infecção por HIV/AIDS são colonizados ou infectados por este agente em cavidade oral. Em estudo realizado com 548 amostras de leveduras armazenadas no banco de leveduras do Laboratório Especial de Micologia, UNIFESP, verificou-se que 2% das amostras armazenadas originalmente como *C. albicans* eram na verdade *C. dubliniensis*. Aparentemente, esta espécie emergente é menos patogênica que *C. albicans* (Milan *et al.*, 2001; Colombo & Guimarães, 2003).

Candida tropicalis possui considerável potencial biológico como agente oportunista quando o hospedeiro encontra-se neutropênico, quando há supressão da microbiota bacteriana pelo uso de antimicrobianos e danos na mucosa gastrointestinal. *C. tropicalis* tem sido relatada como o segundo ou terceiro agente etiológico mais comum de candidemia em pacientes com neoplasias, sendo sua frequência maior em leucemias e menor em tumores sólidos (Colombo & Guimarães, 2003).

Candida glabrata surge como um importante patógeno hospitalar, constituindo-se na segunda ou terceira espécie mais comum na maioria das séries de candidemia relatada nos

EUA e Europa (Colombo & Guimarães, 2003). No Brasil, constitui-se como a quarta causa de infecção hospitalar fúngica por leveduras. Esta espécie está associada tanto a casos de candidemia em pacientes mais idosos quanto em casos de candidúria (Maluche & Santos, 2008).

Candida parapsilosis apresenta-se, desde os anos 80, como um importante patógeno hospitalar de fungemia, sendo responsável por 7 a 15% das candidemias na maioria das séries publicadas nos EUA e Europa. Sua ocorrência é ainda maior em crianças e recém-nascidos prematuros internados em unidade de terapia intensiva, onde a prevalência de candidemia é de 17 a 50% dos casos. Caracteristicamente, *C. parapsilosis* prolifera-se em soluções contendo glicose, tem grande capacidade de produzir biofilme em superfície de cateteres e frequentemente coloniza a pele. Vários estudos estabelecem claramente uma associação entre a utilização de cateter venoso em posição central e maior ocorrência de fungemia por *C. parapsilosis* (Colombo & Guimarães, 2003; Bonassoli *et al.*, 2005; Gácsér *et al.*, 2007; França *et al.*, 2008).

Candida krusei tem-se mostrado como um patógeno hospitalar ocasional, particularmente, em pacientes portadores de doenças hematológicas malignas e/ou submetidos a transplante de medula óssea. Alguns autores relatam aumento da ocorrência de fungemias causadas por *C. krusei* em pacientes neutropênicos expostos prolongadamente ao fluconazol (Colombo & Guimarães, 2003; Castro *et al.*, 2006). Ao ser comparada com infecções causadas por outras espécies de leveduras do gênero *Candida*, aquelas causadas por *C. krusei* são associadas com a maior taxa de mortalidade (30-60%) (Cantón *et al.*; 2008).

Candida lusitanae é uma levedura pouco frequente como agente causador de doenças invasivas, mas tem sido relatada como agente de candidemia em pacientes imunocomprometidos. De um total de 86 casos descritos de doenças invasivas por esta espécie, 70 foram identificadas em pacientes com câncer (Colombo & Guimarães, 2003).

Infecções invasivas por *Candida guilliermondii* são ainda infrequentes, mas esta espécie vem sendo reconhecida por diferentes autores como agente emergente. A maioria de casos descritos relaciona-se a pacientes com câncer (Colombo & Guimarães, 2003; Castro *et al.*, 2006).

Oliveira *et al.* (2001) realizaram um estudo prospectivo em hospitais americanos no período 1980-1990 e constataram que a incidência de fungemia aumentou 0,1/1000

pacientes para 0,5/1000 pacientes e que a incidência de infecção fúngica do trato urinário elevou-se de 0,9/1000 pacientes para 2,0/1000 pacientes, na maioria das vezes causadas por espécie de *Candida*. Essas infecções são de elevada letalidade, cerca de 40% encontradas nos 60 dias subseqüentes ao diagnóstico da candidúria e cerca de 57% observadas em 106 casos de candidemia, tratando-se de um problema médico emergente, que atinge principalmente hospitais brasileiros de nível terciário.

No Brasil, 145 episódios de fungemia por *C. albicans* foram detectadas em período de 22 meses em seis hospitais de assistência médica de nível terciário. Quanto à infecção urinária por leveduras do gênero *Candida*, sua existência vem sendo registrada por relatos de casos isolados, e por estudos recentes que focalizam condições predisponentes específicas, contudo, frequência, características e implicações da candidúria em pacientes brasileiros são amplamente desconhecidas (Oliveira *et al.*, 2001).

Em um estudo envolvendo 100 isolados de leveduras do gênero *Candida*, obtidos a partir de amostras de urina fornecidas por um Hospital Pediátrico Público de São Paulo, Brasil, de 1999 a 2004, a espécie mais frequente foi *Candida albicans*, seguida por *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. parapsilosis* (Silva *et al.*, 2007).

A incidência de candidemia entre pacientes internados aumentou na década de 80, porém recentes relatórios sugerem que a incidência tenha sido estabilizada. Contudo, as taxas de candidemia variam geograficamente. Nos países baixos, a incidência de candidemia dobrou entre 1987 e 1995. Da mesma forma, um aumento na incidência na Islândia foi observado durante o período compreendido entre 1980 e 1999. Por outro lado, dados obtidos a partir de um estudo de vigilância nacional na Suíça mostraram decrescentes taxas de incidência. A epidemiologia de candidemia foi extensivamente estudada nos Estados Unidos e Europa, mas não na América Latina. Dados sobre candidemia nesta região são limitados às opiniões retrospectivas de registros clínicos ou estudos observacionais realizados em um número limitado de centros médicos. Conseqüentemente, a incidência de candidemia em hospital terciário no Brasil é largamente desconhecida de forma equivalente para todas as regiões brasileiras, e não estão disponíveis dados nacionais (Colombo *et al.*, 2006).

Um estudo multicêntrico, envolvendo seis hospitais universitários brasileiros, demonstrou que *C. albicans* foi o agente etiológico em apenas 37% de 145 episódios de candidemia avaliados. Espécies não-*albicans* representaram 63% de todos os episódios estudados e *C. parapsilosis* foi a segunda espécie mais frequente, representando 25% dos

isolados, seguida de *C. tropicalis* (24%) (Nucci e Colombo, 2002). *C. tropicalis* foi responsável por 48,5% das fungemias em pacientes oncológicos no Rio de Janeiro, enquanto *C. albicans* respondeu por apenas 15% dos casos (Nucci *et al.*, 1998).

Infecções hematogênicas causadas por leveduras do gênero *Candida* também podem ser adquiridas por via exógena, através do contato das mãos de profissionais de saúde, com pacientes portadores de cateteres vasculares em posição central, implantes de próteses contaminadas, bem como pela administração parenteral de soluções contaminadas (Colombo *et al.*, 2003).

Bonassoli *et al.* (2005) realizou um estudo onde foi investigada a presença de leveduras em mãos de 86 funcionários saudáveis (62 trabalhadores do Hospital Universitário Regional de Maringá e 24 membros saudáveis de comunidade com exposição em hospitais). Colonização foi representada por 59,3% e a espécie *Candida parapsilosis* foi a mais frequente (51%), independente da origem da amostra.

Apesar desses dados alarmantes pouco se sabe sobre este assunto, não havendo ainda um meio eficiente de erradicar infecção nosocomial ocasionadas por fungos, representando um grande desafio aos clínicos de diferentes especialidades devido às dificuldades diagnósticas e terapêuticas destas infecções. Sem sombra de dúvidas, questões muito importantes relativas ao agente etiológico precisam ser melhores estudadas (Banerjee *et al.*, 1991; Hota, 2004).

2.2 FATORES DE VIRULÊNCIA

A capacidade da levedura em aderir, infectar e causar doença, em conjunto é definido como potencial de virulência ou patogenicidade. Os fatores de virulência são determinados geneticamente, porém expressos pelos microrganismos quando submetidos a certas condições (Tamura *et al.*, 2007). Correspondem ao arsenal utilizado pelos microorganismos para vencer barreiras do hospedeiro e aumentar a sua capacidade de invadir tecidos (Haynes, 2001).

Os fatores relacionados à virulência atribuídos aos microorganismos que podem contribuir para a progressão da infecção são: capacidade do microrganismo em aderir à superfície celular, a formação do tubo germinativo, a formação de hifas ou pseudohifas, a

produção de toxinas, a produção de enzimas extracelulares que favorecem a colonização e invasão tecidual (De Bernardis *et al.*, 2001; Naglik *et al.*, 2003).

A patogenicidade da infecção nos hospedeiros inicia-se pela aderência do patógeno a células epiteliais do hospedeiro, mediada por macromoléculas denominadas adesinas, as quais são estruturas da superfície do microrganismo que interagem com receptores específicos nas células do hospedeiro. A adesividade seria aumentada pela germinação das leveduras e inibida pela presença de imunoglobulina A secretora. Após a aderência ocorre a multiplicação das leveduras, com formação posterior de tubo germinativo e filamentação (Ghannoum e Abu-Elteen, 1990; Stenderup, 1990; Baillie & Douglas, 2000). A transição de leveduras para hifas pode ser influenciada pela temperatura, pH, fontes de carbono e substâncias químicas (Odds, 1988a). Sua capacidade de mudar de fase de levedura para filamentosa é importante para uma maior interação com o hospedeiro, facilitando a adesão, e aumentando assim a sua virulência (Cutler, 1991). As células em forma de leveduras e de hifas podem estar presentes no hospedeiro não somente durante o processo de infecção, mas também durante o processo de colonização do fungo (Souza *et al.*, 1990).

A produção de enzimas (fosfolipase e proteinase) a seguir permitiria a penetração da levedura nas células, ocasionando resposta inflamatória, com dano nos tecidos subjacentes. Dependendo do estado imunológico do hospedeiro e da habilidade do microrganismo, a colonização, inicialmente superficial, pode se disseminar (Akalin *et al.*, 2004). Desta forma, o primeiro degrau no desenvolvimento da candidíase sistêmica é a colonização do trato gastrointestinal e genitourinário, da orofaringe, da pele e das mucosas (Naglik *et al.*, 2003).

É consenso que a maior parte das candidemias é precedida pelo evento de colonização do próprio paciente pela mesma espécie de levedura responsável pela infecção, contudo as infecções hematogênicas por leveduras do gênero *Candida* podem ser adquiridas por via exógena, através do contato das mãos dos profissionais de saúde, principalmente em pacientes portadores de cateteres vasculares (Tamura *et al.*, 2007).

Segundo Tamura *et al.* (2007), as leveduras envolvidas em colonização de mãos de profissionais da área de saúde e cateteres podem ser virulentas e oferecer risco de infecção. No estudo, as leveduras isoladas das mãos apresentaram menor potencial de virulência do que as isoladas dos cateteres venosos centrais.

Candida albicans é a espécie mais conhecida do gênero e considerada de maior interesse clínico por ainda corresponder ao principal agente de infecção fúngica e humanos. Porém, as espécies não-*albicans* são emergentes em várias partes do mundo e o aumento desses agentes em infecção pode estar associado à maior expressão dos fatores de virulência. As espécies não-*albicans* apresentam aderência e propriedades hidrofóbicas significativamente superiores a *C. albicans*. As interações hidrofóbicas estão envolvidas no processo de aderência de leveduras do gênero *Candida* às superfícies das células do hospedeiro (Tamura *et al.*, 2007). Luo e cols (2002) observaram íntima relação entre aderência de espécies de leveduras do gênero *Candida* em superfície e a hidrofobicidade da superfície dessas leveduras.

As variações na morfologia de colônias de espécies de *Candida*, descritas principalmente em *C. albicans*, caracterizada como fenômeno *switching*, parecem estar envolvidas no mecanismo de virulência dessas leveduras. Nesse fenômeno, a mudança fenotípica que se expressa pela morfologia, induz provavelmente alteração na fisiologia e na patogenicidade do microrganismo. Esse mecanismo pode permitir que um organismo adaptado ao meio ambiente altere, através da expressão de um gene seletivo, a resposta fúngica frente aos agentes antifúngicos (Passos, 2007).

A formação de biofilme tem sido associada como um dos principais fatores relacionados à virulência de leveduras do gênero *Candida* (Douglas, 2003). A capacidade das leveduras em aderir e colonizar superfícies plásticas, como cateter venoso central, faz com que esse material se torne um reservatório de microrganismos. Essas leveduras podem entrar na corrente sanguínea através da nutrição parenteral, desenvolvendo severas complicações como candidemia (Shin *et al.*, 2002; Troaré *et al.*, 2002; Tamura *et al.*, 2003).

No Brasil e no mundo, existem vários grupos de pesquisadores preocupados com a importância de IHS por leveduras tendo em vista os altos níveis de mortalidade e morbidade. Têm sido realizados muitos estudos epidemiológicos e de resistência aos antifúngicos, porém são escassos os relacionados ao potencial de virulência desses microrganismos e talvez essa seja uma das principais causas do aumento das infecções hospitalares por leveduras (Tamura *et al.*, 2007, Negri, 2006).

2.3 DROGAS ANTIFÚNGICAS

O arsenal terapêutico dos antifúngicos é ainda bastante restrito, pois apresentam, em geral, toxicidade significativa e poucos são os compostos que exibem seletividade suficiente para uso nas micoses humanas. Os agentes antifúngicos, disponíveis comercialmente, atuam nos esteróis da membrana celular fúngica, que se assemelham aos da célula humana. A parede celular fúngica é a única organela que não é encontrada nas células dos mamíferos; conseqüentemente, antifúngicos ativos contra este componente celular, provavelmente apresentarão menor toxicidade e serão mais bem tolerados (Ferrari & Hamdan, 1998; Moretti, 2007).

Os principais grupos de agentes antifúngicos, de maior uso no Brasil, com ação sobre *Candida* spp são os poliênicos e nistatina, além dos azólicos, que possuem dois ou três átomos de nitrogênio no anel azólico e são respectivamente classificados como imidazólicos (cetoconazol e miconazol) ou triazólicos (itraconazol, fluconazol e voriconazol) (White *et al.*, 1998).

Muitos esforços têm sido implementados no sentido da introdução de novas drogas antifúngicas, tanto no grupo dos azólicos, como o voriconazol, o posaconazol e o ravuconazol, como também na classe das equinocandinas, como a caspofungina, a anidulafungina e a micafungina. Entre as três novas drogas azólicas no presente momento, o voriconazol foi aprovado, para uso clínico, pelo FDA, nos Estados Unidos e pela ANVISA no Brasil. O posaconazol foi aprovado pelo FDA para uso profilático de infecções fúngicas em imunossuprimidos. A anidulafungina e o posaconazol encontram-se em análise pela ANVISA para sua aprovação no Brasil (Moretti, 2007).

2.3.1 *Poliênos*

A anfotericina B agrupa-se, juntamente com a nistatina, aos antibióticos poliênicos, cuja estrutura é macrocíclica e caracterizada por átomos de carbono divalentes dispostos em série. Atua como fungicida ligando-se ao ergosterol, esteróide presente na membrana dos fungos sensíveis, alterando a permeabilidade deste e causando perda de constituintes citoplasmáticos. Adicionalmente, leva a uma lesão oxidativa que resulta em alterações metabólicas com a formação de poros, alteração da permeabilidade da membrana, levando à perda de sódio, potássio e outros constituintes citoplasmáticos, geralmente causando a morte

da célula fúngica. Em menor escala, a anfotericina B liga-se também ao colesterol da membrana das células humanas, alterando-se e provocando efeitos adversos (Ferrari & Hamdan, 1998; Martinez, 2006).

A formulação convencional da anfotericina B, para uso prévio, associa a esta droga o desoxicolato de sódio, cuja finalidade é solubilizá-la em água e estabilizar a suspensão na forma de micélio. A aplicação por via endovenosa, em infusão lenta, é necessária para se obter níveis úteis no sangue e tecidos. A dose diária única de 1 mg/kg de peso corporal resulta em concentrações séricas máximas aproximadas de 1 a 2 µg/mL na primeira hora após a infusão, e estima-se a sua meia-vida inicial em 24 a 48 horas. A anfotericina B convencional alcança maiores concentrações no fígado, baço, rins e pulmões. A fração circulante, cerca de 95% da qual se liga a proteínas, colesterol e hemácias, tem seu nível reduzido lentamente, possibilitando que o antibiótico seja administrado, na fase de consolidação do tratamento, em intervalos de 48 a 72 horas. A principal via de excreção é a renal, mas há também eliminação por via hepatobiliar, e presume-se que parte da droga seja metabolizada (Gallis *et al.*, 1990; Martinez, 2006).

A anfotericina B é disponível como fármaco de uso sistêmico desde 1956 e, apesar de sua conhecida toxicidade, é ainda largamente utilizada na terapêutica das micoses sistêmicas (Boff *et al.*, 2008).

A anfotericina B produz frequentes efeitos adversos, quer relacionados à infusão, quer tardios, por toxicidade celular e tecidual. As reações imediatas à infusão decorrem da liberação de interleucinas e prostaglandinas, manifestando-se como febre, calafrios, taquicardia, hipertensão arterial, náuseas, vômitos, hipotalassemia e taquipnéia. A intensidade dessas reações imediatas varia conforme o paciente e diminui com a progressão do tratamento. Os efeitos adversos tardios relacionam-se diretamente com a dose cumulativa recebida de anfotericina B, e também, com a sensibilidade e condições orgânicas do paciente. Mais comuns são a nefrotoxicidade e a anemia, que requerem correção de doses e de intervalos da administração e eventualmente obrigam a uma suspensão da terapia. Outras reações adversas incluem plaquetopenia, dispnéia, hipotensão arterial, arritmia cardíaca e toxicidade neurológica, além de tromboflebite no local de aplicação (Pathak *et al.*, 1998).

O uso clínico da anfotericina B é limitado pelos efeitos adversos e necessidade de aplicação endovenosa. Portanto, a droga é mais empregada em casos de infecções fúngicas invasivas, particularmente em imunossuprimidos, na doença disseminada em imunocompetentes e em situações especiais. Constituem indicações primárias de terapia com anfotericina B casos de criptococose, aspergilose, infecções disseminadas por leveduras do

gênero *Candida* resistentes a triazólicos e infecções por certos agentes de feohifomicose e de hialohifomicose (Martinez, 2006).

Nos últimos anos, foram feitas modificações nas características físico-químicas da anfotericina B na tentativa de reduzir os efeitos colaterais. Na década de 70, foi tentado uso da anfotericina B metil-éster, que era solúvel em água. A nefrotoxicidade foi menor, mas o surgimento de leucoencefalopatia limitou o seu uso (Patel, 1998).

Mais recentemente, formulações lipídicas de anfotericina vem sendo testadas. Em 1997, em um estudo publicado por Prentice *et al.*, foram comparados de modo randomizado e prospectivo 34 adultos e 204 crianças que receberam anfotericina B (1mg/kg/dia) ou anfotericina lipossomal (3mg/kg/dia) devido a neutropenia febril. No grupo de pacientes recebendo anfotericina lipossomal não houveram casos de insuficiência renal, definida pela elevação de duas vezes a creatinina plasmática normal. Hipocalemia severa também ocorreu menos frequentemente nos pacientes que utilizaram anfotericina lipossomal. Este estudo também sugere uma possível maior eficiência desta droga em relação a anfotericina B na resolução em três dias do quadro febril.

Em 1999, Walsh *et al.* publicaram estudo duplo-cego randomizado comparando anfotericina B com anfotericina lipossomal. A casuística foi de 687 pacientes com febre e neutropenia. O tempo médio de tratamento foi similar, em torno de 10 dias. Ambos os tratamentos obtiveram a mesma taxa de sucesso bem como necessidade de parada do tratamento por efeitos adversos e prognóstico. Nos pacientes tratados com anfotericina B, observou-se maior incidência de efeitos relacionados à infusão e maior nefrotoxicidade definida por níveis de creatinina sérica duas vezes ao valor normal. A incidência de nefrotoxicidade foi de 34% com a droga padrão e 19% nos que receberam a preparação lipossomal.

Em 1999, Barquist *et al.* também publicaram um ensaio clínico comparando estas duas drogas. Neste, os autores concluíram que a anfotericina lipossomal está associada à menor nefrotoxicidade.

2.3.2 Derivados azólicos

Os azólicos são quimioterápicos antifúngicos caracterizados por um anel pentagonal na estrutura molecular, o qual contém três átomos de carbono e dois átomos de nitrogênio (imidazólicos), ou dois carbonos e três nitrogênios (triazólicos). Considerando as

drogas de uso sistêmico, o primeiro subgrupo compreende o miconazol e o cetoconazol e o último, o fluconazol, itraconazol, voriconazol, posaconazol e ravuconazol (Martinez, 2006).

Os azólicos atuam mediante a inibição da enzima lanosterol 14- α demetilase no complexo citocromo P450 dos fungos, bloqueando a demetilação do lanosterol e a síntese de ergosterol, o que altera a permeabilidade da membrana e a viabilidade fúngica. Também agem modificando a síntese de lipídeos e inativando enzimas do processo oxidativo dos fungos. Os azólicos, principalmente os imidazólicos, exercem ação apenas fungistática. Alterações na enzima C-14-alfademetilase e aumento do efluxo das drogas são causas de resistência as azólicos, a qual foi constatada particularmente em *Candida não albicans*. Embora hajam diferenças na estrutura química das diversas drogas que compõem este grupo, é suposto que elas compartilhem um mecanismo de ação comum (Lyman & Walsh, 1992; Martinez, 2006).

Os compostos imidazólicos e triazólicos inibem o metabolismo de outros compostos devido sua interferência em diferentes isoenzimas do complexo citocromo P-450 do ser humano. O resultado é um potencial aumento dos níveis plasmáticos facilitando o aparecimento de efeitos adversos (Santos Jr *et al.*, 2005).

Os derivados azólicos, especialmente o cetoconazol, apresentam toxicidade seletiva devido à interação entre o citocromo P-450 do homem e seus constituintes farmacológicos. Os triazólicos (itraconazol e fluconazol) apresentam menor toxicidade por apresentar uma ligação mais específica ao citocromo P-450 do fungo, demonstrando pouca ou nenhuma interação com o sistema enzimático humano (Silva *et al.*, 1994; Espinel-Ingroff, 2003).

