

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

DISTRIBUIÇÃO DE ESPÉCIES, PERFIL DE SUSCETIBILIDADE AO
FLUCONAZOL E FATORES DE RISCO PARA CANDIDEMIA NO HOSPITAL DE
CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE

Aluno: Valério Rodrigues Aquino

Orientador: Prof. Dr. Afonso Luis Barth

Co-Orientador: Prof. Dr. Luciano Zubaran Goldani

Dissertação de Mestrado

2005

A657d Aquino, Valério Rodrigues

Distribuição de espécies, perfil de suscetibilidade ao fluconazol e fatores de risco de candidemia no Hospital de Clínicas de Porto Alegre/ Valério Rodrigues Aquino ; orient. Afonso Luis Barth ; co-orient. Luciano Zubaran Goldani. - 2005. 99 f.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação Medicina: Ciências Médicas. Porto Alegre, BR-RS, 2005.

1. Candidíase 2. Fatores de risco 3. Infecção hospitalar 4. Hospital de Clínicas de Porto Alegre 5. Fluconazol I. Barth, Afonso Luis II. Goldani, Luciano Zubaran III. Título.

NLM: WC 470

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, chefe e amigo Prof. Dr. Afonso Luis Barth pelo direcionamento e lapidação deste trabalho em todas as etapas. Agradeço de coração e guardo grande gratidão e respeito pelos ensinamentos a mim proporcionados.

Ao Prof. Dr. Luciano Zubaran Goldani pelo incentivo, apoio e orientação do trabalho, o que para mim foi uma honra poder contar com esta valiosa contribuição.

Ao acadêmico da medicina Luciano Werle Lunardi pela parceria, incansável revisão dos prontuários e apoio nas discussões clínicas deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ricardo Machado Xavier, pelo apoio e incentivo aos funcionários do Serviço de Patologia Clínica em desenvolver a qualificação profissional.

A minha querida incentivadora e amiga Susana Barcellos (a mestre) pelo apoio e por ensinar que nem tudo que brilha é ouro...

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Severo (o mestre) pelos ensinamentos, e oportunidade de aprender com ele e com sua equipe no laboratório de micologia da Santa Casa (Flavio, Luciana, Cristina, Cecília...), um local onde se respira micologia.

Ao Prof. Dr. Sydney Hartz Alves pelo exemplo de grandeza profissional e pelo que me ensinou de micologia na UFSM, um berço da micologia no Brasil.

Ao Prof. Dr. Lúcio Bakos e sua maravilhosa equipe do Serviço de Dermatologia do HCPA, pela oportunidade de me proporcionar um local onde posso atuar como micologista.

A Profa. Dra Sandra Costa Fuchs, coordenadora do programa de pós-graduação em medicina: ciências médicas e que tive a grata oportunidade de ser aluno e aprender muito.

A Ana Graciela Ventura Antunes pelo apoio na realização nos testes de suscetibilidade e amizade.

A Stela, pela paciência, amor e compreensão neste período um pouco complicado.

Aos colegas da unidade de microbiologia do HCPA (Izolete, Denisinha, Denise, Dirce, Dr.Berno, Tania, Alice, Dani...) e em especial a Larissa que me ajudou muito por já ter passado as mesmas etapas.

Ao Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pelo apoio (\$\$\$).

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| ABREVIATURAS..... | 6 |
| INTRODUÇÃO..... | 7 |
| REVISÃO DA LITERATURA..... | 11 |
| Histórico e Características gerais..... | 11 |
| Epidemiologia..... | 14 |
| Fatores de risco..... | 22 |
| Diagnóstico laboratorial..... | 27 |
| Tratamento..... | 30 |
| Resistência aos antifúngicos..... | 35 |
| REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA..... | 40 |
| OBJETIVOS..... | 52 |
| ARTIGO | |
| Prevalence, Susceptibility Profile for Fluconazole and Risk Factors for candidemia in a Tertiary Care Hospital in Southern Brazil..... | 53 |
| Versão em português do artigo “Prevalence, Susceptibility Profile for Fluconazole and Risk Factors for candidemia in a Tertiary Care Hospital in Southern Brazil”..... | 74 |
| ANEXOS..... | 98 |

ABREVIATURAS

ATCC - American Type Culture Collection

BHI - Brain Heart Infusion

CDC - Centers for Disease Control and Prevention

NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards

CIM - Concentração Inibitória Mínima

NNISS - National Nosocomial Infection Surveillance System

SCOPE - Surveillance and Control of Pathogens of Epidemiologic

NEMIS - The National Epidemiology of Mycosis Survey

BT - Breakthrough candidemia

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas houve um aumento na incidência de micoses sistêmicas oportunistas em diversos grupos de pacientes e o interesse pelo estudo das micoses humanas foi estendido a diversas áreas da medicina (1-4). Fatores como o elevado número de pacientes imunodeprimidos, incluindo recém nascidos prematuros, politraumatizados, queimados, pacientes submetidos a cirurgias de grande porte, neutropênicos, indivíduos portadores de aids, transplantados de medula ou órgãos sólidos bem como o aumento do tempo de internação tem contribuído para o aparecimento de micoses oportunistas (5-7).

Candida é a levedura responsável por aproximadamente 80% dos casos de fungemia em diversos hospitais terciários e sua relevância clínica vem sendo destacada por inúmeros autores (1;4;7;8). A candidemia é a quarta infecção mais freqüente em pacientes hospitalizados nos Estados Unidos (2;6;9;10). Infecção devido a esta levedura tem alta taxa de mortalidade atribuída e, portanto, torna-se necessário o conhecimento dos fatores de risco para aquisição deste patógeno (11-13). Além disso, é de vital importância que se desenvolvam recursos confiáveis de diagnóstico laboratorial bem como a avaliação da resposta “in vitro” desta levedura aos antifúngicos (14;15).

As espécies de *Candida* fazem parte da microbiota normal de pele, mucosas e trato gastrointestinal sendo que a candidemia ocorre devido a passagem para a corrente sanguínea por translocação do trato gastrointestinal (16;17) ou por exposição ao meio externo através de cateter, nutrição parenteral e contato direto com pacientes durante procedimentos (5;18).

O gênero *Candida* compreende aproximadamente duzentas espécies, no entanto, apenas algumas destas tem sido associadas a micoses cutâneas ou sistêmicas em seres humanos. A

distribuição é universal e a doença ocorre principalmente em indivíduos imunodeprimidos expostos a fatores de risco (4). Entre as espécies de maior relevância destaca-se a *Candida albicans* (19), considerada o patógeno oportunista mais freqüente e que faz parte da microbiota normal do homem. Outras espécies de importância clínica incluem a *C. parapsilosis* (*Candida não-albicans* mais comum na América Latina) relacionada ao uso prolongado de cateter central (20-24) e *C. tropicalis*, prevalente em pacientes neutropênicos (9;25;26) . Por outro lado, espécies como *C. glabrata* e *C. krusei* se apresentam cada vez menos sensíveis ou mesmo resistentes ao fluconazol (25;27-29). Finalmente, destacam-se ainda a *C. guillieromondii* e *C. lusitaniae*, onde pode ocorrer resistência a anfotericina B (28;30;31).

Existem fatores de risco que facilitam a infecção sistêmica por *Candida*, e entre estes principais fatores pode-se citar o uso prévio de antibioticoterapia de amplo espectro, isolamento de *Candida* spp em diversos sítios, presença de cateter venoso central, hemodiálise, quebra da barreira mucocutânea, quimioterapia, neutropenia e nutrição parenteral (6;11;13;32;33-34).

Atualmente a candidemia não se restringe apenas a pacientes oncológicos ou em unidade de terapia intensiva. Isso se deve ao fato de existir inúmeras doenças de base que podem estar relacionadas à infecção sistêmica por *Candida*. Assim, a candidemia pode acometer pacientes em qualquer unidade de internação do hospital, os quais apresentem doença gastrointestinal, doença neurológica, insuficiência renal crônica, prematuros, diabéticos, neutropênicos, queimados, aids etc (2;5;9).