O cetoconazol representou o primeiro derivado azólico com atividade antifúngica evidente e em disponibilidade para uso oral, com relatos de seu uso clínico remontando a 1979. Este antifúngico pode interferir em processos metabólicos da célula humana, tendo sido evidenciados também efeitos tóxicos em nível hepático e gastrointestinal (Gupta *et al.*, 1994a; Ferrari & Hamdan, 1998).

A posologia varia de 200 a 800 mg/Kg ao dia e é variável de acordo com o tipo de infecção que se pretende tratar. Após a ingestão, atinge níveis plasmáticos elevados em uma a duas horas. A sua biodisponibilidade diminui quando tomado logo após as refeições e com antiácidos, cimetidina e ranitidina. É metabolizado na sua totalidade pelo fígado e eliminado *in natura* pelo rim, na percentagem de 2 a 4%. Quanto aos efeitos colaterais, raramente ocorre intolerância gástrica (náuseas, azia, vômitos, dores abdominais e diarreia). Tem sido relatado, também, prurido intenso, alopecia difusa, fotossensibilidade, mialgias, artralgias, insônia,

nervosismo, anemia, leucopenia, eosinofilia e trombocitopenia. Em cerca de 5 a 10% dos casos ocorre elevação das transaminases e da amilase pancreática, que regridem quase sempre com a suspensão do tratamento. Alguns estudos demonstram que em cerca de 1 para 10.000 casos surge hepatite tóxica. É conveniente, portanto, acompanhar com dosagem de transaminases periódicas os pacientes submetidos a tratamentos prolongados com esse antifúngico (Lacaz *et al.*, 2002b; Castro *et al.*, 2006).

O fluconazol é um medicamento antifúngico, utilizado por via oral no tratamento de micoses sistêmicas tendo como tempo médio no sangue, 30 horas com doses de 400 mg ao dia. É um composto bitriazólico sintético, com mecanismo de ação semelhante ao itraconazol. Tem amplo espectro de ação, incluindo espécies de *Candida*, *Cryptococcus*, *Histoplasma* e *Paracoccidioides*. É ativo contra *Candida albicans*, mas cepas de *Candida krusei* e *Candida glabrata* são menos sensíveis. Não tem ação eficaz contra *Aspergillus* (Moysés Neto & Figueiredo, 1996; Fica, 2004).

É disponível para uso oral e parenteral. A via oral é reservada para os casos mais leves e para terapêutica de manutenção a longo prazo. Após a administração de 50 mg via oral, níveis séricos de 1,0 mg/L são obtidos após 2 horas. Uma característica importante do fluconazol é a sua boa penetração no sistema nervoso central. Níveis da droga no líquido cefalorraquidiano representam 50 a 90 % da concentração sérica concomitante. Cerca de 80 % da dose administrada é eliminada de forma ativa pelos rins e sua vida média no soro é prolongada na vigência de insuficiência renal, o que obriga a ajustes posológicos nestas circunstâncias. Ao contrário dos outros antifúngicos do grupo, o fluconazol não é metabolizado pelo organismo do homem, mas é excretado sem alteração na urina (Colombo *et al.*, 2002).

A dose recomendada para o tratamento de infecções graves em adultos com função normal é de 200 a 400 mg/dia. A duração do tratamento vai depender da natureza e da gravidade do processo. Pacientes com insuficiência renal podem receber a dose usual nas primeiras 48 horas. Transcorrido esse período, administração a cada 48 a 72 horas são indicadas de acordo com a gravidade do acontecimento da função renal. Pacientes com diálise requerem suplementação da dose após o procedimento (Santos Jr *et al.*, 2005).

O itraconazol é um derivado triazólico altamente lipofílico e insolúvel em água (Negroni & Arechavala, 1993; Espinel-Ingroff, 2003). É bem absorvido por via oral em doses de 50 a 400 mg por dia. Apresenta baixa toxicidade, com relatos de náuseas e aumento transitório de enzimas hepáticas (Castro *et al.*, 2006).

Este medicamento é formalmente contra-indicado nos doentes sensíveis à medicação ativa ou a seus excipientes. Não há formação de reação de hipersensibilidade cruzada com outros imidazólicos. Foram relatados raros casos de hepatite tóxica reversível e formas mais graves, inclusive fatais, como do uso concomitante de múltiplas medicações. A função hepática e renal deve ser monitorada. O aumento das bilirrubinas e das transaminases pode ocorrer em 9% dos casos dos doentes tratados. Alterações no ritmo cardíaco foram relatadas quando da associação com anti-histamínicos, com terfenadina e astemizol (Lacaz *et al.*, 2002b).

O itraconazol tem uma excelente atividade *in vitro* contra as leveduras, incluindo algumas espécies de *Candida* resistente ao fluconazol, embora também tenha fraca atividade contra a *C. krusei*. A maioria das cepas de *Cryptococcus neoformans* é sensível (Lumbreras *et al.*, 2003).

O voriconazol é um agente antifúngico de segunda geração, com amplo espectro, sendo derivado do fluconazol, mas apresenta um heterociclo pirimidina fluorado, ao invés de um triazólico, e uma metila a mais (Bergold & Georgiadis, 2004). Este composto tem um espectro de ação mais amplo que o fluconazol e itraconazol, pois bloqueia mais intensamente a síntese de ergosterol dos fungos filamentosos, o qual chega a ser fungicida, só é superado pela anfotericina B. Seu espectro de atividade inclui isolados de *Candida* spp com resistência adquirida (*C. albicans* e *C. glabrata*), resistência natural ao fluconazol (*C. krusei*) e outras leveduras como *Cryptococcus neoformans* e *Trichosporum beigelli*, é mais ativo que fluconazol e itraconazol sobre as principais leveduras de importância clínica (Fica, 2004; Martinez, 2006).

O voriconazol é usado por via oral ou endovenosa na dosagem de 6 mg/kg de peso a cada doze horas no primeiro dia, seguindo-se 4 mg/kg de peso a cada doze horas. Adultos recebem por via oral um comprimido com 200 mg a cada doze horas (100 mg a cada doze horas, para pacientes com peso inferior a 40 kg), o que possibilita atingir concentração sérica máxima entre 4 a 6 µg/mL no estado de equilíbrio. A absorção não depende de acidez gástrica e a biodisponibilidade da droga oral é boa. O voriconazol alcança níveis inibitórios para fungos no encéfalo e no líquido cefalorraquiano. Por ser metabolizado e excretado pelo fígado, é necessário ajustar a dosagem ou evitá-lo quando há insuficiência hepática. Em casos de insuficiência renal moderada a grave é contra-indicada a administração endovenosa, pelo risco de acúmulo do veículo ciclodextrina (Johnson & Kauffman, 2003).

Efeitos adversos são frequentes, mas geralmente benignos. Além daqueles comuns aos azólicos, cerca de 30% dos pacientes apresentam distúrbios visuais - discriminação de cores alterada, visão borrada, fotofobia - na primeira semana de terapia, sintomas que se atenuam e desaparecem a seguir. Reações de hipersensibilidade, desde exantemas discretos até reações graves, também foram relatadas. O uso clínico de voriconazol vem sendo empregado principalmente em infecções por *Aspergillus* spp. e por outros fungos oportunistas. Em casos de candidemia em pacientes não neutropênicos, um estudo randomizado mostrou eficácia comparável entre voriconazol e anfotericina B desoxicolato. Resultado semelhante foi observado entre as duas medicações no percentual de sucesso no tratamento empírico de pacientes com neutropenia e febre persistente. O voriconazol constitui um recurso terapêutico importante em certas infecções por fungos comumente resistentes à anfotericina B, a exemplo de *Scedosporium* spp. e *Pseudallescheria boydii*. Contudo, algumas espécies ou amostras de fungos oportunistas são resistentes (Perfect *et al.*, 2003; Pedroche *et al.*, 2005; Martinez, 2006).

2.4 SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIFÚNGICOS

Classicamente, o termo resistência em microorganismo é descrito como persistência ou progressão de uma infecção no hospedeiro, mesmo que a concentração no sítio da droga seja máxima (Perfect & Cox; 1999). A eficácia da resposta clínica ao tratamento depende não somente da sensibilidade do agente infeccioso envolvido, mas também de fatores do hospedeiro, como sítio da infecção, resposta imunológica do hospedeiro, capacidade de virulência da cepa, presença de corpo estranho no local da infecção e farmacocinética da droga (White *et al.*, 1998; Perfect & Cox; 1999).

Leveduras resistentes em ambientes hospitalares podem representar um perigo em potencial para pacientes debilitados que se internam em unidades onde há contaminação desses microrganismos (Colombo & Guimarães, 2003). A transmissão horizontal, de paciente a paciente ou médico a paciente, pode ocorrer, bem como, a infecção endógena, e faz-se necessário, portanto, a monitorização espacial e temporal de tais leveduras para controle de episódios e surtos de infecção hospitalar (Zhanel *et al.*, 1997). Determinação do perfil de sensibilidade da cepa pode ser usada como ferramenta de tipagem fenotípica (Dromer *et al.*, 1997).

A resposta *in vitro* em leveduras pode ser descrita como primária quando uma cepa é resistente antes de ser exposto ao fármaco. Resistência intrínseca ocorre quando todos os membros da espécie são resistentes a certa droga ou classe de agente antifúngico, podendo ser exemplificada pela resistência intrínseca da *C. krusei* ao fluconazol. Resistência secundária ou adquirida se desenvolve em resposta à prévia exposição a uma droga (White *et al.*, 1998; Perfect & Cox; 1999); essa resistência pode se desenvolver durante a terapêutica com drogas, sendo as espécies não-*albicans* as mais envolvidas (Macura, 1991; Ribeiro, 2004).

Trabalhos experimentais de exposição prévia de culturas de leveduras a concentração de droga, sustentam a hipótese de que leveduras expostas de modo prolongado, a baixas concentrações de antifúngicos podem levar a seleção de isolados resistentes a esses medicamentos (Vazquez *et al.*, 1993; Calvet *et al.*, 1997).

Até a década de 80, a resistência aos azólicos era um fenômeno raro, limitado apenas a pacientes com candidíase mucocutânea crônica. A epidemia da AIDS alterou dramaticamente a situação. O uso profilático e terapêutico do fluconazol levou a ocorrência de *C. albicans* resistente aos azólicos e ao aumento de colonização dos pacientes com outras espécies de *Candida*, como *C. krusei* e *C. glabrata*, que são menos sensíveis a este fármaco (Marichal *et al.*, 1997).

Muitas das espécies não-*albicans* mais comumente isoladas são menos susceptíveis aos derivados azólicos, dificultando o tratamento dessas infecções. Embora a susceptibilidade das leveduras do gênero *Candida* aos antifúngicos disponíveis seja variável e previsível, nem sempre uma determinada amostra isolada segue o padrão geral. Essa é uma das razões da crescente importância dos testes de susceptibilidade (NCCLS, 1995; Rex *et al.*, 2000).

Leveduras do gênero *Candida* têm diferentes graus de suscetibilidade à drogas antifúngicas utilizadas. Por exemplo, *C. lusitaniae* é relativamente resistente à anfotericina B (Hadfield *et al.*, 1987). *C. krusei* é intrínsecamente resistente ao fluconazol, e *C. glabrata* são menos sensíveis ou que tenha uma maior CIM do que outras espécies de leveduras do gênero *Candida* (Akova *et al.*, 1991; Orozco *et al.*, 1998, Yang *et al.*, 2004b). Parece haver uma tendência para o aparecimento de resistência ao fluconazol e voriconazol ao longo do tempo para *C. rugosa* (Pfaller *et al.*, 2005; Pfaller *et al.*, 2006). Este fenômeno ilustra a importância da identificação e vigilância espécies de leveduras do gênero *Candida* nas clínicas (Ribeiro *et al.*, 2004).

O uso profilático de agentes antifúngicos sistêmicos, usualmente o fluconazol, é utilizado geralmente em pacientes com alto risco de adquirir candidíase. Todavia, a profilaxia não é rotineiramente recomendada, pois cepas de *C. albicans* têm demonstrado resistência a este antifúngico *in vivo* e *in vitro*. A resistência de espécies de leveduras do gênero *Candida* aos azólicos é atribuída ao uso intenso do fluconazol (Mahmoud & Louis, 1999). As espécies não-*albicans* resistentes ao fluconazol compreendem *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr* e *C. krusei* (White *et al.*, 1998).

Muitos casos de resistência aos azólicos em pacientes não infectados com HIV estão associados com infecções de espécies não-*albicans*, como *C. krusei* e *C. tropicalis*. Corrobora neste sentido, o fato de um ou mais fatores de risco estarem presentes em pacientes que desenvolveram fungemia na época em que estavam recebendo tratamento com fluconazol, tais como: altas doses de terapia com esteróides, *diabetes mellitus*, cateteres intravenosos, leucemia, linfoma, neutropenia tumores e transplantes de medula óssea. Em relação a *C. albicans*, a resistência raramente tem sido descrita em pacientes não-HIV positivos (White *et al.*, 1998).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Descrever a incidência de infecções hospitalares fúngicas, agentes causadores e os perfis de susceptibilidade à drogas antifúngicas mais frequentemente empregadas na prática médica.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Isolar a partir de amostras clínicas de origem hospitalar (sangue, secreções, ponta de cateter e urina), leveduras do gênero *Candida* a serem caracterizadas fenotipicamente, como também outros fungos de importância médica, no período compreendido entre Março/2006-Fevereiro/2008.
- Realizar a caracterização fenotípica das leveduras do gênero *Candida* isoladas de espécimens clínicos distintos de origem hospitalar de pacientes das unidades de internação: Médica, Cirúrgica, Pediatria, Ginecologia e Obstetrícia, Unidades de Terapia Intensiva (adulto e neonatal) nos Hospitais Universitários de Cuiabá - Mato Grosso; apontando a espécie mais frequente nos casos de infecções hospitalares fúngicas.
- Determinar a incidência de infecções hospitalares fúngicas nos hospitais avaliados.
- Identificar as unidades de internação que contribuíram, no período avaliado, com maior número de casos de infecções hospitalares fúngicas.
- Identificar procedimentos invasivos, doenças de base e condições associadas mais frequentes nos pacientes com infecções hospitalares fúngicas.
- Determinar perfis de susceptibilidade à antifúngicos das amostras de leveduras do gênero *Candida* provenientes de pacientes com infecções hospitalares fúngicas internados nas unidades avaliados.

4. METODOLOGIA

4.1 Seleção de pacientes

Estudo descritivo, no qual foram incluídas amostras provenientes de pacientes internados na UTI adulto, UTI neonatal, Clínica Médica, Clínica Cirúrgica e Clínica Pediátrica dos Hospitais Universitários de Cuiabá/MT, no período compreendido entre março de 2006 a fevereiro de 2008.

Os pacientes avaliados neste estudo apresentaram algum sinal ou sintoma clínico de infecção. Destes, foram coletadas amostras dos seguintes espécimens clínicos: urina, sangue, ponta de cateter, lavado broncoalveolar, secreção ocular e secreção da parede abdominal, para realização de culturas e identificação de espécies de leveduras do gênero *Candida* e posterior avaliação de sua susceptibilidade aos antifúngicos.

4.1.1 Definição de caso de infecção hospitalar fúngica

Foi considerado caso confirmado de infecção hospitalar fúngica, quando para diferentes materiais clínicos, foram considerados os seguintes critérios:

- Hemoculturas positivas para *Candida* spp ou outro fungo de importância médica,
- Urinas com mais de um isolado e com contagem acima de 100.000 UFC/mL,
- Ponta de cateter exibindo 15 ou mais UFC/placa,
- Lavado broncoalveolar (LBA) positivo para *Candida* spp e com positividade para a mesma espécie em outros espécimens clínicos.

O isolamento da levedura foi realizado em meios convencionais (Sabouraud dextrose ágar).

Dados coletados foram baseados em uma ficha clínica (Apêndice 1) previamente elaborada, visando à elucidação de fatores predisponentes, possivelmente associados à infecção hospitalar fúngica.

4.1.2 Aspectos éticos

O projeto foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa (CEP) do HUIJM em 16 de novembro de 2005, com número de protocolo 221/CEP-HUIJM/05 (Anexo 1).

Os resultados de exames realizados objetivando o isolamento e posterior identificação da espécie fúngica foram devidamente entregues aos médicos solicitantes. O

tratamento adequado foi realizado para todos os pacientes com casos confirmados de infecção hospitalar fúngica. Após instituição da terapêutica, novos exames micológicos (Exame micológico e cultura para fungos) foram realizados para investigação da possível negatização da infecção.

4.2 Isolamento de colônias fúngicas

A partir de distintos materiais clínicos (urina, sangue, ponta de cateter, lavado broncoalveolar, secreção ocular e secreção da parede abdominal) foram isoladas colônias de consistência cremosa, cor branca a creme em ágar Sabouraud-dextrose (DIFCO), acrescido de cloranfenicol à concentração de 100 mg/L de meio. O pH foi ajustado entre 5,6 e 6,0 (Koneman *et al.*, 1989).

4.3 Identificação das espécies de leveduras do gênero *Candida*

Após detecção das colônias isoladas, foi realizado um esfregaço delgado e posteriormente corado utilizando-se a técnica de coloração de Gram para visualização de características morfotintoriais. A partir dos resultados pós-coloração de Gram, aquelas que apresentaram características semelhantes à leveduras do gênero *Candida* foram submetidas à identificação.

A identificação foi realizada a partir de culturas puras, repicadas em tubo de vidro contendo ágar Sabouraud, 24 horas antes de seu uso. Este procedimento visa à obtenção de células leveduriformes em fase exponencial de crescimento. Para a identificação de leveduras do gênero *Candida*, vários taxonomistas vêm propondo, além de estudos micromorfológicos, o uso de uma série de provas bioquímicas (Odds, 1988a), descritos a seguir.

4.3.1 Avaliação quanto à pureza

Após isolamento, as colônias foram testadas quanto a sua pureza por meio de plaqueamento em meio cromogênico CHROMagar *Candida*. Este procedimento foi útil para isolar e identificar presuntivamente: colônias de coloração verde claro – sugestivas de *C. albicans*, colônias de cor azul – sugestivas de *C. tropicalis*, colônias apresentando coloração rosa em diferentes tonalidades e aspectos – sugestivas de outras espécies de leveduras do

gênero *Candida*. O fundamento deste método é a utilização do substrato β glicosaminidase (Quindós *et al.*, 2001; Cooke *et al.*, 2002) e a diferenciação das leveduras de acordo com a morfologia e a cor das colônias (Carrillo Munõz *et al.*, 2001, Fotedar & Al-Hedaithy, 2002).

4.3.2 Pesquisa de tubo germinativo

Em relação às características micromorfológicas, foi verificado, em primeiro momento, a habilidade de formação de tubo germinativo ou efeito Reynolds-Braude. Para visualização desta característica, uma pequena quantidade da colônia foi transferida para um tubo, previamente esterilizado, contendo 0,5 mL de soro humano e incubada a 37° C em banho maria por três horas. Após este período, uma gota desta suspensão foi examinada ao microscópio, entre lâmina e lamínula. A evidenciação de tubo germinativo configura teste positivo e, presuntivamente, diagnóstico de *C. albicans* (Koneman *et al.*, 2001b).

4.3.3 Microcultivo

O microcultivo ou técnica de Ridell (Lacaz *et al.*, 1991) foi realizado com o objetivo de visualizar as estruturas morfológicas típicas de cada espécie do gênero. Ágar fubá, acrescido de Tween 80, com pH ajustado entre 5,8 e 6,2, foi distribuído, com auxílio de pipeta estéril, em camada fina, sobre lâminas previamente preparadas em câmara de microcultivo. Após solidificação do meio, cada amostra foi semeada em três linhas finas, horizontais e paralelas, na superfície do ágar e coberta com lamínula. Após a adição de água destilada estéril ao algodão presente na placa, para obtenção de câmara úmida, o sistema fechado foi incubado a 25° C, por até três dias. A leitura foi executada anotando-se a presença de pseudomicélio, arranjo dos blastosporos (ocorrendo em grupos ou cachos, no início da hifa e/ou ao longo desta, isolados ou aos pares nos pontos de constrição ou irregularmente distribuídos no pseudomicélio). A presença de clamidósporos foi anotada como diagnóstico presuntivo de *C. albicans*. As outras espécies do gênero foram avaliadas conforme características morfológicas específicas (Tabela 1).

O meio de cultura ágar fubá foi obtido comercialmente – Ágar Corn Meal (DIFCO) e seu preparo obedeceu às orientações do fabricante.

Tabela 1 – Características macro e micromorfológicas das espécies de leveduras do gênero *Candida*.

Levedura	Forma de conídios	Pseudo-hifas	Micromorfologia	Tubo germinativo	Colônias	Taxa de crescimento	Outras características úteis
<i>C. krusei</i>	Esferas, elipses e blastoconídios alongados, ovais, vários tamanhos	Sim	Células longas, finas, retas, com ramificações arboriforme e cadeias de blastoconídios das junções intercelulares; como palitos de fósforos cruzados.	Ausente	Semelhante à <i>C. albicans</i> , porém mais fosca	2 - 3 dias	Colônias muito velhas tornam-se amarelo-esverdeadas foscas, com franja periférica.
<i>C. parapsilosis</i>	Blastoconídios esféricos e elípticos	Sim	Células fina, curtas, curvas pronunciadas; ocasionalmente células gigantes, blastoconídios isolados, em cachos e cadeias curtas nas pseudo-hifas.	Ausente	Compacta, úmida, branca, brilhante ou creme , pode ser rendada	2 – 3 dias	Colônias velhas tornam-se sulcadas com bordas marrons
<i>C. tropicalis</i>	Blastoconídios ovóides ou alongados	Sim	Pseudo-hifas longas, ramificadas, com blastoconídios em qualquer lugar na pseudo-hifa. Clamidoconídios ocasionais.	Ausente	Branca a creme	2 – 3 dias	A franja periférica pode estar submersa no ágar.
<i>C. glabrata</i>	Blastoconídios pequenos	Não	Não apresenta pseudo-hifas apenas pequenos blastoconídios agrupados.	Ausente	Cremosa, creme, lisa e brilhante	3 – 4 dias	Colônias antigas formam película.