É importante que se conheça os fatores de risco para aquisição de *Candida* sp, para que pacientes expostos a estes sejam monitorados através de avaliações clínicas e laboratoriais periódicas no sentido de aumentar a possibilidade de diagnóstico e conseqüente orientação para a instituição de condutas preventivas no sentido de diminuir a incidência de infecção por esta levedura.

A candidemia apresenta sintomas clínicos não específicos como febre, calafrios, endoftalmite, mialgia, lesões cutâneas sendo o quadro muito semelhante ao apresentado por sepsis por bactérias. É, portanto, de fundamental importância a realização do diagnóstico laboratorial de candidemia através do isolamento desta levedura a partir da cultura de sangue (35;36). Além disso, é necessária a identificação correta da espécie envolvida, através de provas de assimilação e fermentação de carboidratos ou sistemas automatizados de alta precisão. Devido ao aumento da resistência aos antifúngicos também é importante a realização de testes de suscetibilidade, em especial, nos pacientes que fazem uso de antifúngicos, principalmente azólicos, por longos períodos (14;15;37;38).

O tratamento para candidemia constitui-se no uso de anfotericina B como antifúngico de primeira escolha e fluconazol como alternativa. A anfotericina B apresenta alto grau de atividade contra *Candida* sp enquanto o fluconazol pode apresentar variações quanto ao perfil de atividade de acordo com a espécie envolvida. A identificação da levedura em nível de espécie é importante uma vez que *C. krusei* e *C. glabrata* apresentam elevado grau de resistência ao fluconazol, enquanto a *C. lusitanae* é mais resistente a anfotericina B (28;39-41).

Evidências do aumento da resistência de espécies de *Candida* se originaram principalmente nos Estados Unidos. As espécies não-*albicans* predominantes nessas regiões incluem *C. krusei* e *C. glabrata*, em contraste com as espécies de *Candida* isoladas na América do Sul, Canadá e Europa que incluem *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*, espécies usualmente mais sensíveis aos azólicos (37;42-46).

O único método padronizado para determinação quantitativa da suscetibilidade das leveduras que mais freqüentemente causam infecções invasivas (*Candida* spp e *Cryptococcus* spp) é o método da diluição em caldo estabelecido pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Embora existam propostas alternativas ao método do NCCLS, estas ainda não foram internacionalmente padronizadas, principalmente devido à sua baixa reprodutibilidade (47;48).

REVISÃO DA LITERATURA

HISTÓRICO E CARACTERÍSTICAS GERAIS

Em 1842 David Gruby descreveu uma moléstia caracterizada por lesões na cavidade bucal de crianças, a qual se conhece até hoje com a denominação de sapinho. Charles Robin em 1853 descreveu o agente etiológico desta moléstia como *Oidium albicans* que juntamente com a denominação de Zopf de *Monilia albicans*, foi utilizada de 1890 até 1923 quando Berkouth criou o gênero *Candida* que permanece até a atualidade. (48;49).

A taxonomia fúngica é uma disciplina dinâmica, progressiva, a qual freqüentemente requer troca na nomenclatura, o que muitas vezes dificulta o entendimento para profissionais da área médica. Em micologia classificação e identificação dos agentes fúngicos é baseada em aspectos morfológicos e micromorfológicos. Geralmente a nomenclatura mais familiar para os micologistas refere-se ao estado assexuado dos fungos, pois o conhecimento da fase sexuada, é pouco observado (50).

Os fungos compreendem atualmente o reino *Eumycota*, em substituição ao reino *Fungi*, criado em 1969 e constituído por mais de 100.000 espécies as quais possuem características específicas como ausência de celulose e pigmento fotossintético e presença de glicogênio. Destas espécies apenas em torno de 400 constituem os fungos patógenos e oportunistas em humanos (48;50;51).