4.3.4 Provas bioquímicas

4.3.4.1 Zimograma

No teste de fermentação de carboidratos foi utilizado o meio basal (conforme fórmula abaixo), acrescido de azul de bromotimol e distribuídos em alíquotas de 2 mL em tubos de Kahn contendo tubos de Durham invertidos, para visualização de gás. As amostras foram testadas quanto à habilidade de fermentar glicose, galactose, maltose, sacarose, lactose, trealose, xilose, melibiose e rafinose. Para tanto, foi adicionado 1 mL da solução de cada carboidrato (preparadas à concentração de 6%) a cada tubo de meio de cultura autoclavados.

Meio Basal (Van Der Walt & Yarrow, 1984)

- Peptona	7,5 g
- Extrato de levedura	4,5 g
- Azul de bromotimol	0,4 g
- Água destilada	1000,00 mL

O pH foi acertado para 6,5. Logo após, o azul de bromotimol foi dissolvido em etanol e adicionado, aos poucos, a este meio até obtenção de coloração verde intensa.

Para a preparação do inóculo, uma pequena porção da levedura foi ressuspensa em 5 mL de salina estéril. A concentração celular foi avaliada através do cartão de Wickerham – trata-se de uma técnica que permite uma estimativa da densidade de células de uma suspensão, tendo sido estabelecidos quatro níveis de concentração celular com avaliação feita comparativamente, observando-se o crescimento baseado no seguinte critério: 0 (poucas células – linhas totalmente visíveis), 1 (densidade fraca – linhas visíveis, um pouco embaçadas), 2 (densidade média – linhas embaçadas e difusas), 3 (densidade forte – linhas não visíveis).

Foram transferidos 0,1 mL da suspensão obedecendo ao critério 2 para cada um dos nove tubos de meio basal, contendo os diferentes açúcares. A bateria de testes foi incubada a 25° C e as leituras foram realizadas periodicamente observando-se a produção de ácido através da mudança de coloração do meio basal para amarelo e a formação de gás capturado no interior do tubo de Durham. As observações foram feitas por um período máximo de sete

dias (Lacaz *et al.*, 1991). Os resultados foram considerados positivos em função da produção de gás.

4.3.4.2 Auxanograma

Este teste foi realizado visando observar o padrão de assimilação de nove carboidratos (glicose, galactose, maltose, sacarose, lactose, trealose, xilose, melibiose e rafinose) como única fonte de carbono. Para isto, foram preparados: meio C e uma solução de vitaminas, conforme descrito a seguir.

Meio C (Lacaz *et al.*, 1991)

- Sulfato de amônio	5,0 g
- Fosfato de Potássio Monobásico (KH ₂ PO ₄)	1,0 g
- Sulfato de Magnésio Hepta Hidratado (MgSO ₄ .7H ₂ O)	0,5 g
- Ágar	20 g
-Água destilada	1000,00 mL

Solução de Vitaminas

- Biotina	0,10 mg
- Niacina	6,00 mg
- Piridoxina	10,00 mg
- Riboflavina	1,00 mg
- Tiamina	6,00 mg
- Pantotenato de cálcio	6,00 mg
- Inositol	1,00 mg
- Ácido fólico	10,00 mg
- Cloreto de colina	10,00 mg
- Água destilada	100,00 mL

Placas de Petri esterilizadas, de 140 mm de diâmetro, foram marcadas no fundo, em nove pontos equidistantes, com as siglas correspondentes aos carboidratos utilizados. Em

cada placa foram dispensados 0,1 mL de solução de vitaminas, 4 mL da suspensão de leveduras preparada em salina esterilizada, correspondendo ao critério 2 do cartão de Wickerham e aproximadamente 45 mL de meio C fundido e resfriado (aproximadamente 45° C) (Van Der Walt & Yarrow, 1984).

Este inóculo correspondeu a uma concentração celular de $1 - 6 \times 10^6$ UFC/mL, de acordo com experimentos preliminares. A mistura obtida na placa foi cuidadosamente homogeneizada, evitando-se a formação de bolhas e deixada solidificar à temperatura ambiente. Após solidificação, os carboidratos foram distribuídos em quantidades mínimas nos pontos previamente marcados (Campbell & Stewart, 1980), com auxílio de palitos esterilizados. A incubação foi feita à temperatura de 25°C, por até 72 horas e a leitura foi realizada diariamente. O resultado foi considerado positivo, quando da evidenciação do halo de crescimento em torno de cada carboidrato.

As características bioquímicas (assimilação e fermentação) das espécies de leveduras do gênero *Candida* estão representadas na tabela (Tabela 2).

Tabela 2 - Perfil bioquímico (assimilação e fermentação) das espécies de leveduras do gênero *Candida* segundo Kwon-Chung & Bennett, 1992; Kurtzamn & Fell, 1998

Espécies	Assimilação									Fermentação								
	GLI	MAL	SAC	GAL	LAC	RAF	TRE	XIL	MEL	GLI	MAL	SAC	GAL	LAC	RAF	TRE	XIL	MEL
<i>C. albicans</i>	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+(v)	-	-	+/-	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-(v)	-(v)	+/--(v)	-	-	-	-	-
<i>C. tropicalis</i>	+	+	+(v)	+	-	-	+	+	-	+	+	+(v)	+(v)	-	-	+/-	+/-	-
<i>C. krusei</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. glabrata</i>	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-

GLI: Glicose, MAL: Maltose, SAC: Sacarose, GAL: Galactose, LAC: Lactose, RAF: Rafnose, TRE: Trealose, XIL: Xilose, MEL: Melibiose

4.4 Testes de susceptibilidade aos antifúngicos: cetoconazol, fluconazol, itraconazol e anfotericina B.

4.4.1 Metodologia comercial Etest

O Etest foi utilizado de acordo com instruções do fabricante (AB Biodisk comercializado pela Probac do Brasil). Meio Sabouraud-dextrose sem cloranfenicol foi preparado em placas para o uso do Etest. Cada colônia de levedura do gênero *Candida* a ser testada, foi repicada em Sabouraud-dextrose ágar sem cloranfenicol e incubada por 24 h à 35° C. Foram realizadas suspensões individuais das colônias a serem testadas em 5 mL de salina (0,85 %) estéril correspondendo a 0,5 da escala de McFarland. Cada suspensão foi inoculada em placas de Petri de 150 mm contendo ágar Sabouraud sem cloranfenicol, usando swab estéril, estriando de forma homogênea toda a superfície do ágar. Aguardou-se 15 min para absorver (secar) o excesso da mistura, após as fitas Etest impregnadas com os antifúngicos: cetoconazol, itraconazol, voriconazol e anfotericina B em concentração de 32 a 0,002 µg/mL e o antifúngico fluconazol na concentração de 256 a 0,016 µg/mL, foram aplicadas sobre a superfície do ágar com o auxílio de pinça estéril. A CIM dos compostos foi determinada como a concentração mais baixa da droga que a elipse conseguiu inibir e interceptar a tira de antifúngico, após incubação à 35° C e leitura realizada após 24 hs.

4.5 Procedimento de análise dos resultados

Os dados foram tabulados e apresentados em tabelas de distribuição de frequência de variáveis categóricas e gráficos de dispersão das CIM dos antifúngicos por espécies de fungo.

Para comparação da incidência das infecções hospitalares fúngicas nos dois hospitais valeu-se da determinação do seu intervalo de confiança (IC 95%).

5. RESULTADOS

5.1 Infecção hospitalar nas unidades avaliadas

Durante o período compreendido entre março/2006 a fevereiro/2008 foram admitidos um total de 24.760 pacientes em ambas unidades hospitalares avaliadas

A incidência de infecção hospitalar geral nesses dois hospitais foi de 18,1%.

Infecção hospitalar fúngica foi confirmada em 66 pacientes internados nos dois hospitais, representando 3,0% de todas as infecções hospitalares dessas instituições. O hospital A contribuiu com 33 (2,3%) – IC 95% - (1,6-3,2) e o hospital B com 33 (4,4%) - IC 95% - (3,13-6,26). A diferença observada entre os hospitais não foi estatisticamente significativa.

5.2 Isolamento das colônias fúngicas provenientes dos pacientes com infecção hospitalar

Os espécimens clínicos (urina, sangue, ponta de cateter, lavado broncoalveolar, secreção ocular e secreção da parede abdominal) foram obtidos de 66 pacientes internados nos hospitais universitários no período compreendido entre março de 2006 a fevereiro de 2008. Dos 66 pacientes foram obtidos 89 isolados clínicos.

5.3 Caracterização dos pacientes com infecção hospitalar fúngica

5.3.1 Perfil demográfico dos pacientes com infecção hospitalar fúngica

A idade média dos pacientes internados nos hospitais universitários foi igual a 46,5 anos, variando de 0 a 93 anos. Infecções hospitalares fúngicas foram confirmadas em 35 pacientes do sexo feminino (53,0%) e em 31 pacientes do sexo masculino (47,0%) (Tabela 3).

Tabela 3 – Dados demográficos dos 66 pacientes com infecção hospitalar fúngica internados nos hospitais universitários de Cuiabá-MT, 2006-2008.

Variáveis	Frequência	Porcentagem (%)
Idade (anos)		
0-10	12	18,1
11-20	2	3,0
21-30	5	7,7
31-40	8	12,1
41-50	5	7,7
51-60	10	15,1
61-70	16	24,2
71-80	7	10,6
>81	1	1,5
Sexo		
Masculino	31	47,0
Feminino	35	53,0

5.3.2 Doenças de base, condições associadas e procedimentos invasivos nos pacientes internados nos hospitais universitários de Cuiabá-MT, 2006-2008.

Em relação as doenças de base dos pacientes internados nos hospitais universitários, foi observado que: 16 (24,2%) pacientes apresentavam neoplasia, 14 (21,2%) pacientes apresentavam doença pulmonar, 10 (15,1%) pacientes apresentavam *diabetes mellitus*, 2 (3,0%) pacientes apresentaram AIDS e 1 (1,5%) apresentou *lupus* (Tabela 4).

Tabela 4 – Distribuição dos pacientes internados nos hospitais universitários de Cuiabá-MT, 2006-2008 quanto às doenças de base.

Doenças de base	Frequência	Porcentagem (%)
Neoplasia	16	24,2
Doença pulmonar	14	21,2
<i>Diabetes mellitus</i>	10	15,1
AIDS	2	3,0
Lupus	1	1,5

Dos 43 pacientes foi constatado que em 23, não foi possível resgatar dados clínicos-epidemiológicos.

Em relação às condições associadas nos pacientes internados nos hospitais universitários, foi observado que: 59 (89,4%) pacientes fizeram uso de antibiótico prévio, em 33 (50,0%) pacientes foi realizada algum tipo de cirurgia, 15 (22,7%) pacientes estiveram hospitalizados previamente, 15 (22,7%) pacientes foram submetidos à hemodiálise, 15 (22,7%) pacientes apresentaram desnutrição, 14 (21,2%) pacientes fizeram uso de corticóides, 10 (15,1%) pacientes foram submetidos à quimioterapia, 15 (22,7%) pacientes fizeram uso de antifúngico prévio, 5 (7,6%) pacientes eram recém-nascidos (RN) prematuros e 4 (6,0%) pacientes apresentaram neutropenia (Tabela 5).

Tabela 5 – Condições clínicas associadas entre os pacientes internados nos hospitais universitários de Cuiabá-MT, 2006-2008.

Condições associadas	Frequência	Porcentagem (%)
Neutropenia	4	6,0
Doença que requereu cirurgia	33	50,0
Uso de corticóides	14	21,2
Quimioterapia	10	15,1
Hemodiálise	15	22,7
Desnutrição	15	22,7
Hospitalização prévia	15	22,7
Antifúngico prévio	9	13,6

RN prematuro	5	7,6
Antibiótico prévio	59	89,4

Em relação aos procedimentos invasivos realizados nos pacientes internados nos hospitais universitários, foi observado que: 50 (75,7%) pacientes fizeram uso de sonda vesical, 43 (65,1%) pacientes fizeram uso de cateter venoso central, 45 (68,2%) pacientes foram submetidos à ventilação mecânica, 29 (43,9%) pacientes utilizaram nutrição parenteral, 20 (30,3%) pacientes fizeram traqueostomia, 20 (30,3%) pacientes fizeram uso de sonda nasoenteral e 17 (25,7%) pacientes utilizaram dreno (Tabela 6).

Tabela 6 – Distribuição quanto aos procedimentos invasivos dos pacientes internados nos hospitais universitários de Cuiabá-MT, 2006-2008.

Procedimentos invasivos	Frequência	Porcentagem (%)
Presença de cateter venoso central	43	65,1
Nutrição parenteral	29	43,9
Sonda vesical	50	75,7
Dreno	17	25,7
Ventilação mecânica	45	68,2
Sonda nasoenteral	20	30,3
Traqueostomia	20	30,3

5.4 Identificação das espécies

A partir dos materiais clínicos (sangue, urina, ponta de cateter, lavado broncoalveolar e secreções), foram isoladas colônias com características macroscópicas sugestivas de leveduras do gênero *Candida*. As características morfotintoriais foram confirmadas pós coloração de Gram (Figura 1). Para a confirmação da pureza das colônias e identificação presuntiva foi utilizado o meio cromogênico CHROMagar (Figura 2). Em seguida procedeu-se a identificação das espécies, utilizando-se as provas bioquímicas (auxanograma e zimograma) (figuras 4 e 5, respectivamente), micromorfológicas (técnica de Ridell) além da prova do tubo germinativo (Figura 3).

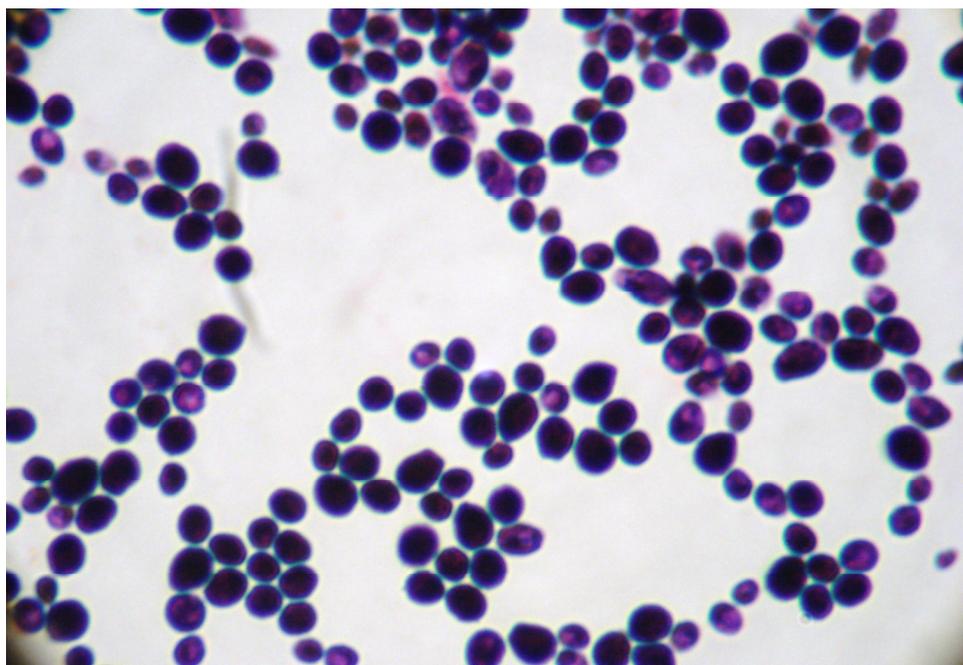


Figura 1 - Colônias de leveduras do gênero *Candida* coradas pela técnica de Gram
Amostra n°: 805 HC.

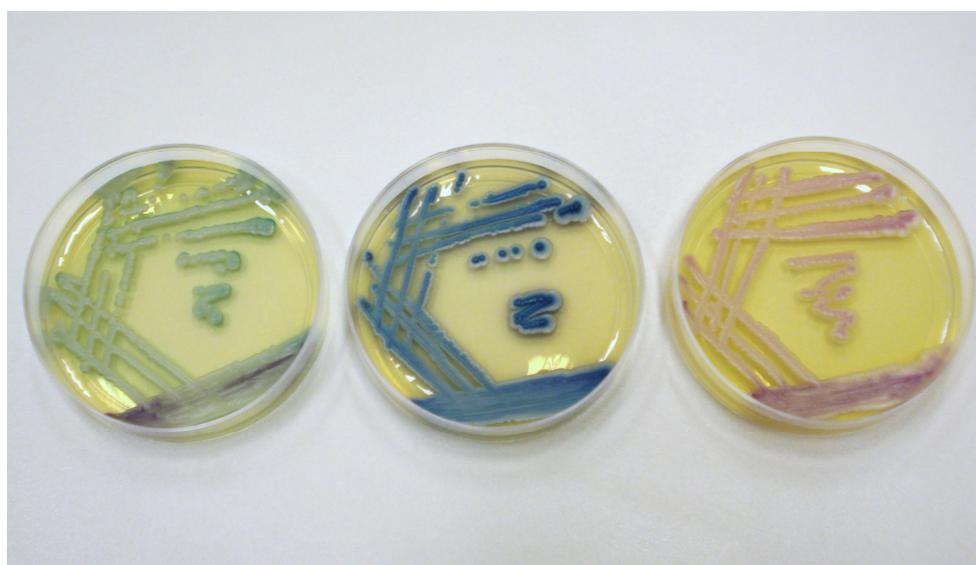


Figura 2 - Plaqueamento de colônias de leveduras do gênero *Candida* em meio CHROMagar
Amostras n°: 805 HC, 312/10, 205/7 respectivamente.

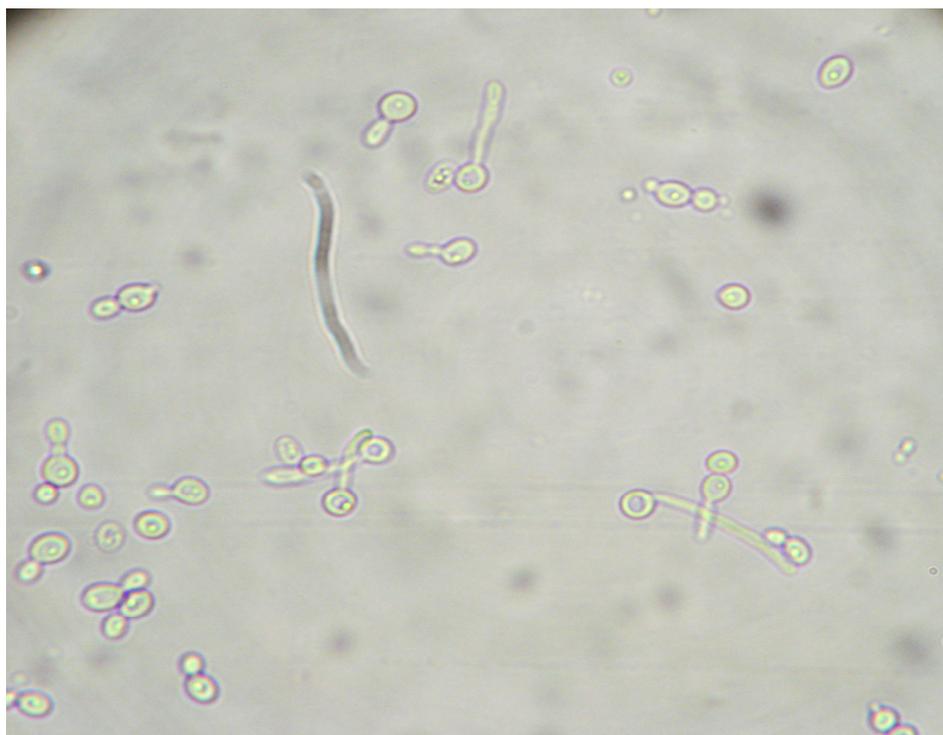


Figura 3 – Presença de tubo germinativo de levedura da espécie *Candida albicans*
Amostra n°: 805 HC.

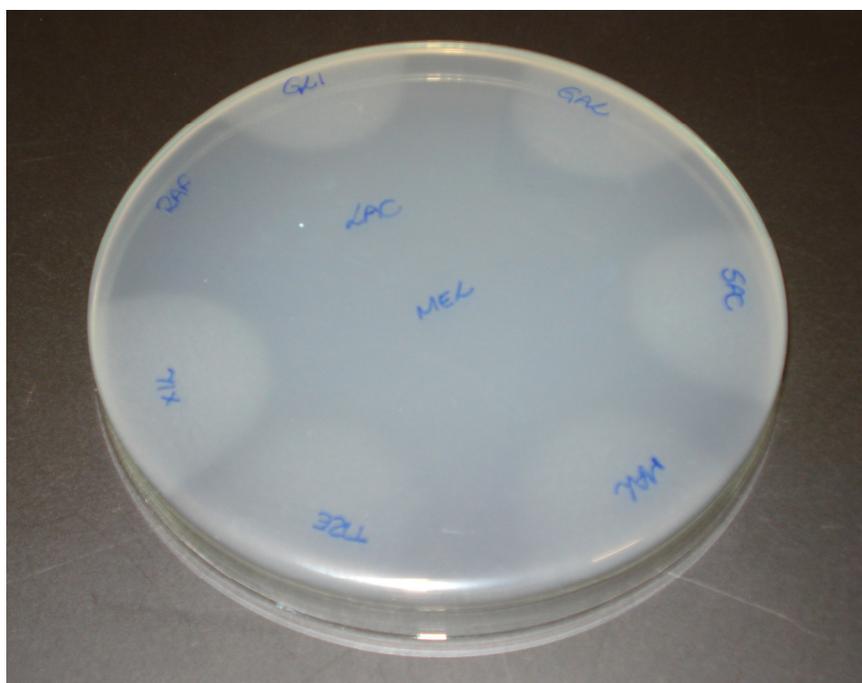


Figura 4 – Teste de assimilação de carboidratos com leveduras do gênero *Candida*.
Amostra n°: 805 HC – *C. albicans*.



Figura 5 – Teste de fermentação de carboidratos, evidenciando fermentação e formação de gás em glicose, maltose, galactose e trealose com leveduras do gênero *Candida*.

Amostra n°: 805 HC – *C. albicans*

Das 89 amostras identificadas de pacientes internados nos hospitais universitários obedeceram à seguinte distribuição: 40 (45,0%) foram identificadas como *Candida tropicalis* (Figura 6), 31 (34,8%) como *Candida albicans* (Figura 7), 14 (15,7%) como *Candida parapsilosis* (Figura 8), 3 (3,4%) como *Candida glabrata* (Figura 9) e 1 (1,1%) como *Candida rugosa* (Figura 10), (Figura 11).



Figura 6 - Aspecto micromorfológico de leveduras da espécie *C. tropicalis*
Amostra nº 312/10

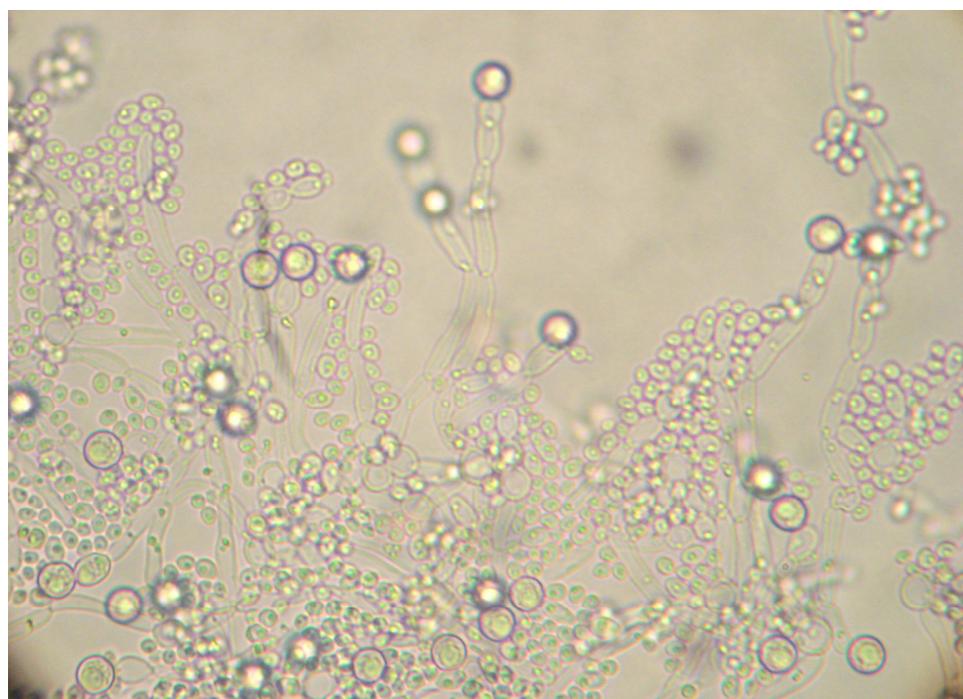


Figura 7 - Aspecto micromorfológico de leveduras da espécie *C. albicans*
Amostra nº 805 HC

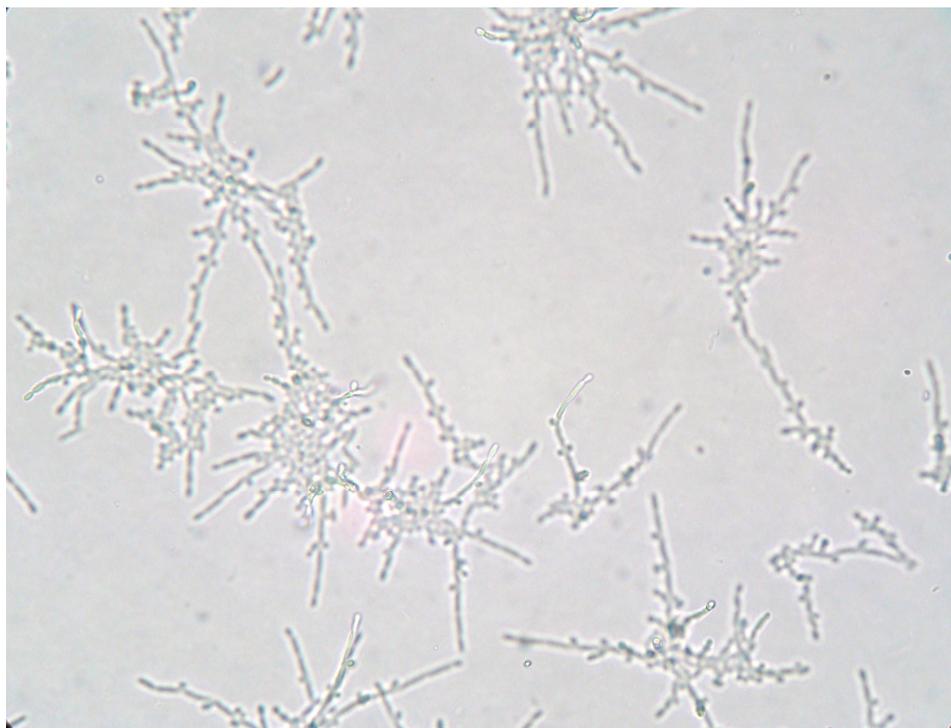


Figura 8 - Aspecto micromorfológico de leveduras da espécie *C. parapsilosis*
Amostra n° 205/7

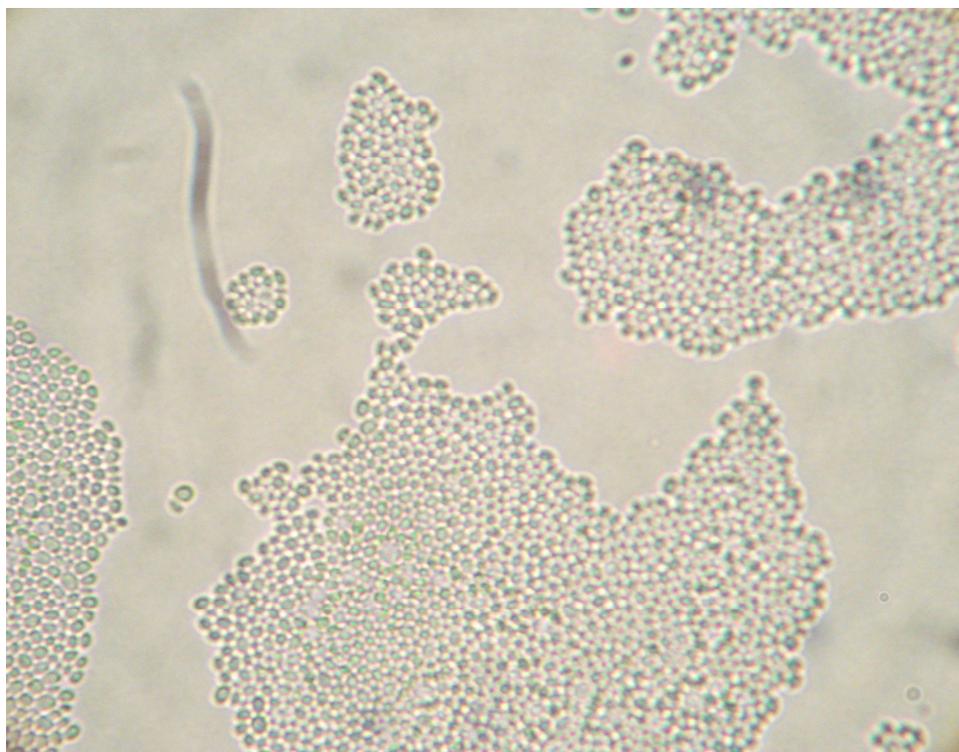


Figura 9 - Aspecto micromorfológico de leveduras da espécie *C. glabrata*
Amostra n° 04 HGU

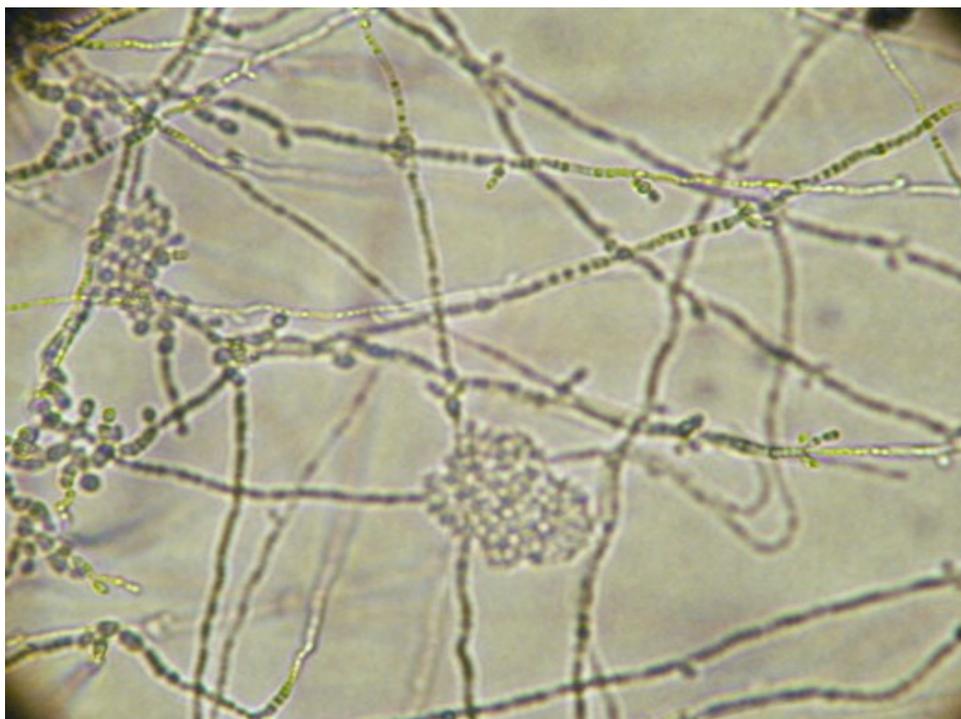


Figura 10 - Aspecto micromorfológico de leveduras da espécie *C. rugosa*
Amostra n° 02 HGU

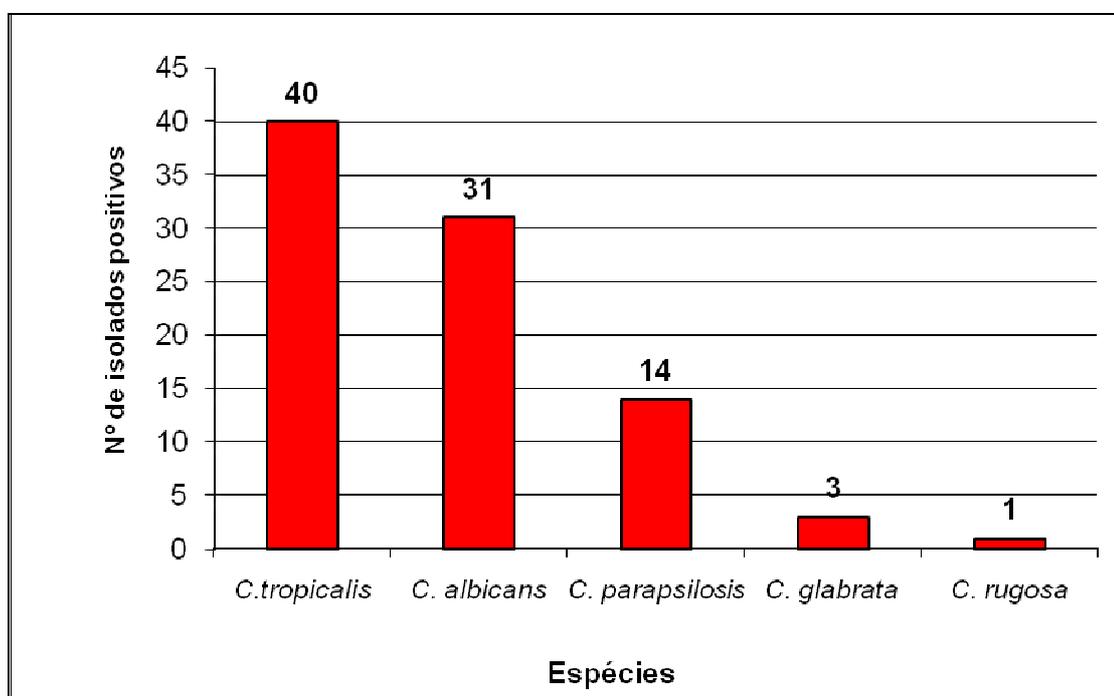


Figura 11 – Identificação das espécies de leveduras do gênero *Candida* em amostras biológicas de pacientes internados nos hospitais universitários de Cuiabá-MT, 2006-2008.

Considerando a quantidade de amostras por unidades de internações dos hospitais universitários, observou-se que: 32 (36,0%) amostras foram colhidas de pacientes que se encontravam internados na UTI/adulto, 17 (19,1%) amostras na UTI/neonatal, 21 (23,6%) amostras na clínica médica, 15 (16,8%) amostras na clínica cirúrgica e 4 (4,5%) amostras na clínica pediátrica (Figura 12).

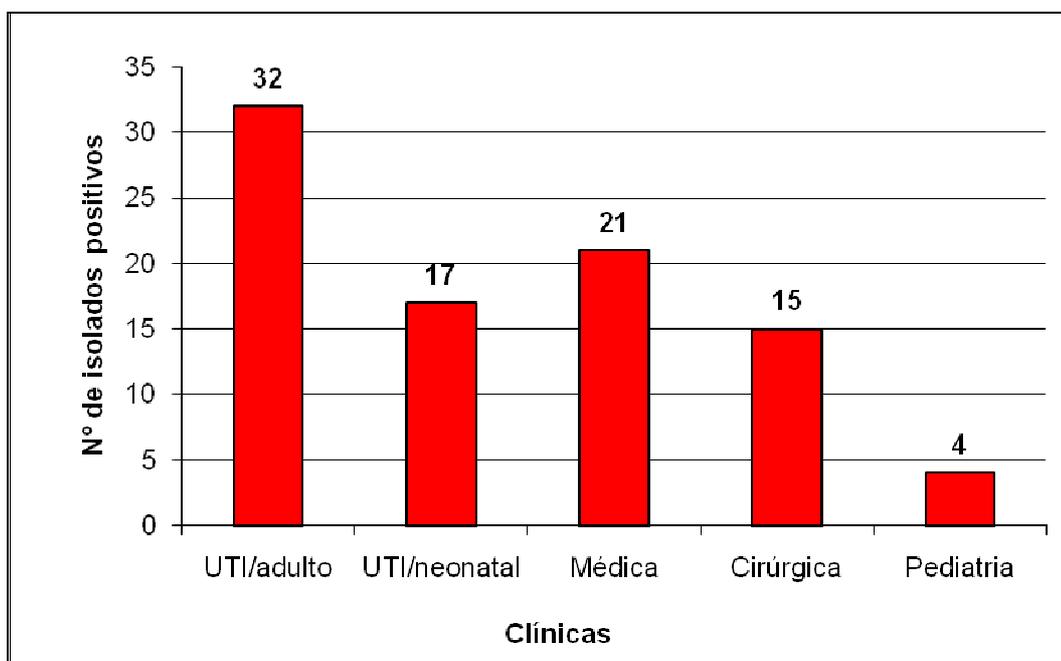


Figura 12 – Quantidade de amostras distribuídas por unidade de internação dos pacientes internados nos hospitais universitários de Cuiabá-MT, 2006-2008.

Das 27 hemoculturas oriundas de pacientes internados nos hospitais universitários observou-se que: 8 (29,0%) corresponderam à *C. tropicalis*, 11 (42,0%) à *C. albicans* e 8 (29,0%) à *C. parapsilosis* (Figura 13).

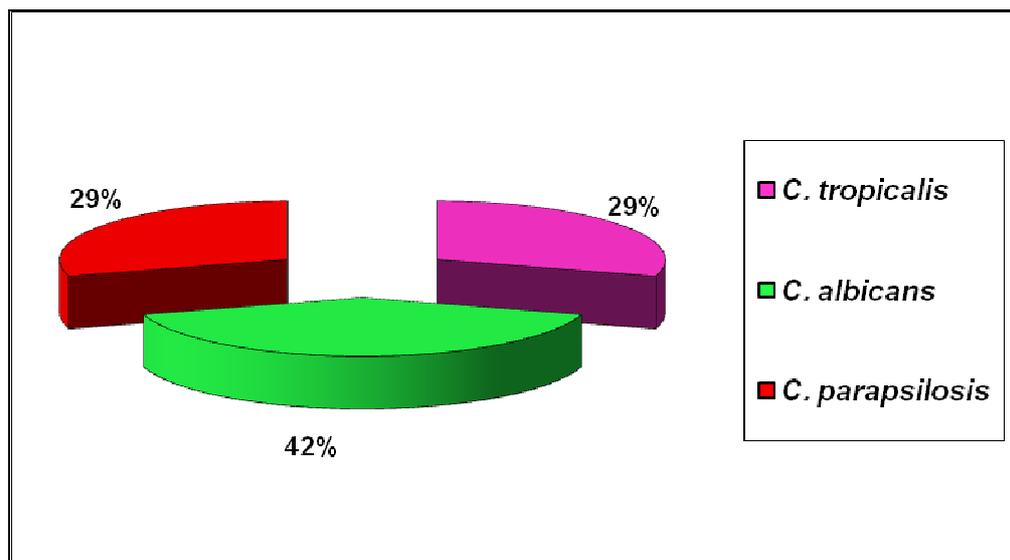


Figura 13 – Distribuição das espécies de leveduras do gênero *Candida* identificadas em hemoculturas dos hospitais universitários de Cuiabá-MT, 2006-2008.

Em outros espécimens clínicos dos hospitais universitários, observou-se que: em 45 isolados de urina, 26 (57,8%) corresponderam à *C. tropicalis*, 13 (28,9%) à *C. albicans*, 2 (4,4%) à *C. parapsilosis*, 3 (6,7%) à *C. glabrata* e 1 (2,2%) à *C. rugosa*; em 13 isolados de ponta de cateter, 6 (46,1%) corresponderam à *C. albicans*, 3 (23,1%) à *C. tropicalis* e 4 (30,8%) à *C. parapsilosis*; *C. tropicalis* foi recuperada em 2 (100%) isolados de lavado broncoalveolar ; *C. albicans* foi detectada em 01 (100%) isolado de secreção ocular, e *C. tropicalis* foi recuperada em 1 (100%) isolado da secreção da parede abdominal (Figura 14).

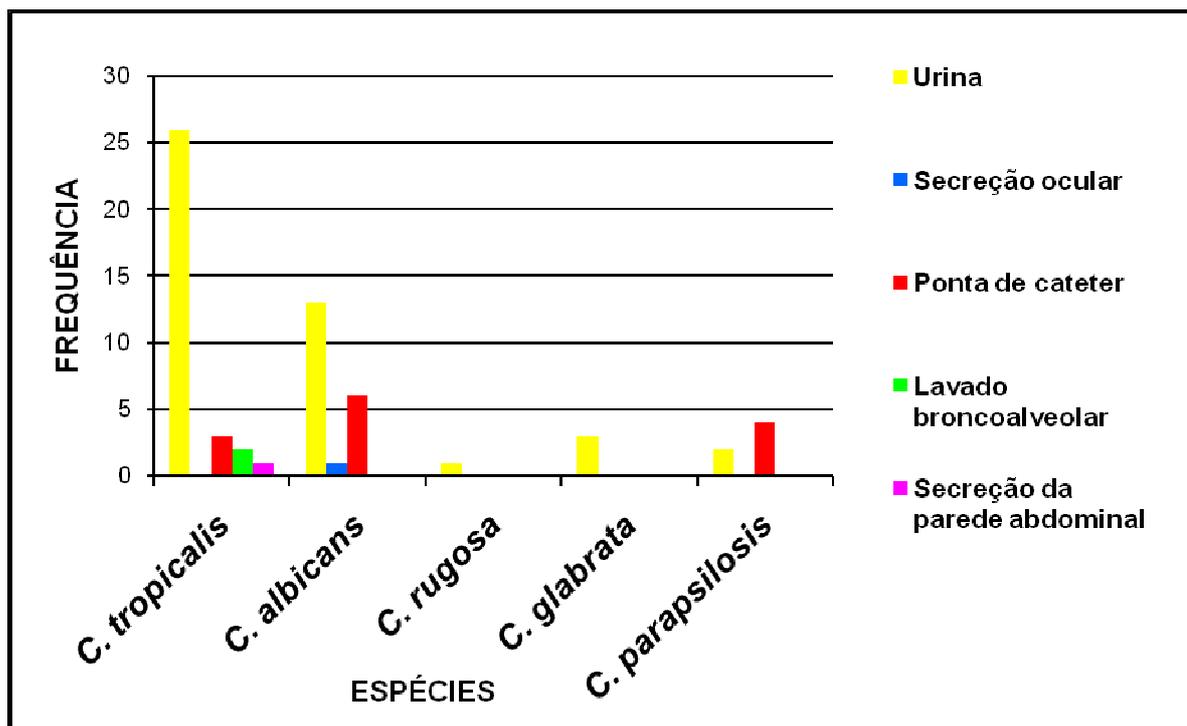


Figura 14 - Distribuição das espécies de leveduras do gênero *Candida* identificadas em outros espécimes clínicos nos hospitais universitários de Cuiabá-MT, 2006-2008.

Em relação à distribuição das leveduras identificadas por unidade de internação nos hospitais universitários observou-se que: na UTI/adulto foram obtidas 16 (53,4%) *C. tropicalis*, 11 (36,7%) *C. albicans*, 1 (3,3%) *C. parapsilosis*, 1 (3,3%) *C. glabrata*, 1 (3,3%) *C. rugosa*; na UTI/neonatal foram isoladas 6 (35,3%) *C. tropicalis*, 2 (11,8%) *C. albicans* e 9 (52,9%) *C. parapsilosis*; na clínica cirúrgica foram identificadas 5 (33,3%) *C. tropicalis* e 10 (66,7%) *C. albicans*; na clínica médica 9 (47,4%) *C. tropicalis*, 7 (36,8%) *C. albicans*, 1 (5,3%) *C. glabrata* e 2 (10,5%) *C. parapsilosis* e na clínica pediátrica 1 (25,0%) *C. tropicalis*, 2 (50,0%) *C. albicans* e 1 (25,0%) *C. parapsilosis* (Figura 15).

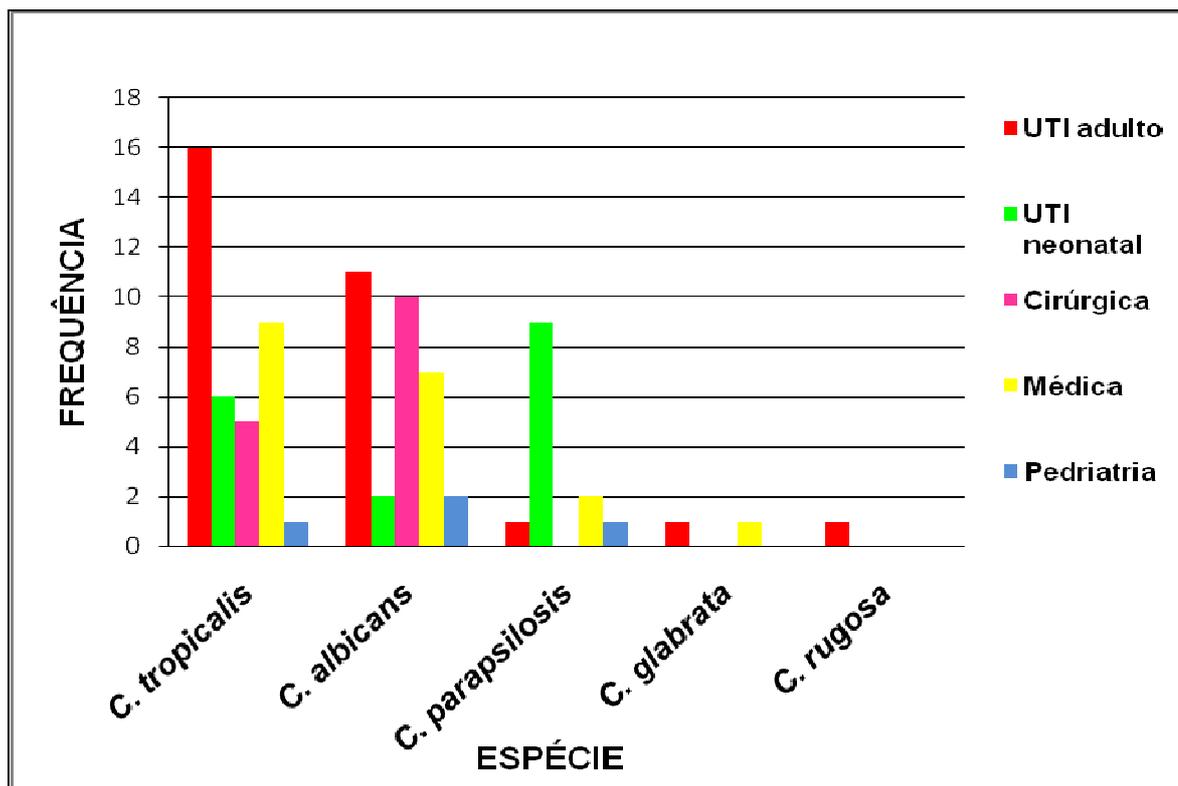


Figura 15 – Distribuição das espécies de leveduras do gênero *Candida* identificadas por unidade de internação em pacientes internados nos hospitais universitários de Cuiabá-MT, 2006-2008.

5.5 Determinação da concentração inibitória mínima de cinco drogas antifúngicas testadas para leveduras do gênero *Candida* isoladas de pacientes com infecção hospitalar em dois hospitais universitários de Cuiabá – MT.

Foram determinadas as concentrações inibitórias mínimas do cetoconazol, fluconazol, itraconazol, voriconazol e anfotericina B para os 89 isolados de leveduras do gênero *Candida* de pacientes internados nos hospitais universitários pela metodologia comercial usando fitas de Etest, com leitura realizada após 24 horas. Os resultados das CIM das cinco drogas estão representados nas figuras 16, 17 e 18.

A variação entre os valores mínimos e máximos das CIM dos isolados de pacientes internados nos hospitais universitários e ainda os valores da CIM₅₀ e

CIM₉₀ estão apresentados na tabela 7. Estes valores representam a concentração inibitória mínima suficiente para inibir 50% dos isolados e 90% dos isolados respectivamente.

As CIM₅₀ e CIM₉₀ do isolado de *C.rugosa* e o CIM₉₀ da *C. glabrata* não foram determinadas devido ao restrito número de amostras (n=1 e n=3, respectivamente).

5.5.1 Etest

Os valores de CIM dos antifúngicos referentes à *C. albicans* para os isolados de pacientes internados nos hospitais universitários após 24 horas oscilaram entre 0,023 e >32 µg/mL para o cetoconazol, 0,19 e >256 µg/mL para o fluconazol, 0,006 e >32 µg/mL para o itraconazol, 0,006 e >32 µg/mL para o voriconazol e 0,002 e 0,75 µg/mL para a anfotericina B. Com relação aos valores de CIM₅₀ e CIM₉₀, respectivamente, foram observados valores de 0,19 e >32 µg/mL para o cetoconazol, 3,0 e >256 µg/mL para o fluconazol, 0,032 e >32 µg/mL para o itraconazol, 0,047 e >32 µg/mL para o voriconazol e 0,38 e 0,75 µg/mL para a anfotericina B (Tabela 7).

Para os isolados de *C. parapsilosis* de pacientes internados nos hospitais universitários, os valores oscilaram entre 0,008 e >32 µg/mL para o cetoconazol, 0,16 e >256 µg/mL para o fluconazol, 0,002 e >32 µg/mL para o itraconazol, 0,006 e >32 µg/mL para o voriconazol e 0,002 e 3,0 µg/mL para a anfotericina B. Com relação aos valores de CIM₅₀ e CIM₉₀, respectivamente, foram observados valores de 0,032 e 0,25 µg/mL para o cetoconazol, 1,5 e 3,0 µg/mL para o fluconazol, 0,016 e 0,125 µg/mL para o itraconazol, 0,019 e 0,125 µg/mL para voriconazol e 0,75 e 1,0 µg/mL para a anfotericina B (Tabela 7).

Para os isolados de *C. tropicalis* de pacientes internados nos hospitais universitários, os valores oscilaram entre 0,008 e >32 µg/mL para o cetoconazol, 0,125 e >256 µg/mL para o fluconazol, 0,002 e >32 µg/mL para o itraconazol, 0,002 e >32 µg/mL para o voriconazol e 0,047 e 1,0 µg/mL para a anfotericina B. Com relação aos valores de CIM₅₀ e CIM₉₀, respectivamente, foram observados valores de 1,5 e >32 µg/mL para o cetoconazol, 4,0 e >256 µg/mL para o fluconazol, 0,19 e >32 µg/mL para o itraconazol, 0,125 e >32 µg/mL para voriconazol e 0,75 e 1,0 µg/mL para a anfotericina B (Tabela 7).

Para os isolados de *C. glabrata* de pacientes internados nos hospitais universitários, os valores oscilaram entre 1,5 e >32 µg/mL para o cetoconazol, 8,0 e >256 µg/mL para o fluconazol, 1,5 e >32 µg/mL para o itraconazol, 0,19 e >32 µg/mL para voriconazol e 0,125 e 0,50 µg/mL para a anfotericina B. Com relação aos valores de CIM₅₀, foram observados 1,5 µg/mL para o cetoconazol, 12,0 µg/mL para o fluconazol, 2,0 µg/mL para o itraconazol, 0,25 µg/mL para o voriconazol e 0,38 µg/mL para a anfotericina B (Tabela 7).

Para o isolado de *C. rugosa* de paciente internados nos hospitais universitários, o valor foi de 0,75 µg/mL para o cetoconazol, 24,0 µg/mL para o fluconazol, 0,32 µg/mL para o itraconazol, 0,125 µg/mL para o voriconazol e 0,38 µg/mL para a anfotericina B (Tabela 7).

Tabela 7 - Variações das concentrações inibitórias mínimas (CIM), CIM₅₀ e CIM₉₀ de cinco drogas antifúngicas testadas contra isolados de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. rugosa* em pacientes internados nos hospitais universitários, determinadas pela metodologia comercial Etest.

Amostras e Drogas antifúngicas	ETEST		
	Faixa intervalar (µg/mL)	CIM ₅₀ (µg/mL)	CIM ₉₀ (µg/mL)
<i>C. albicans</i> (31)			
Cetoconazol	0,023 - >32	0,19	>32
Fluconazol	0,19 - >256	3,0	>256
Itraconazol	0,006 - >32	0,032	>32
Voriconazol	0,006 - >32	0,047	>32
Anfotericina B	0,002 - 0,75	0,38	0,75
<i>C. parapsilosis</i> (14)			
Cetoconazol	0,008 - >32	0,032	0,25
Fluconazol	0,16 - >256	1,5	3,0
Itraconazol	0,002 - >32	0,016	0,125
Voriconazol	0,006 - >32	0,019	0,125
Anfotericina B	0,002 - 3,0	0,75	1,0
<i>C. tropicalis</i> (40)			
Cetoconazol	0,008 - >32	1,5	>32
Fluconazol	0,125 - >256	4,0	>256
Itraconazol	0,002 - >32	0,19	>32
Voriconazol	0,002 - >32	0,125	>32
Anfotericina B	0,047 - 1,0	0,75	1,0
<i>C. glabrata</i> (3)			
Cetoconazol	1,5 - >32	1,5	-
Fluconazol	8,0 - >256	12	-
Itraconazol	1,5 - >32	2,0	-
Voriconazol	0,19 - >32	0,25	-
Anfotericina B	0,125 - 0,50	0,38	-
<i>C. rugosa</i> (1)			
Cetoconazol	0,75	-	-
Fluconazol	24	-	-
Itraconazol	0,32	-	-
Voriconazol	0,125	-	-
Anfotericina B	0,38	-	-

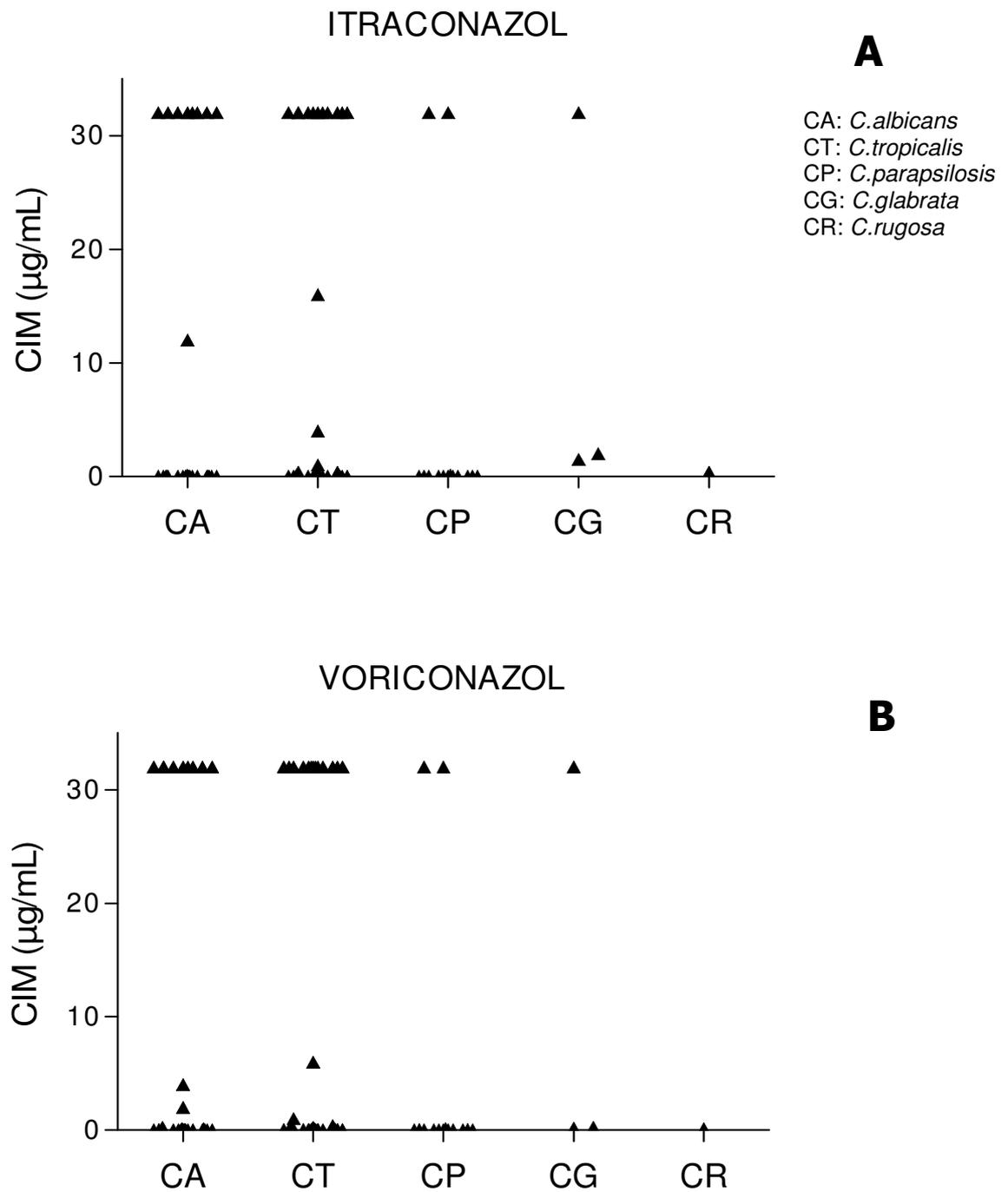


Figura 17 – Distribuição dos valores de CIM de itraconazol (A) e voriconazol (B) frente às espécies de leveduras do gênero *Candida*, isoladas de pacientes com infecção hospitalar fúngica, nos hospitais universitários, Cuiabá (MT), 2006-2008.

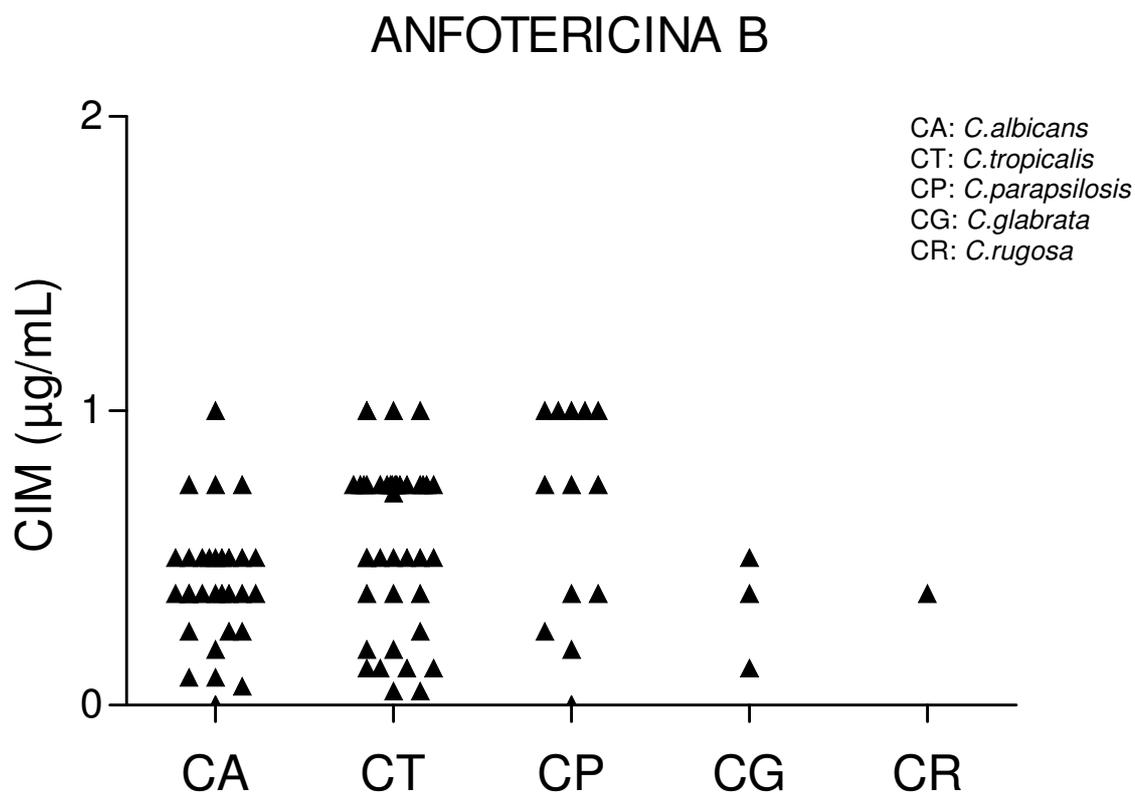


Figura 18 – Distribuição dos valores de CIM de anfotericina B frente às espécies de leveduras do gênero *Candida*, isoladas de pacientes com infecção hospitalar fúngica, nos hospitais universitários, Cuiabá (MT), 2006-2008.

5.5.2 Variação do perfil de susceptibilidade às drogas antifúngicas obtido pela metodologia comercial Etest

Os resultados dos perfis de susceptibilidade dos isolados de pacientes internados nos hospitais universitários, obtidos neste estudo, para as cinco drogas antifúngicas, estão representados na tabela 8.

Os isolados de *C. albicans* apresentaram 64,5% de susceptibilidade, 3,2% de susceptibilidade dose-dependente e 32,3% de resistência ao voriconazol, 67,7% de susceptibilidade e 32,3% de resistência ao cetoconazol, 61,3% de susceptibilidade, 6,4% de

susceptibilidade dose-dependente e 32,3% de resistência ao fluconazol, 71,0% de susceptibilidade e 29,0% de resistência ao itraconazol e 100% de susceptibilidade a anfotericina B (Tabela 8).

Os isolados de *C. tropicalis* apresentaram 65,0% de susceptibilidade e 35,0% de resistência ao voriconazol, 67,5% de susceptibilidade e 32,5% de resistência ao cetoconazol, 60,0% de susceptibilidade e 40,0% resistente ao fluconazol, 57,5% de susceptibilidade, 7,5% de susceptibilidade dose-dependente e 35,0% de resistência ao itraconazol e 100% de susceptibilidade à anfotericina B (Tabela 8).

Os isolados de *C. parapsilosis* apresentaram 85,7 % de susceptibilidade e 14,3 % de resistência ao voriconazol, cetoconazol, itraconazol e fluconazol e 100% de susceptibilidade à anfotericina B (Tabela 8).

Os isolados de *C. glabrata* apresentaram 66,7% de susceptibilidade e 33,3% de resistência ao voriconazol e ao cetoconazol, 33,4% de susceptibilidade, 33,3% de susceptibilidade dose-dependente e 33,3% de resistência ao fluconazol, 100% de resistência ao itraconazol e 100% de susceptibilidade à anfotericina B (Tabela 8).

O isolado de *C. rugosa* de paciente internado no hospital A apresentou 100% de susceptibilidade ao voriconazol, cetoconazol, itraconazol e anfotericina B e 100% de susceptibilidade dose-dependente ao fluconazol (Tabela 8).

Tabela 8 – Perfis de susceptibilidade *in vitro* de isolados de leveduras do gênero *Candida* em pacientes internados nos hospitais universitários utilizando metodologia Etest.

Amostras	Voriconazol			Cetoconazol			Fluconazol			Itraconazol			Anfotericina B		
	S	SDD	R	S	SDD	R	S	SDD	R	S	SDD	R	S	SDD	R
	CIM (µg/mL)			CIM (µg/mL)			CIM (µg/mL)			CIM (µg/mL)			CIM (µg/mL)		
	≤ 1,0	2,0	≥ 4,0	< 4,0	-	≥ 4,0	≤ 8,0	16 - 32	≥ 64	≤ 0,125	0,25 - 0,5	≥ 1,0	≤ 1,0	-	>1,0
<i>C. albicans</i> (31)	20 (64,5%)	1 (3,2%)	10 (32,3%)	21 (67,7%)	-	10 (32,3%)	19 (61,3%)	2 (6,4%)	10 (32,3%)	22 (71,0%)	0	9 (29,0%)	31 (100%)	-	0
<i>C. tropicalis</i> (40)	26 (65%)	0	14 (35%)	27 (67,5%)	-	13 (32,5%)	24 (60,0%)	0	16 (40,0%)	23 (57,5%)	3 (7,5%)	14 (35%)	40 (100%)	-	0
<i>C. parapsilosis</i> (14)	12 (85,7%)	0	2 (14,3%)	12 (85,7%)	0	2 (14,3%)	12 (85,7%)	0	2 (14,3%)	12 (85,7%)	0	2 (14,3%)	14 (100%)	-	0
<i>C. glabrata</i> (3)	2 (66,7%)	0	1 (33,3%)	2 (66,7%)	-	1 (33,3%)	1 (33,3%)	1 (33,3%)	1 (33,3%)	0	0	3 (100%)	3 (100%)	-	0
<i>C. rugosa</i> (1)	1 (100%)	0	0	1(100%)	0	0	0	1(100%)	0	1(100%)	0	0	1(100%)	-	0

S – Susceptibilidade / **SDD** – Susceptibilidade Dose-Dependente / **R** – Resistência

Pontos de susceptibilidade estabelecidos para leveduras do gênero *Candida* em µg/mL (Rex *et al.*, 1997, Espinel-Ingroff *et al.*, 1998)

6. DISCUSSÃO

Neste estudo foi possível observar que infecções hospitalares fúngicas fizeram-se presentes nas unidades avaliadas, e os microrganismos isolados corresponderam em sua totalidade às leveduras do gênero *Candida*.

Infecções hematogênicas por leveduras do gênero *Candida* (candidemia) tem aumentado consideravelmente, em especial nas unidades de terapia intensiva e ou de assistência a pacientes críticos. O aumento na frequência de candidemia tem sido observado particularmente entre pacientes em uso de antibioticoterapia, terapia imunossupressora, nutrição parenteral, e em pacientes expostos a múltiplos procedimentos invasivos (Zeichner & Pappas, 2006; França *et al.*, 2008)

No Brasil, as principais espécies causadoras de candidemia são *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis* (Colombo, 2000; Colombo *et al.*, 2006).

As espécies não-*albicans* estão classicamente associadas à neoplasia e o uso prévio de fluconazol entre outros (Viudes *et al.*, 2002). Neste estudo foi observado que a neoplasia e doenças pulmonares foram as doenças de base mais frequentes. Os valores numéricos mostraram-se superiores àqueles encontrados por França *et al.* (2008), mostrando que dos 40 pacientes avaliados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (2001-2004) 19 (19,0%) apresentaram doença pulmonar.

Destaca-se neste estudo as condições associadas mais frequentes aos pacientes confirmados para infecções hospitalares por leveduras do gênero *Candida* em ordem decrescente a seguir: antibioticoterapia, doença que requereu cirurgia e hospitalização prévia. Comparando os dados obtidos por França *et al.* (2008), observa-se que antibioticoterapia ocupou posição de destaque entre as condições frequentes, dado coincidente ao obtido neste estudo porém na seqüência foram encontradas: presença de cateter venoso central (77%), bloqueador H₂ (57%), nutrição parenteral total (49%), internamento na unidade de terapia intensiva (41%), uso de corticóide (39%), cirurgia do aparelho digestivo (35%).

Recentemente, Hinrichsen *et al.* (2008), registraram dados em estudo sobre candidemia em hospital terciário do nordeste do Brasil que a doença de base mais predominante foi a pulmonar (48%), seguida pela neurológica (33%), cardíaca (29%) e hepática (29%). Entre as condições associadas as mais frequentes foram: uso de antibióticos (90%), internação na unidade de terapia intensiva (62%), presença de cateter venoso central (57%) e uso de corticóide (52%). Neste estudo, o uso de corticóide correspondeu a 21,2%, refletindo a metade do valor obtido por Hinrichsen *et al.*. Ainda, em relação às condições associadas mais frequentes, há registro na literatura referente a um estudo prospectivo observacional de candidemia em São Paulo apresentando taxa de incidência, epidemiologia e

a preditores de mortalidade. Colombo *et al.* (2007) no referido estudo, avaliaram a mortalidade associada à espécie de *Candida* em pacientes com candidemia em quatro centros médicos. Dentre os fatores associados em análise univariada de prognóstico e 30 dias (mortalidade) entre pacientes com candidemia, observou-se que hemodiálise (80%) e ventilação mecânica (75%) foram os preponderantes para os pacientes que morreram (n=172). Já para os pacientes que sobreviveram (n=110), o uso de bloqueadores H₂ (36%), quimioterapia (64%) e tratamento antifúngico (43%) estiveram dentre os mais frequentes. Comparando aos dados obtidos neste estudo, observa-se que para quimioterapia foi encontrado valor inferior (15,1%), possivelmente devido aos tipos de especialidades oferecidas nos dois hospitais avaliados em Cuiabá-MT. Vale ressaltar que no trabalho realizado por França *et al.* (2008) foi registrado por esses autores valor igual a 13% referente à quimioterapia como condição associada a pacientes com candidemia no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (2001-2004), sendo que esta unidade hospitalar (Hospital de Clínicas – UFPR) é caracterizada como hospital terciário, com capacidade para 635 leitos, incluindo serviço de transplantes de medula óssea, quimioterapia de alto risco e transplante hepático.

Em Mato Grosso do Sul, Chang *et al.* (2008) relataram condições associadas quando foram estudados 96 casos de infecção sanguínea por leveduras do gênero *Candida* em hospital terciário. Esses autores reportaram que doenças pulmonares (43,8%) e do trato gastrointestinal (33,4%) foram as mais frequentemente detectadas nos pacientes que apresentaram episódios de candidemia.

Considerando os dois hospitais avaliados em Cuiabá, em relação a presença de *diabetes mellitus* foi encontrado valor igual a 15,1%, sendo superior ao registrado pelo grupo de pesquisadores do Hospital Universitário em Campo Grande (MS) igual a 10,4%.

Analisando a faixa etária dos pacientes com candidemia, Chang *et al.* (2008) apresentaram os recém-nascidos (0-30 dias) contribuindo com 20,8% dos casos, seguidos por pacientes com idade superior a 60 anos (21,9%). Nos hospitais deste estudo, a faixa etária mais frequente associada às infecções fúngicas hospitalares correspondeu àquela com pacientes entre 61-70 anos (24,2%), seguida por aquela compreendendo pacientes na faixa etária de 0-10 anos (18,1%). Estes dados corroboram fatos e casuísticas mostrando que os pacientes de extremas idades são mais susceptíveis. De maneira geral, as condições e comorbidades associadas identificadas neste estudo são similares aquelas reportadas em outras investigações (Colombo *et al.*, 2007; França *et al.*, 2008; Chang *et al.*, 2008). Ferreira *et al.* (2009) relataram que de 168 episódios de candidemia avaliados, as doenças mais

frequentemente associadas foram doença crônica pulmonar (61,9%) e cardíaca (42,9%). *Diabetes mellitus* esteve presente em 24% dos pacientes. Além destes, transfusão sanguínea, cateter venoso central, nutrição parenteral e ventilação mecânica foram importantes fatores predisponentes para candidemia nosocomial.

Considerando procedimentos invasivos realizados em ambos os hospitais avaliados neste estudo foi observado que o uso de sonda vesical (75,8%), ventilação mecânica (68,2%) e presença de cateter venoso central (65,2%) estiveram dentre aquelas mais empregadas. Na região Nordeste, Hinrichsen *et al.* (2008), a presença de cateter venoso central foi associada a 57% em hospital terciário na cidade de Recife, valor inferior ao encontrado neste estudo. Ferreira *et al.* (2009 *In press*) avaliando quatro unidades hospitalares em Belo Horizonte, Brasil, mostraram que em um total de 152 pacientes com presença de cateter venoso central, 65 episódios ocasionados por leveduras do gênero *Candida* estiveram associadas à espécie *C. albicans* e 87 as espécies não-*albicans*. Este dado corrobora os achados nos hospitais em Cuiabá que aponta a tendência da elevação de espécies não-*albicans* (*C. tropicalis*).

Considerando a distribuição das espécies de leveduras do gênero *Candida* nas unidades hospitalares estudadas foi observado predomínio de *C. tropicalis* em pacientes acometidos por infecção fúngica hospitalar. Em relação aos episódios de candidemia, foi possível observar que a espécie *C. albicans* foi a mais isolada nos hospitais universitários de Cuiabá – MT. Em 2007, Nucci & Colombo registraram que *C. tropicalis* foi à segunda espécie mais frequente totalizando 20,9% das candidemias. Estes autores ressaltam que esta proporção é muito maior que a registrada na América do Norte e Europa (Asmundsdottir *et al.*, 2002; Garbino *et al.*, 2002; Pappas *et al.*, 2003; Poikoren *et al.*, 2003; Tortorano *et al.*, 2004, Almirante *et al.*, 2005).

Candidemia devido a *C. tropicalis* tem sido observada mais frequentemente em pacientes com câncer e neutropênicos (Wingard, 1995). Entretanto, Nucci & Colombo (2007), mostraram que alta proporção de casos de candidemia por *C. tropicalis* tem sido observada em diferentes cenários clínicos e em distintas faixas etárias. As razões para estas observações ainda não estão bem esclarecidas. Como mencionado anteriormente, *C. albicans* foi a espécie mais isolada em casos de candidemia neste estudo. Este dado merece ser comentado à luz de aspectos clínicos, epidemiológicos e microbiológicos referentes a 188 episódios registrados em 12 hospitais terciários incluindo 10 cidades das regiões Sul, Sudeste e Central do Brasil em dois períodos – Março/2003 a Dezembro/2004 (712 episódios de candidemia em 11 centros) e Abril/2005 a Fevereiro/2006 (212 episódios em 5 centros) (Nucci & Colombo,

2007). De um total de 924 episódios de candidemia, *C. albicans* (41,5%) foi à espécie mais frequente seguida por *C. tropicalis* (20%) e *C. parapsilosis* (20%).

Acredita-se que não existem razões claras para a alta proporção de candidemia nos centros brasileiros devido à *C. tropicalis*. Em estudo realizado nos EUA, a taxa de mortalidade entre 186 candidemias devido a *C. tropicalis* foi 42% (18% - crianças e 48% adultos) (Pappas *et al.*, 2003). Em outro estudo realizado na Europa, a taxa de mortalidade em 152 episódios de candidemia devido a *C. tropicalis* foi igual a 41,4% (Tortorano *et al.*, 2004). A alta proporção tem sido registrada em várias faixas etárias, embora o maior percentual tenha sido observado em adultos e pacientes idosos.

No estudo realizado por França *et al.* (2008) foi observado que *C. albicans* (59%) ocupou o primeiro lugar seguida por *C. tropicalis* (15%). Estes achados coincidem com os resultados obtidos neste estudo.

Colombo *et al.*, em 2007 registraram estudo prospectivo observacional de candidemia em São Paulo, destacando taxas de incidência, epidemiologia e preditores de mortalidade. Estes autores relataram que a taxa de incidência de candidemia foi igual a 1,66 episódios de candidemia por 1000 admissões hospitalares. *Candida albicans* foi a espécie mais frequentemente isolada, porém outras espécies de leveduras do gênero *Candida* totalizaram 62% dos isolados predominando *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis*. Colombo *et al.* (2007) ainda relataram que estas duas espécies totalizaram 40% de todas os isolados de *Candida*. A alta prevalência de *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* como agentes etiológicos de candidemia na América do Sul tem sido registrada por outros pesquisadores (Colombo *et al.*, 1999; Colombo *et al.*, 2003; Colombo *et al.*, 2006).

Neste estudo foi observado que o maior número de amostras obtidas a partir de casos confirmados de infecção fúngica hospitalar esteve concentrado na UTI adulto, seguido da clínica médica. Estes dados estão de acordo com a literatura, que reporta o isolamento de *C. tropicalis* a partir de pacientes adultos e a presença incomum em pacientes pediátricos, e em menor proporção ainda entre neonatos (Roilides *et al.*, 2003; Cheng *et al.*, 2005).

Considerando outros espécimens clínicos, urina foi o material que contribuiu com o maior número de isolamentos refletindo casos confirmados de infecção hospitalar fúngica. Foi observado que neste material clínico, *C. tropicalis* foi à espécie predominante seguida de *C. albicans*.

Silva *et al.* (2007) estudaram 100 amostras de leveduras isoladas de urina provenientes de Hospital Público Infantil de São Paulo Brasil, no período de 1999-2004.

O número restrito de isolados obtidos de outros materiais clínicos (ponta de cateter, lavado broncoalveolar, secreção ocular e secreção de parede abdominal) dificulta a comparação da distribuição de espécies detectadas com outras casuísticas. Vale ressaltar ainda que a maioria dos estudos registrados na literatura aponta série de casos em períodos mais ou menos prolongados refletindo episódios de candidemia. A distribuição das espécies de leveduras do gênero *Candida* referente a outros espécimens clínicos foi explicitada no capítulo resultados.

O isolamento de *Candida rugosa* (n=1) neste estudo corrobora os relatos realizados por Pfaller *et al.* (2006), apontando *Candida rugosa* como um patógeno fúngico emergente causadores de infecções invasivas. Este microorganismo tem sido mais frequentemente isolado de sangue e urina de pacientes hospitalizados em serviços médicos-cirúrgicos. O aumento das espécies de candidemia atribuídas a esta espécie pode ser devido à melhoria dos métodos de identificação de leveduras nas unidades laboratoriais, como também do aumento do número de indivíduos imunocomprometidos.

Em 2006, Brito *et al.*, registraram a associação entre candidemia por *C. parapsilosis* e presença de cateter venoso central, sugerindo que a presença de cateter venoso central seria o principal modo de aquisição desta espécie a partir de uma fonte externa.

Ainda em 2003, Godoy *et al.*, registraram o perfil de distribuição de espécies de leveduras do gênero *Candida* e de susceptibilidade aos antifúngicos de isolados de corrente sanguínea obtidas de Hospitais Latino Americanos. Esses pesquisadores conduziram um estudo prospectivo multicêntrico englobando cinco hospitais terciários procedentes de quatro países da América Latina. De 103 isolados de *Candida* spp, *C. albicans* foi a mais frequentemente isolada perfazendo 42% dos isolados. Dentre as não-albicans, responsáveis por 58% dos episódios de candidemia, *C. tropicalis* contribuiu com 24,2% e *C. parapsilosis* (21,3%). Estes achados são similares aos encontrados nos hospitais avaliados em Cuiabá-MT, mostrando predominância de *C. albicans*.

Paula *et al.* (2007), apresentaram em síntese dados referentes à avaliação de cinco hospitais terciários da rede pública do Estado de São Paulo, de médio e grande porte. Estas unidades possuíam sistema automatizado para cultura de sangue, três localizadas na capital e dois no interior do Estado. Vale ressaltar aqui que o hospital A em Cuiabá-MT, não trabalhava com sistema automatizado para cultura de sangue durante o período de realização deste estudo. Já o hospital B apresentava disponibilidade do sistema automatizado em sua

rotina microbiológica. Considerando os achados de Paula *et al.* (2007) foi possível constatar que no Hospital A infantil (SP, capital), o grupo de estudo foi constituído de pacientes de zero a sete anos, no período compreendido entre 2003-2006. Em casos de candidúria *C. albicans* teve alta frequência (58,33%) (Silva *et al.*, 2007), enquanto espécies não-*albicans* predominaram em casos de candidemia (69,17%). No hospital B Infantil, também localizado em São Paulo, onde o grupo de estudo foi representado por neonatos de alto risco no período de 2006 a 2007, foi observado que a mortalidade dos neonatos neste hospital foi de 42% e a incidência de 2,3%. Foi verificado ainda que colonização oral teve ligação direta com os casos de sepse. Este achado merece atenção, porém não foi avaliado nos hospitais em Cuiabá-MT.

Ainda, no hospital C, localizado na região Centro-Oeste Paulista, onde adultos e crianças representaram a população de estudo, foi observado que a incidência de IHF variou de 3,9% a 5,0%. *C. albicans* e *C. parapsilosis* foram as espécies mais comuns nos casos de candidemia e o setor com maior frequência foi a UTI neonatal (32% dos casos).

No hospital D (Região Leste Paulista), da mesma forma a população foi constituída por adultos e crianças, sendo constatados 25 casos de IHF e 80 casos de colonização por fungos. A mortalidade foi de 40% (dos 25 casos) e a incidência de 2,5% em 4 anos de estudo (2002-2006).

Finalmente para o hospital E, localizado em SP foi avaliada a frequência das leveduras do gênero *Candida* isoladas de diversos materiais clínicos, e *C. albicans* foi encontrada em primeiro lugar. Este achado difere deste estudo que aponta *C. tropicalis* como a espécie mais frequente em diferentes materiais clínicos, exceto sangue.

Em síntese, é possível afirmar que os estudos sobre candidemia têm documentado diferenças em taxas e epidemiologia considerando distintas regiões geográficas e peculiaridades associadas às unidades hospitalares. Além disso, é forçoso considerar as condições associadas (fatores predisponentes, doenças de base) aos pacientes internados em distintos hospitais. O clássico estudo denominado – Epidemiologia de Candidemia no Brasil, publicado por Colombo *et al.* em 2006, revela que tem sido observada uma elevação de episódios de candidemia nos hospitais terciários brasileiros. Este trabalho considera taxa igual a 2,49 casos por 1000 admissões e 0,37 episódios por 1000 pacientes-dia sendo 2 a 15 vezes maiores do que aquelas reportadas para os hemisférios Norte, incluindo os EUA (0,28 a 0,96 por 1000 admissões) (Benerjee *et al.*, 1991; Jaris, 1995; Pittet & Wenzel, 1995, Wisplinghoff *et al.*, 2004), Canadá (0,45 por 1000 admissões) (Macphail *et al.*, 2002), Europa (0,20 a 0,38

por 1000 admissões) (Tortorano *et al.*, 2004), França (0,17 por 1000 admissões) (Richet *et al.*, 2002), Hungria (0,20 a 0,40 por 1000 admissões) (Doczi *et al.*, 2002), Itália (0,38 por 1000 admissões) (Tortorano *et al.*, 2002), e Espanha (0,76 a 0,81 por 1000 admissões). Embora os motivos para observação para maiores taxas de candidemia no Brasil não sejam claras, uma combinação de fatores incluindo dificuldades de implementação de programa eficaz de controle de infecção hospitalar, número limitado de funcionários nas unidades de saúde em unidades de terapia intensiva e profilaxia, práticas menos agressivas de terapias antifúngicas empíricas em pacientes de alto risco devem ser consideradas. Os dados registrados por Colombo *et al.* (2006), coincidem com aqueles encontrados neste estudo mostrando posição de destaque para *C. albicans* (291) seguida por *C. tropicalis* (149) e *C. parapsilosis* (146) em 712 casos de candidemia avaliadas entre Março de 2003 a Dezembro de 2004. Comparando a candidemia devido a *C. albicans*, candidemia devido a *C. tropicalis* foi menos comumente encontrada em crianças com idade inferior a 1 ano (12% versus 22%) e mais comumente encontrada em pacientes com câncer (32% versus 23 %). Quando comparadas com as devidas *Candida albicans*, casos devido à *C. parapsilosis* foram menos comumente encontrados entre pacientes em ventilação mecânica (31% versus 41%) ou recebendo corticosteróide (25% versus 34%). Casos de pacientes recebendo fluconazol antes da ocorrência de candidemia foram mais comumente infectadas por *C. glabrata* do que *C. albicans* (26 % versus 10%).

Em relação ao perfil de susceptibilidade aos agentes antifúngicos dos isolados, foi observado que foram testadas 89 amostras. Os resultados CIM₅₀ e CIM₉₀ foram apresentados na tabela 7 e os critérios de interpretação foram aqueles definidos pelo CLSI (CLSI, 2008).

No presente estudo, resistência ao fluconazol foi detectada em 29 isolados apresentaram resistência ao fluconazol (10 isolados de *C. albicans*, 16 isolados de *C. tropicalis*, 2 isolados de *C. parapsilosis*, 1 *C. glabrata*). A anfotericina B mostrou-se eficaz, exibindo valores de concentrações inibitórias mínimas revelando susceptibilidade para todas as espécies identificadas (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. rugosa*) em ambos os hospitais estudados. Considerando o voriconazol, foram observados que 10 isolados de *C. albicans* mostraram-se resistentes, 14 isolados de *C. tropicalis* igualmente resistente a esta droga, além de 2 *C. parapsilosis* e 1 *C. glabrata*.

Caspofungina não foi avaliada neste estudo devido a não utilização da droga em ambos os hospitais avaliados e a não disponibilidade pelo fornecedor do kit Etest, quando no início do desenvolvimento deste trabalho.

Finalmente em relação ao cetoconazol, foi observado que 10 isolados de *C. albicans* mostraram-se resistentes a esta droga, 13 isolados de *C. tropicalis*, 2 referentes a *C. parapsilosis* igualmente exibiram resistência, além de 1 isolado de *C. glabrata*.

No estudo intitulado epidemiologia da candidemia no Brasil, a resistência ao fluconazol ocorreu em 6 (0,8%) dos isolados incluindo 1 isolado de *C. albicans*, 2 de *C. glabrata*, e 3 de *C. krusei*; 27 casos (4%) foram classificados como SDD ao fluconazol (1 caso de *C. albicans*, 15 de *C. glabrata*, 5 de *C. krusei*, 2 de *C. tropicalis*, 2 de *C. guilliermondii*, 1 de *C. pelliculosa*, e 1 de *Pichia ohmeri*). 1 isolado de *C. albicans* exibiu CIM ≥ 4 $\mu\text{g/mL}$ ao voriconazol; este isolado de *C. albicans* também foi resistente ao fluconazol. Em adição, 1 isolado de *C. glabrata* foi resistente ao fluconazol e exibiu CIM de 2 $\mu\text{g/mL}$ para o voriconazol. De forma geral, foi observada uma correlação linear de CIMs de fluconazol e voriconazol.

O perfil de susceptibilidade aos antifúngicos azólicos obtidos neste estudo sugerem resistência cruzada entre estas drogas, e aponta que os números isolados de *C. tropicalis* resistentes foram superiores aqueles de *C. albicans* em ambos hospitais avaliados (A e B). Para o único isolado de *C. rugosa* encontrado nos hospitais universitários não foi observada resistência considerando todas as drogas testadas.

Entretanto Pfaller *et al.* (2006), mostra que *C. rugosa* pode apresentar susceptibilidade diminuída ao voriconazol, bem como ao fluconazol. O perfil de susceptibilidade decrescente foi mais proeminente na Ásia e América Latina. O voriconazol parece ser consideravelmente mais eficaz frente aos isolados de *C. rugosa* da Europa e América do Norte.

Comparando os dados obtidos neste estudo com aqueles publicados por Colombo *et al.* (2006) referente ao projeto candidemia Brasil, pode ser observada similaridade refletindo ausência de resistência a anfotericina B para todos os isolados encontrados. Foi observado por este grupo de pesquisa maior número de isolados de *C. glabrata* resistentes ao itraconazol. Apesar do número restrito de *C. glabrata* encontrado neste estudo, foi detectado resistência para 100% dos isolados nos hospitais em Cuiabá – MT.

Em 2008, Pfaller *et al.*, registraram o perfil de susceptibilidade de *C. parapsilosis* ao fluconazol e voriconazol. Estes pesquisadores mostraram que o percentual de isolados resistentes desta espécie foi maior para o fluconazol frente ao voriconazol em distintas unidades (onco-hematológico, médica, cirúrgica, dermatológica, urologia).

Os percentuais referentes a resistência ao fluconazol podem indicar o uso profilático a esta droga em ambos os hospitais em Cuiabá – MT. Este dado merece atenção, pois foi observada também resistência a drogas mais novas (voriconazol) indicando possibilidade de resistência cruzada.

Em Belo Horizonte, Brasil, foram avaliados 4 hospitais terciários o perfil de distribuição de espécies de leveduras do gênero *Candida*, bem como o perfil de susceptibilidade aos antifúngicos *in vitro*. Um total de 4.824 episódios de infecção hospitalar em corrente sanguínea foi identificado e espécies de *Candida* foram responsáveis por 168 casos (3,5%). *C. albicans* foi detectada em 45,2% dos episódios, seguida por *C. parapsilosis* (21,4%), *C. tropicalis* (16,7%), *C. glabrata* (9,5%), *C. guilliermondii* (4,8%) e *C. krusei* (2,4%). Resistência ao fluconazol foi detectada em 22 isolados (8,9%) (Ferreira *et al.*, 2009. *In press*). Este dado é próximo ao encontrado neste estudo onde foram detectados 29 isolados resistentes ao fluconazol.

Em síntese, os dados de forma geral obtidos neste estudo destacam a necessidade emergente de caracterizar correta e especificadamente as espécies de leveduras do gênero *Candida* para o conhecimento do perfil epidemiológico de cada unidade hospitalar.

Além disso, devido ao uso profilático de antifúngicos torna-se igualmente importante conhecer o perfil de susceptibilidade *in vitro* a estas drogas disponíveis e mais utilizadas na prática médica. Devem ser indicados em situações clínicas especiais objetivando terapêutica adequada.

Este trabalho mostra pela primeira vez em Mato Grosso, em intervalo de tempo definido (2006-2008) os perfis distintos dos hospitais universitários. Além disso, foi possível realizar comparação dos dados obtidos com os registros realizados em diferentes regiões geográficas brasileiras. Vários outros trabalhos reportam dados referentes aos outros países e regiões (Europa, América do Norte e etc), porém os estudos brasileiros e respectivas realidades das unidades hospitalares locais merecem ser criteriosamente avaliadas.

7. CONCLUSÕES

1 - A incidência de infecção hospitalar fúngica nos dois hospitais universitários de Cuiabá foi similar aos dados nacionais.

2 – Presença de cateter venoso central, uso de sonda vesical e ventilação mecânica foram os procedimentos invasivos que estiveram mais associados às infecções fúngicas hospitalares.

3 - A antibioticoterapia prévia foi a condição clínica mais frequentemente associada a infecção hospitalar fúngica.

4 - Considerando as unidades de internação foi observado que a clínica médica e UTI adulto foram aquelas que contribuíram como o maior número de casos referentes às infecções fúngicas hospitalares.

5 - A espécie *C. albicans* foi a mais frequente isolada em casos de candidemia.

6 – Não foi detectada resistência à anfotericina B para todas as espécies, em ambos os hospitais avaliados.

7 – Em relação aos derivados azólicos foram detectados isolados resistentes frente às quatro drogas testadas (cetoconazol, fluconazol, itraconazol e voriconazol), sendo *C. tropicalis* a espécie que exibiu maior índice de resistência ao fluconazol e voriconazol.

8. PERSPECTIVAS

Este estudo continua sendo realizado em ambos os hospitais, incluindo os seguintes parâmetros:

- 1 – Avaliação *in vitro* pelo método comercial Etest da droga caspofungina.
- 2 – Comparação dos valores de concentrações inibitórias mínimas pelo método Etest e pelo método de referência (CLSI).
- 3 – Determinação da taxa de mortalidade devido às infecções fúngicas hospitalares.
- 4 – Em casos de surtos hospitalares, será realizada a caracterização genotípica dos isolados fúngicos.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alexopoulos CJ, Mims CW, Blackwell M. *Introductory Mycology*. United States of América: John Wiley & Sons; 1996.

Almirante B, Rodriguez D, Park BJ, Cuenca-Estrella M, Planes AM, Almela M, *et al.*. Epidemiology and predictors of mortality in case of *Candida* bloodstream infection: results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J Clin Microbiol*. 2005; 43:1829-1835.

Akalin H, Ener B, Kahveci F, Akçaglar S, Gürcan S, Töre O. Persistence of candiduria in ICU catheterized patients is not linked to adherence and proteolytic activities of *Candida* strains. *Intensive Care Med*. 2004; 30(4): 972-975.

Akova M, Akalin HE, Uzun O, Gur D. Emergence of *Candida krusei* infections after therapy of oropharyngeal candidiasis with fluconazole. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1991; 10:598-599.

Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidecker J *et al.* Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome and associated costs of care. *Crit Care Med*. 2001; 29:1303-1310.

Araújo MRE, Colombo AL. Infecções fúngicas hospitalares. In: *Manual de Microbiologia Clínica Aplicada ao Controle de Infecção Hospitalar – APECIH*. 1998; 36-40.

Asmundsdottir LR, Erlendsdottir H, Gottfredsson M. Increasing incidence of candidemia: results from a 20-year nationwide study in Iceland. *J Clin Microbiol*. 2002; 40:3489-3492.

Baillie GS, Douglas LJ. Matrix polymers of *Candida* Biofilms and their possible role in biofilm resistance to antifungal agents. *J. Antimicrob. Chemother*. 2000; 46(3): 397-403.

Banerjee SN, Emore TG, Culver DH. Secular trends in nosocomial primary bloodstream infections in the United States 1980-1990. *Am. J. Med.*, p. 86-89, 1991. spec. issue. *Arch. Ser*. 1991; 419:199-202.

Barchiesi F, Falconi Di Francesco L, Montagna MT, Barbuti S, Saclise G. Outbreak of fungemia due to *Candida parapsilosis* in a pediatric oncology unit. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2004; 49(4): 269-271.

Bergold AM, Georgiadis S. Novidades em Fármacos Antifúngicos: Uma Revisão New Antifungic Drugs: A Review. *Visão Acadêmica, Curitiba.* 2004; 5(2): 159-172.

Boff E, Lopes PGM, Spader T, Scheid LA, Loreto E, Forno NFD, *et al.*. Reavaliação da susceptibilidade de *Candida* à anfotericina B: estudo comparativo com isolados de três hospitais do Estado do Rio Grande do Sul. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2008; 41(1):36-40.

Bonassoli LA, Bertoli M, Svidzinski TIE. High frequency of *Candida parapsilosis* on the hands of healthy hosts. *J. Hosp. Infect.* 2005; 59(6):159-162.

Branchini MLM, Geiger DCP, Fischman O, Pignatari AC. Molecular typing of *Candida albicans* strains isolated from nosocomial candidemia. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.* 1995; 37:483-487.

Brito LR, Guimarães T, Nucci M, *et al.*. Clinical and microbiological aspects of candidemia due to *Candida parapsilosis* in Brazilian tertiary care hospitals. *Med. Mycol.* 2006; 28:321-324.

Campbell MC, Stewart JL. Identification of individual fungal isolates. In: *The Medical Mycology Handbook.* New York: John Wiley & Sons. 1980; 210-348.

Calvet HM, Yeaman MR, Filler SG. Reversible Fluconazole Resistance in *Candida albicans*: a Potencial In Vitro Model. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1997; 41: 535-539.

Cantón E, Pemán J, Valentín A, Bosch M, Espinel-Ingroff A, Gobernado M. Comparison of posaconazole and voriconazole in vitro killing against *Candida krusei*. *Diag. Microbiol. Infect. Dis.* 2008; 62:117-181.

Carrillo Munõz AJ, Quindós G, Cárdenes CD, Vargas RA, Arévalo P, Brió S, Margarida L. Evaluación del medio Chromalbicans Agar para la identificación presuntiva de *Candida albicans*. Rev. Iberoam Micol. 2001; 18: 105-108.

Castro TL, Coutinho HDM, Gedeon CC, Santos JM, Santana WJ, Souza LBS. Mecanismos de Resistência da *Candida* sp WWA Antifúngicos. Infarma. 2006; 18:30-35.

Chang MR, Correia FP, Costa LC, Xavier PCN, Palhares DB, Taira DL, *et al.*. Candida Bloodstream Infection: Dta from a Teaching Hospital in Mato Grosso do Sul, Brazil. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo. 2008; 50(5):26-268.

Christensen RD, Calhorin DA, Rimsza LM. A practical approach to evaluating and treating neutropenia in the neonatal intensive care unit. Clin. Perinatol. 2000; 27: 577-601.

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Third Informational Supplement M27-S3. Vol.28, nº15. CLSI, 2008.

Colombo AL, Nucci M, Salomao R, *et al.*. High rate of non-albicans candidemia em Brazilian tertiary care hospital. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 1999; 34:281-286.

Colombo AL. Epidemiology and treatment of hematogenous candidiases: a Brazilian prospective. Braz J Infect Dis. 2000; 4:113-118.

Colombo AL, Matta D, Almeida LP, Rosas R. Fluconazole susceptibility of Brazilian Candida isolates assessed by a disk diffusion method. Braz J Infect Dis. 2002; 6:118-123.

Colombo AL, Guimarães T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. Rev. Soc. Bras. Med. Trop 2003;. 36(5):599-607.

Colombo AL, Perfect J, DiNubile M, *eta al.* Global distribution and outcomes Fo candida species causing invasive candidiasis: results from a international randomized double-blind study of caspofungin versus amphotericin B for the treatment of invasive candidiasis. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2003; 22:470-474.

Colombo AL, Nucci M, Park BJ, Nouér SA, Arthington-Skaggs B, Matta DA, *et al.* Epidemiology of Candidemia in Brazil: a Nationwide Sentinel Surveillance of Candidemia in Eleven Medical Centers. *J Clin Microbiol.* 2006; 44(8):2816-2823.

Colombo AL, Guimarães T, Silvia LRBF, Monfardini PA, Cunha AKB, Rady P, Alves T, Rosas RC. Prospective Observational Study of Candidemia in São Paulo, Brazil: Incidence Rate, Epidemiology, and Predictors of Mortality. *Infection Control and Hospital Epidemiology.* 2007; 28(5):570-576.

Cooke VM, Miles RJ, Price RG, Midgley G, Khamri W, Richardson AC. New Chromogenic Agar Medium for the Identification of *Candida* spp. *Appl Envir Microbiol.* 2002; 68: 3622-3627.

Couto RC, Pedrosa TMG. Guia Prático de Controle de Infecção Hospitalar. 2ª edição. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan; 2004.

Cutler JE. Putative virulence factors of *Candida albicans*. *Annu. Rev. Microbiol.* 1991; 45:187-218.

De Bernardis F, Sullivan PA, Cassone A. Aspartyl proteinases of *Candida albicans* and their role in pathogenicity. *Med. Mycol.* 2001; 39(4):303-313.

Dignani MC, Solomkin JS, Anaissie E. *Candida*. In: Anaissie E, McGinnis MR, Pfaller MA (eds) *Medical Mycology*. 1ª Edição, Churchill Livingstone, Filadélfia, 2003; 195-239.

Doczi I, Dosa E, Hajdu E, Nagy E. Aetiology and antifungal susceptibility of yeast bloodstream infections in a Hungarian university hospital between 1996 and 2000. *J. Med. Microbiol.* 2002; 51:677-681.

Douglas LJ. *Candida* biofilms and their role in infection. *Trends Microbiol.* 2003; 11(1):30-36.

Dromer F, Improvisi L, Dupont B, Eliaszewicz M, Pialoux G, Fournier S, Feuillie V. Oral transmission of *Candida albicans* between partners in HIV-infected couples could contribute to dissemination of fluconazole-resistant isolates. *Aids*. 1997; 11(9):1095-1101.

Espinel-Ingroff A: In vitro antifungal activities of anidulafungin and micafungin, licensed agents and the investigational triazole posaconazole as determined by NCCLS methods for 12,052 fungal isolates: review of the literature. *Rev Iberoam Micol*. 2003; 20:121-136.

Ferrari TCA, Hamdan JS. Drogas antifúngicas. In: Rocha MOC, Pedroso ERP, Fonseca JGM, Silva AO, editores. *Terapêutica Clínica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1998; 251-266.

Ferreira JAG, Starling CEF, Resende MA. Epidemiologic analysis and Antifungal Susceptibility of candidemia at Four Hospitals in Belo Horizonte, Brazil: a Prospective, Multicenter Surveillance Study. *J. Med. Microbiol*. 58, 2009 (*In press*).

Fica AC. Tratamiento de infecciones fúngicas sistêmicas. Primeira parte: fluconazol, itraconazol y voriconazol. *Rev. Chil. Infect*. 2004; 21:26-38.

Fidel PL. Distinct Protective Host Defenses Against Oral and Vaginal Candidiasis. *Med. Mycol*. 2002; 40: 359-375.

Fotedar R, Al-Hedaithy SSA. Identification chlamydospore-negative *Candida albicans* using CHROMagar Candida medium. *Mycoses*. 2002; 46: 96-103.

França JCB, Ribeiro CEL, Telles FQ. Candidemia em um hospital terciário brasileiro: incidência, frequência das diferentes espécies, fatores de risco e susceptibilidade aos antifúngicos. *Rev. Soc. Bras. Med. Tropical*. 2008; 41:23-28.

Freid TR, Van Doorn C, O'Leary JR, Tinetti, ME, Drickamer, MA. Older persons' preferences for site of terminal care. *Ann. Intern. Med*. 1999; 131:109-112.

Fromtling RA, Galgiani JN, Pfaller MA, Espinel-Ingroff A, Bartizal KF, Bartlett MS, *et al.*. Multicenter evaluation of a broth macrodilution antifungal susceptibility test for yeast. *Antimicrob Agents Chemother*. 1993; 37: 39-45.

Gácsér A, Trofa D, Schäfer W, Nosanchuk JD. Targeted gene deletion in *Candida parapsilosis* demonstrates the role of secreted lipase in virulence. *J. Clin. Invest.* 2007; 117(19):3049-3058.

Galgiani JN, Stevens DA. Antimicrobial Susceptibility Testing of Yeast: a Turbidimetric Technique Independent of Inoculum Size. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1976; 10: 721-726.

Gallis HA, Drew RH, Pickard WW. Amphotericin B: 30 Years of Clinical Experience. *Rev. Infect. Dis.* 1990; 12: 308-329.

Galván B, Mariscal F. Epidemiología de la candidemia en UCI. *Rev. Iberoam. Micol.* 2006; 23:12-15.

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; 81:425-433.

Ghannoum MA, Abu-Elteen KH. Pathogenicity determinants of *Candida*. *Mycoses.* 1990; 33:265-282.

Godoy P, Tiraboschi IN, Severo LC, Bustamante B, Calvo B, Almeida LP, *et al.* Species Distribution and Antifungal Susceptibility Profile of *Candida* spp. Bloodstream Isolates from Latin American Hospitals. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2003; 98(3):401-405.

Gudlaugsson O, Gillespie S, Lee K, Vande Berg J, Hu J, Messer S, Herwaldt L, Pfaller M, Diekeme D. Attributable Mortality of Nosocomial Candidemia, Revisited. *Clin. Infect. Dis.* 2003; 37(9):1172-1177.

Gupta AK, Kohli, Sauder DN, Shear NH. Antifungal agents: an overview. *J. Amer. Acad. Dermatol.* 1994a; 30(Pt 1): 677-98.

Hadfield TL, Smith MB, Winn RE, Rinaldi MG, Guerra C. Mycoses caused *Candida lusitanae*. *Rev. Infect. Dis.* 1987; 9:1006-1012.

Haynes K. Virulence in *Candida* species. Trends in Microbiol. 2001; 9(12):591-596.

Hinrichsen SL, Falcão E, Vilella TAS, Colombo AL, Nucci M, Moura L, Rêgo L, Lira C, Almeida L. Candidemia em hospital terciário do nordeste do Brasil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2008; 41(4):394-398.

Hota B. Contamination, Disinfection, and Cross-Colonization: Are Hospital Surface Reservoirs for Nosocomial Infection? Clin. Infect. Dis. 2004; 39(8):1182-1189.

Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections, with emphasis on *Candida* species. Clin. Infect. Dis. 1995; 20:1526-1530.

Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections, with emphasis on *Candida* species. Clin. Infect. Dis. 2002; 20:33-41.

Johnson LB, Kauffman CA. Voriconazole: A New Triazole Antifungal Agent. Clin Infect Dis. 2003; 36(5):630-637.

Kauffman CA, Vazquez JA, Sobel JD, Gallis HA, McKinsey DS, Karchmer AW, Sugar AM, Sharkey PK, Wise GJ, Mangi R, Mosher A, Lee JY, Dismukes WE. Prospective multicenter surveillance study of funguria in hospitalized patients. Clin Infect Dis. 2000; 30(1):14-18.

Komshian SV, Uwaydah AK, Sobel JD, Crane LR. Fungemia caused by *Candida* species and *Torulopsis glabrata* in the hospitalized patient: frequency characteristics, and evaluation of factors influencing outcome. Rev. Infect. Dis. 1989; 11:379-390.

Koneman EW, Allen SD, Dowell VR, Sommers HM. Micologia. In: Diagnóstico Microbiológico. 2ª ed. São Paulo: Médica Panamericana. 1989; 537-99.

Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Diagnóstico Microbiológico. 5ª ed. São Paulo: Médica e Científica. 2001b; 1052.

Kurtzman CP, Fell JW. The Yeast: A taxonomic Study. 4ª ed. New York: Elsevier; 1998.

Kwong-Chung KJ, Bennet JE. Candidiasis In: Medical Mycology. Philadelphia: Lea & Febiger. 1992; 280-336.

Lacaz CS, Porto E, Martins JEC. Leveduroses profundas com especial referência às infecções por *Candida*. In Micologia Médica. São Paulo: Servier. 1991; 216-25.

Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari EM, Mello NT. Mecanismo de ação dos derivados azólicos e da terbinafina. In: Tratado de Micologia Médica. 9ª ed. São Paulo: Sarvier. 2002b; 1011-1014.

López Dupla M, García-Tobaruela A, Lavilla Uriel P, Gil Aguado A. Candidiasis disseminada. En: Gil Aguado A, Lavilla Uriel P, Pintado García V (Eds.) Micosis sistêmicas. Actualización. Madrid, Grupo Aula Médica. 1997; 1-23.

Lumbreras C, Lizasoain M, Aguado JM. Antifúngicos de uso sistêmico. Enferm. Infect. Microbiol. Clin. 2003; 21: 366-380.

Luo G, Samaranayake LP. *Candida glabrata*, a emerging fungal pathogen, exhibits superior relative cell surface hydrophobicity and adhesion to denture acrylic surfaces compared with *Candida albicans*. Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica. 2002; 110:601-610.

Lyman CA, Walsh TJ. Systemically administered antifungal agents. A review of their clinical pharmacology and therapeutic applications. Drugs. 1992; 44 (1): 9-35.

Macura AB. Fungal resistance to antimycotic drug: a growing problem. Int. J Dermatol. 1991; 30(3):181-183.

Macphail GL, Taylor GD, Buchanan-Chell M, Ross C, Wilson S, Kureishi A. Epidemiology, treatment and outcomes of candidemia: a five-year review at three Canadian Hospital. Mycoses. 2002; 45:141-145.

Mahmoud AG, Louis BR. Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. *Clin. Microbiol. Rev.* 1999; 12(4):501-517.

Maluche ME, Santos JI. *Candida* sp. e infecções hospitalares: aspectos epidemiológicos e laboratoriais. *RBAC.* 2008; 40(1):65-67.

Marichal P, Bossche HV, Odds FC, Nobels G, Warnock DW, Timmerman V, *et al.*. Molecular Biological Characterization of an Azole-Resistant *Candida glabrata* Isolate. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1997; 41:2229-2237.

Martinez R. Paracoccidioidomicose. In *Micologia Médica à luz de autores contemporâneos*. Guanabara Koogan edition. Edited by Sidrim JJC, Rocha MFG. Rio de Janeiro - RJ Brasil; 2004; 202-221. [Sidrim JJC (Series Editor)]

Martinez R. Atualização no uso de agentes antifúngicos. *J. Bras. Pneumol. São Paulo* Sept./Oct, 2006; 32(5).

Matsumoto FE, Gandra RF, Ruiz LS, Auler ME, Marques SAV, Pires MFC, Gambale W, Paula CR. Yeasts isolated from blood and catheter in children from a Public Hospital of São Paulo, Brazil. *Mycopathologia.* 2001; 154(2):63-69.

Meric M, Willke A, Caglayan C, Toker K. Intensive Care Unit-Acquired Infections: Incidence, Risk Factors and Associated Mortality in a Turkish University Hospital. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2005; 58(5):297-302.

Milan EP, Sant'Ana PL, Melo ASA, Sullivan DJ, Coleman DC, Lewi D, Colombo AL. Multicenter prospective surveillance of oral *Candida dubliniensis* among adult Brazilian human immunodeficiency virus-positive and AIDS patients. *Diag. Microbiol. Inf. Dis.* 2001; 41:29-35.

Moreira D. Candidíase vulvovaginal: abordagem dos aspectos epidemiológicos, fatores predisponentes, fatores de virulência e sensibilidade aos antifúngicos. 2005.

Moretti ML. A importância crescente das infecções fúngicas. Ver. Panam. Infectol. 2007; 9(2):8-9.

Moysés Neto M, Figueiredo JFC. Terapêutica das micoses profundas em pacientes transplantados renais. J. Bras. Nefrol. 1996; 18:369-374.

Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. *Candida albicans* Secreted Aspartyl Proteases in Virulence and Pathogenesis. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2003; 67(3):400-428.

National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard M27-A. Wayne, Pa, USA: National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1995.

Negri, MFN. Levedurasa do Gênero *Candida* Isoladas de Colonização e Infecção Hospitalar: Caracterização Fenotípica e Sensibilidade aos Antifúngicos. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas II, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

Negróni R, Arechavala AI: Itraconazole: pharmacokinetics and indications. Arch. Med. Res. 1993; 24(4):387-393.

Nucci M, Silveira MI, Spector N, Silveira F, Velasco E, Martins CA, Derossi A, Colombo AL, Pulcheri W. Fungemia in cancer patients in Brazil: predominance of non-*albicans* species. Mycopathologia. 1998; 141(2):65-68.

Nucci M, Colombo AL. Emergence of Resistant *Candida* in Neutropenic Patients. Braz. J. Dis. 2002; 6(3):124-128.

Nucci M, Colombo AL. Candidemia due to *Candida tropicalis*: clinical, epidemiologic, and microbiologic characteristics of 188 episodes occurring in tertiary care hospital. Diag. Microbiol. and Infect. Dis. 2007; 58:77-82.

Odds FC. Resistance of yeasts to azole-derivative antifungals. J. Antimicrob. Chemother. 1993; 39:1696-1699.

Odds FC. *Candida* and Candidosis. 2^a ed. London: Bailliere Trindall; 1988a.

Oliveira RDR, Maffei CML, Martinez M. Infecção urinária hospitalar por leveduras do gênero *Candida*. Rev. Assoc. Med. Bras. 2001; 47(1):231-235.

Orozco AS, Higginbotham LM, Hitchcock CA, Parkinson T, Falconer D, Ibrahim AS, Ghannoum MA, Filler SG. Mechanism of fluconazole resistance in *Candida krusei*. Antimicrob. Agents Chemother. 1998; 2:2645-2649.

Pappas PG, Rex JH, Lee J, Hamill RJ, Larsen RA, Powderly W, *et al.* A prospective observational study of candidemia: epidemiology, therapy, and influences on mortality in hospitalized adult and pediatric patients. Clin Infect. Dis. 2003; 37:634-643.

Passos XS. Caracterização de fungos envolvidos em infecções nosocomiais, 2007. fl 06. Tese Doutorado – Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública – Goiânia – 2007.

Pathak A, Pien FD, Carvalho L. Amphotericin B Use in a Community Hospital, with Special Emphasis on Side Effects. Clin. Infect. Dis. 1998; 26: 334-338.

Paula CR, Sampaio MCC, Birman EG, Siqueira AM. Oral yeasts in patients with cancer of the mouth, before and during radiotherapy. Mycopathologia. 1990; 112:119-124.

Paula CR, Montelli AC, Ruiz LS, Batista GCM, Matsumoto FE, Volpearnoni M, *et al.*. Infecção Hospitalar Fúngica: Experiência em Hospitais Públicos de São Paulo. Prática Hospitalar. 2007; 52:63-66.

Pedroche CD, Cisneros JM, Lumbreras C, Aguado JM. Tratamiento con voriconazol de las infecciones fúngicas invasoras. Evaluación de la experiencia del uso compasivo de voriconazol en España. Rev. Esp. Quimioterap. 2005; 18:149-158.

Perfect JR, Marr KA, Walsh T, Greenberg RN, DuPont B, de la Torre-Cisneros J, *et al.*. Voriconazole Treatment for Less-Common, Emerging, or Refractory Fungal Infections. Clin. Infect. Dis. 2003; 36(9):1122-1131.

Perfect JR, Cox GM. Drug resistance in *C. neoformans*. *Drug Resist. Update*. 1999; 2: 259-269.

Pfaller MA, Diekema DJ, Rinaldi MG, Barnes R, Hu R, Veselov AV, Tiraboschi N, Nagy E, Gibbs DL, and the Global Antifungal Surveillance Group. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study: a 6.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* and other yeast species to fluconazole and voriconazole by standardized disk diffusion testing. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43:5848-5859.

Pfaller MA, Diekema DJ, Colombo AL, Kibbler KPNg, Gibbs DL, Newell VA, and the Global Antifungal Surveillance Group. *Candida rugosa*, an emerging Fungal Pathogen with Resistance to Azoles: Geographic and Temporal Trends from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44:3578-3582.

Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs VA, Gibbs DL, Newell KPNg, Colombo AL, Finkelievich J, Barnes R, Wadula J, and the Global Antifungal Surveillance Group. Geographic and Temporal Trends in Isolation and Antifungal Susceptibility of *Candida parapsilosis* : a Global Assessment from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program 2001 to 2005. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46:842-849.

Pittet D, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections. Secular trends in rates, mortality, and contribution to total hospital deaths. *Arch. Intern. Med.* 1995; 155:1177-1184. Poikonen E, Lyytikäinen O, Anttila VJ, Ruutu P. Candidemia in Finland, 1995-1999. *Emerg. Infect. Dis.* 2003; 9:985-990.

Quindós G, Alonso-Vargas R, Helou S, Arechavala A, Mazuelos EG, Negroni R. Evaluación de un nuevo medio de cultivo cromógeno (*Candida* ID) para el aislamiento e identificación presuntiva de *Candida albicans* y otras levaduras de interés médico. *Rev. Iberoam Micol.* 2001; 18: 23-28.

Rex JH, Walsh TJ, Sobel JD, *et al.*. Practice Guidelines for the treatment of candidiasis. *J Infect Dis.* 2000; 30: 662-678.

Richet H, Roux P, Des CC, Esnault Y, Andremont A. Candidemia in French hospitals: incidence rates and characteristics. *Clin. Microbiol. Infect.* 2002; 8:405-412.

Ribeiro EL, Guimarães RI, Inácio MCC, Ferreira WM, Cardoso CG, Dias SM, Naves PLF. Aspectos das leveduras de *Candida* Vinculadas as Infecções Nosocomiais. *NewsLab.* 2004; 106-125.

Rippon JW. Candidiasis. In: *Medical Mycology. The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes.* 3ª ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company. 1988; 536-581.

Roilides E, Farmaki E, Evdoridou J, *et al.*. *Candida tropicalis* in a neonatal intensive care unit: epidemiologic and molecular analysis of an outbreak of infection with an uncommon neonatal pathogen. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41:735-741.

Ruiz LS. Infecção, fatores de virulência e sensibilidade a antifúngicos de amostras de leveduras isoladas de pacientes com fungemia do hospital das clínicas de Botucatu, SP. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas II, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

Ruiz LS, Sugizaki MF, Montelli A, Matsumoto FE, Pires MFC, Da Silva BCM, Silva EH, Gandra RF, Silva EG, Auler ME, Paula CR. Fungemia by yeast in Brazil: occurrence and phenotypic study of strains isolated at the Public Hospital, Botucatu, São Paulo. *J. Mycol Med.* 2005; 40(15):1413-1421.

Santos Jr ID, Souza IAM, Borges RG, Souza LBS, Santana WJ, Coutinho HDM. Características gerais da ação, do tratamento e da resistência fúngica ao fluconazol. *Scientia Medica*, Porto Alegre: PUCRS. 2005; 15(3):189-197.

Segal E, Baum GL. *Pathogenic yeasts and Yeast infections.* Florida: CRC Press. 1994; 227.

Shin JH, Kee SJ, Shin MG, Kim SH, Shin DH, Lee AK, *et al.*. Biofilm production by isolates of *Candida* species recovered from non-neutropenic patients: comparison of bloodstream isolates with isolates from other sources. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40(4):1244-1248.

Silva EH, Ruiz LS, Matsumoto FE, Auler ME, Giudice MC, Moreira D, Szeszs W, Paula CR. Candiduria in a public hospital of São Paulo (1999-2004): characteristics of the yeast isolates. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.* 2007; 49(6):349-353.

Silva MR, de Paiva e Rosália LF, Jesuino SA: [The evaluation of ketoconazole in mice inoculated with *Paracoccidioides brasiliensis* by liver and spleen histopathology and by the intradermal paracoccidioidin reaction]. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 1994; 27:11-14.

Souza EMB, Paula CR, Gambale W, Correa B, Cury AE. Aspectos morfo-fisiológicos, fatores de virulência e sensibilidade a antifúngicos de amostras de *Candida albicans*, sorotipos A e B, isoladas em São Paulo, Brasil. *Rev. Microbiol.* 1990; 21: 247-253.

Stenderup PA. Oral Mycology. *Acta Odontol. Scand.* 1990; 48:3-10.

Tamura NK, Gasparetto A, Svidzinski TIE. Evaluation of the adherence of *Candida* species to urinary catheters. *Mycopathologia.* 2003; 156(4):269-272.

Tamura NK, Negri MFN, Bonassoli LA, Svidzinshi IE. Fatores de virulência de *Candida* spp isoladas de cateteres venosos e mãos de servidores hospitalares. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2007; 40(1):91-93.

Tortorano AM, Biraghi E, Astolfi A, Ossi C, Tejada M, Farina C, Perin S, *et al.* European Confederation of Medical Mycology (ECMM) prospective survey of candidemia: report from one Italian region. *J. Hosp. Infect.* 2002; 52:297-304.

Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Kibbler CC, Faure O, Biraghi E, Canton E, Zimmermann K, Seaton S, Grilot R. Epidemiology of Candidemia in Europe: results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) Hospital-Based Surveillance study. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2004; 23(4):317-322.

Troaré O, Springthorpe VS, Sattar SA. A quantitative study of the survival of two species of *Candida* on porous and non-porous environmental surfaces and hands. *J. Appl. Microbiol.* 2002; 92(3):549-555.

Van Der Walt JP, Yarrow D. Methods for the isolation, maintenance, classification and identification of yeast. In.: Kreger-van NJW. editores. The Yeast. Amsterdam: Elsevier Publishers. B. V. 1984; 45-104.

Vazquez JA, Sanchez V, Dmuchouski C, Dembry LM, Sobel JD, Zervos MJ. Nosocomial acquisition of *Candida albicans*: an epidemiological study. J. Clin. Microbiol. 1993; 32:975-980.

Viudes A, Peman J, Canton E, Úbeda P, Lopez-Ribot JL, Gobernado M. Candidemia at a Tertiary-care Hospital: Epidemiology, Treatment, Clinical Outcome and Risk Factors for Death. European J. of Microbiol. Infect. Dis. 2002; 21:767-774.

Zaoutis TE, Argon J, Chu J, Berlin JA, Walsh TJ, Feudtner C. The Epidemiology and Attributable Outcomes of Candidemia in Adults and Children Hospitalized in the United States: A Propensity Analysis. Clin. Infect. Dis. 2005; 41(9):1232-1239.

Zeichner LO, Pappas PG. Invasive candidiasis in the care unit. Journal of Critical Care Medicine. 2006; 34:857-863.

Zhanel GG, Karlowsky JA, Harding GAJ, Balko TV, Zelenitsky SA, Friesen M, Kabani A, Turik M, Hoban DJ. In vitro activity of a new semisynthetic echinocandin, LY-303366, against systemic isolates of *Candida* species, *Cryptococcus neoformans*, *Blastomyces dermatitidis*, and *Aspergillus* species. Antimicrob. Agents Chemother. 1997; 41(4):863-865.

Yang YL, Ho HH, Ho M, Lo HJ. Susceptibilities of *Candida* species to amphotericin B and fluconazole: the emergence of fluconazole resistance in *Candida tropicalis*. Infect Control Hosp Epidemiol. 2004b; 25:60-64.

Wingard JR. Importance of *Candida* species other than *C. albicans* as pathogens in oncology patients. Clin. Infect. Dis. 1995; 39:309-317.

White TC, Marr KA, Bowden RA. Clinical cellular and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance. Clin. Microbiol. Rev. 1998; 11:382-402.

Wingard JR. Importance of *Candida* species other than *C. albicans* as pathogens in oncology patients. *Clin. Infect. Dis.* 1995; 39:309-317.

Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from prospective nationwide surveillance study. *Clin. Infect. Dis.* 2004; 39:309-317.

10. ANEXO

Ministério da Educação
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JÚLIO MÜLLER

Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Júlio Müller
Registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa em 25/08/97

TERMO DE APROVAÇÃO ÉTICA
DE PROJETO DE PESQUISA

REFERÊNCIA: Projeto de protocolo Nº 221/CEP-HUJM/05

“COM PENDÊNCIAS”

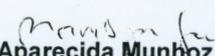
APROVADO “ad referendum”

APROVAÇÃO FINAL

NÃO APROVADO

O projeto de pesquisa intitulado: “**Infecção Fúngica Hospitalar: Prevalência em Hospitais Universitários de Cuiabá-MT**”, encaminhado pelo(a) pesquisador(a), **Rosane Christine Hahn** foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUJM, em reunião realizada dia 16/11/05 que concluiu pela aprovação final, tendo em vista que atende a Resolução CNS 196/96 do Ministério da Saúde para pesquisa envolvendo seres humanos.

Cuiabá, 16 de novembro de 2005.


Profa. Dra. Maria Aparecida Munhoz Gaiva
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa do HUJM

Hospital Universitário Júlio Müller
Rua L, SN. Jardim Alvorada. CEP 78048-790 Cuiabá –MT, Brasil
Fone: 65-615-7302. e-mail: cephujm@cpd.ufmt.br
http://www.ufmt.br/cep_hujm

Apêndice 1

Ficha de anamnese

INFECÇÃO FÚNGICA HOSPITALAR

NOME: _____ PRONTUÁRIO: _____

IDADE: _____ SEXO: F() M()

TELEFONE: _____

1.1 - SETOR DE INTERNAÇÃO:CL. MÉDICA () CL. CIRÚRGICA () GO () PEDIATRIA ()
UTI NEO () UTI ADULTO ()**1.2 - Nº DE DIAS DE INTERNAÇÃO:** _____**2.0 – CAUSA DA INTRENAÇÃO:** _____**2.1 – DIAGNÓSTICO DAS INFECC. HOSPITALARES:** _____**3.0 - PROCEDIMENTOS INVASIVOS:**

CATETER: S () N ()

NUTRIÇÃO PARENTERAL: S () N ()

SONDA VESICAL: S () N ()

DRENO: S () N ()

VENTILAÇÃO MECANICA: S () N ()

SONDA NOSOENTERAL: S () N ()

TRAQUEOSTOMIA: S () N ()

4.0 – DOENÇAS DE BASE:

NEOPLASIA: S () N () QUAL? _____

DOENÇA PULMONAR: S () N ()

DIABETES MELLITUS: S () N ()

ALCOOLISMOS: S () N ()

AIDS: S () N ()

DOENÇA IMUNOSSUPRESSORA: S () N ()

5.0 – CONDIÇÕES ASSOCIADAS:

NEUTROPENIA: S () N ()

CIRURGIA: S () N () QUAL? _____

USO DE CORTICÓIDE: S () N () QUAL(IS)? _____

QUIMIOTERAPIA: S () N ()

HEMODIÁLISE: S () N ()

DESNUTRIÇÃO: S () N ()

HOSPITALIZAÇÃO PRÉVIA: S () N ()

ANTIFÚNGICO PRÉVIO: S () N () QUAL (IS)? _____

RN PREMATURO: S () N ()

ANTIBIÓTICO PRÉVIO: S () N () QUAL (IS)? _____

ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS	DOSE DIÁRIA	TEMPO

6.0 – SÍTIO DA INFECÇÃO HOSPITALAR: _____

6.1 – MATERIAL CLÍNICO EXAMINADO: _____

6.2 – FUNGOS MICELIANOS: S () N () GÊNERO: _____

6.3 – LEVEDURAS DO GÊNERO CANDIDA: S () N () ESPÉCIE: _____

7.0 – EVOLUÇÃO DO PACIENTE:

RECEBEU ALTA: ()

ÓBITO: ()

Apêndice 2

Amostra	Espécies de leveduras do gênero <i>Candida</i>	CIM (µg/ml)				
		Ceto	Fluco	Itra	Vorico	Anfo B
1 HGU	<i>C. albicans</i>	0,094	1,5	0,047	0,032	0,75
2 HGU	<i>C. rugosa</i>	0,75	24	0,032	0,125	0,38
3 HGU	<i>C. glabrata</i>	1,5	12	1,5	0,19	0,38
4 HGU	<i>C. glabrata</i>	1,5	8,0	2,0	0,25	0,50
6 HGU	<i>C. tropicalis</i>	0,19	1,0	0,032	0,064	1,0
11 HGU	<i>C. albicans</i>	0,19	16	0,016	0,047	0,50
12 HGU	<i>C. tropicalis</i>	>32	>256	>32	>32	0,75
14 HGU	<i>C. albicans</i>	>32	48	>32	>32	0,38
15 HGU	<i>C. albicans</i>	0,38	2,0	0,047	0,25	0,50
16 HGU	<i>C. tropicalis</i>	0,50	0,75	0,19	0,064	0,75
18 HGU	<i>C. albicans</i>	1,0	>256	0,023	4,0	0,25
19 HGU	<i>C. tropicalis</i>	0,094	1,0	0,016	0,023	1,0
20 HGU	<i>C. albicans</i>	>32	>256	>32	>32	0,38
22 HGU	<i>C. tropicalis</i>	0,75	>256	0,047	0,032	0,75
23 HGU	<i>C. tropicalis</i>	6,0	>256	16	6,0	0,38
24 HGU	<i>C. tropicalis</i>	1,0	4,0	>32	>32	0,75
25 HGU	<i>C. albicans</i>	0,094	3,0	0,032	0,016	0,094
26 HGU	<i>C. tropicalis</i>	0,25	>256	0,032	>32	0,75
29 HGU	<i>C. parapsilosis</i>	0,023	2,0	0,016	0,023	0,75
30 HGU	<i>C. albicans</i>	>32	>256	>32	>32	0,19
32 HGU	<i>C. parapsilosis</i>	8,0	>256	>32	>32	0,002
33 HGU	<i>C. parapsilosis</i>	0,032	1,5	0,016	0,006	3,0
34 HGU	<i>C. parapsilosis</i>	>32	>256	>32	>32	0,25
35 HGU	<i>C. tropicalis</i>	3,0	>256	0,38	>32	0,75
36 HGU	<i>C. tropicalis</i>	0,75	4,0	0,19	0,125	0,75
38 HGU	<i>C. albicans</i>	>32	>256	>32	>32	0,064
39 HGU	<i>C. albicans</i>	0,023	1,5	0,006	0,016	0,094
40 HGU	<i>C. albicans</i>	0,032	1,0	0,012	0,006	0,50
41 HGU	<i>C. tropicalis</i>	2,0	0,75	0,19	1,0	0,75
42 HGU	<i>C. albicans</i>	0,094	3,0	12	0,064	0,38
43 HGU	<i>C. albicans</i>	0,064	>256	0,032	0,125	0,25
44 HGU	<i>C. parapsilosis</i>	0,008	1,5	0,008	0,012	1,0
45 HGU	<i>C. albicans</i>	0,125	4,0	0,016	0,023	0,50
46 HGU	<i>C. tropicalis</i>	>32	>256	0,38	>32	0,75
47 HGU	<i>C. tropicalis</i>	>32	>256	>32	>32	0,50
49 HGU	<i>C. parapsilosis</i>	0,047	0,50	0,032	0,012	0,75
52 HGU	<i>C. tropicalis</i>	0,19	1,5	0,032	0,065	0,25
55 HGU	<i>C. tropicalis</i>	0,094	1,5	0,023	0,008	0,125
59 HUG	<i>C. tropicalis</i>	3,0	3,0	0,19	0,125	0,50
62 HGU	<i>C. tropicalis</i>	2,0	0,75	1,0	0,064	0,38

63 HGU	<i>C. tropicalis</i>	8,0	1,5	4,0	0,19	0,047
64 HGU	<i>C. tropicalis</i>	8,0	1,5	>32	0,125	0,125
65 HGU	<i>C. albicans</i>	0,064	3,0	0,016	0,016	0,002
66 HGU	<i>C. tropicalis</i>	0,064	1,0	0,064	0,032	0,125
67 HGU	<i>C. parapsilosis</i>	0,032	0,75	0,047	0,019	0,19
68 HGU	<i>C. albicans</i>	0,19	0,19	0,016	0,016	0,38
69 HGU	<i>C. albicans</i>	0,047	3,0	0,023	0,064	0,38
410/3	<i>C. tropicalis</i>	12	>256	>32	>32	1,0
446/3	<i>C. tropicalis</i>	8,0	>256	>32	>32	0,50
392/4	<i>C. tropicalis</i>	0,19	1,0	0,032	0,064	0,75
506 HC	<i>C. parapsilosis</i>	0,25	0,16	0,125	0,125	0,38
447/4	<i>C. tropicalis</i>	3,0	>256	>32	>32	0,75
330	<i>C. tropicalis</i>	0,75	>256	0,19	0,125	0,75
866 HC	<i>C. tropicalis</i>	>32	>256	>32	>32	0,75
350/6	<i>C. tropicalis</i>	>32	>256	>32	>32	0,50
34/7 - 1	<i>C. tropicalis</i>	0,38	2,0	0,19	0,094	0,50
962 HC	<i>C. parapsilosis</i>	0,064	2,0	0,023	0,032	0,75
452	<i>C. parapsilosis</i>	0,064	2,0	0,016	0,023	0,38
205/7	<i>C. parapsilosis</i>	0,023	3,0	0,002	0,032	1,0
431/7	<i>C. albicans</i>	0,094	3,0	0,008	0,032	0,75
427/7	<i>C. albicans</i>	0,19	1,5	0,047	0,032	0,19
1067 HC	<i>C. tropicalis</i>	0,25	6,0	0,016	0,125	0,75
1111 HC	<i>C. albicans</i>	8,0	>256	>32	>32	0,50
600	<i>C. albicans</i>	>32	>256	>32	>32	0,38
327/5	<i>C. tropicalis</i>	0,064	2,0	0,008	0,012	0,75
1253 HC	<i>C. albicans</i>	>32	>256	>32	>32	0,75
1044 HC	<i>C. albicans</i>	0,75	3,0	0,032	0,125	0,50
371/7	<i>C. albicans</i>	0,19	12	0,023	2,0	0,38
293/1	<i>C. albicans</i>	0,064	2,0	0,006	0,023	0,50
263/3	<i>C. tropicalis</i>	0,008	0,125	0,002	0,002	0,125
20/4	<i>C. tropicalis</i>	24	>256	>32	>32	1,0
654 HC	<i>C. parapsilosis</i>	0,064	0,50	0,006	0,016	1,0
732 HC	<i>C. parapsilosis</i>	0,032	0,75	0,008	0,006	1,0
340	<i>C. tropicalis</i>	12	>256	0,032	0,38	0,75
121/6	<i>C. albicans</i>	0,032	4,0	0,004	0,008	0,50
805 HC	<i>C. albicans</i>	0,032	1,5	0,006	0,012	0,50
216/6	<i>C. albicans</i>	>32	>256	0,094	>32	0,38
961HC	<i>C. albicans</i>	0,032	4,0	0,016	0,012	0,38
1195 HC	<i>C. parapsilosis</i>	0,032	0,75	0,008	0,006	1,0
539	<i>C. tropicalis</i>	1,5	6,0	0,125	0,125	0,047
541	<i>C. tropicalis</i>	>32	>256	>32	>32	0,19
1323 HC	<i>C. albicans</i>	>32	>256	>32	>32	0,25

590	<i>C. tropicalis</i>	0,094	2,0	0,064	0,094	0,75
603	<i>C. glabrata</i>	>32	>256	>32	>32	0,125
1730 HC	<i>C. tropicalis</i>	1,0	2,0	0,064	0,125	1,5
1773 HC	<i>C. albicans</i>	>32	3,0	0,047	0,032	1,0
107/1	<i>C. tropicalis</i>	2,0	3,0	0,25	0,125	0,38
1799 HC	<i>C. tropicalis</i>	3,0	4,0	0,064	0,25	0,5
225/1	<i>C. tropicalis</i>	0,38	4,0	0,125	0,064	0,5

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](#)