As leveduras do gênero *Candida* pertencem à divisão *Ascomycota* e família *Sacharomycetaceae* (50). Existem aproximadamente 200 espécies de *Candida* distribuídas na natureza como microbiota normal de mamíferos e aves. No entanto, aproximadamente 10%

das espécies de *Candida* tem importância clínica como agente de micoses em humanos (35). As principais espécies relacionadas em infecções clínicas incluem *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida glabrata*, *Candida lusitanae* e *Candida guilliermondii* (4;35;52;53). Estas leveduras reproduzem-se primariamente por brotamento dando origem aos blastoconídios, podendo algumas vezes desenvolver estruturas alongadas denominadas pseudo-hifas ou ainda hifas com septos regulares. (50;51).

As espécies de *Candida* spp crescem em aerobiose e suportam pH entre 2,5 e 7,5 e temperatura de 20 a 38°C, sendo que o melhor crescimento pode ser observado entre 35 e 37°C. As espécies de *Candida* fazem parte da microbiota da pele, do trato gastrointestinal e das mucosas (35;48;51) e sua patogenicidade esta relacionada com alterações do sistema imunológico do hospedeiro e aos fatores de virulência do microrganismo, como capacidade de aderência, produção de proteinases e fosfolipases, dimorfismo, variabilidade fenotípica e produção de toxinas, as quais são fatores de virulência espécie-específicos (30;35;51;54).

As colônias de *Candida* spp crescem em meios de Sabouraud e ágar sangue e são de textura cremosa, membranosas e úmidas, não formando hifas aéreas (51).

O termo candidemia tem sido usado para descrever o isolamento de *Candida* spp em pelo menos uma hemocultura (4;55).

Os sintomas clínicos da candidemia são muitas vezes inespecíficos e o quadro clínico é igual ao de sepse por bactérias; incluindo febre, calafrios, mialgia, lesões cutâneas e endoftalmite (35;36). O padrão clínico mais freqüente é a febre que não responde a antibióticoterapia de amplo espectro. As lesões cutâneas podem ser uma manifestação de doença invasiva ou doença disseminada e se caracterizam sob forma de máculo-pápulas ou

pequenos nódulos com base eritematosa e purpúrica. As lesões na pele ocorrem em 10-15% dos casos e estão mais associadas à infecção por *C. tropicalis* (4). As lesões oculares podem aparecer sob forma de lesões algodinosas na retina e no vítreo e ocorrem em 10 a 30% dos casos (4;28).

EPIDEMIOLOGIA

Nas últimas décadas tem sido observado um aumento progressivo nas infecções nosocomiais atribuídas a fungos, especialmente leveduras do gênero *Candida*, as quais são importante causa de mortalidade principalmente em pacientes imunodeprimidos (1;53;56-58). Em hospitais terciários norte-americanos, o gênero *Candida* corresponde a 80% das infecções fúngicas (1;4;7;8) e 8% das infecções de corrente sanguínea (1;23;59). A proporção de infecção nosocomial por *Candida* spp nos Estados Unidos aumentou de 2% em 1980 para 5% de 1986 a 1989 (52) e é o quarto agente de infecção de corrente sanguínea, principalmente em unidades de terapia intensiva (2;10;56).

Wey e cols observaram que infecções por *Candida* spp entre 1977 e 1984 em hospitais norte-americanos tiveram um aumento de 0,5 para 1,5 por 10.000 admissões. O mesmo estudo indicou uma mortalidade bruta de 57% e mortalidade atribuída de 38% (12).

Na década de 80 houve um aumento na incidência de infecções causadas por leveduras do gênero *Candida*, conforme levantamentos feitos nos Estados Unidos pelo “National Nosocomial Infections Surveillance” (NNIS). O NNIS analisou mais de 25000 infecções primárias de corrente sanguínea em 124 hospitais. Durante o período de 1980 a 1989 a incidência de infecção primária por *Candida* teve um aumento na ordem de 487% em hospitais terciários. O aumento da incidência de infecção por *Candida* spp foi maior que as infecções por *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp e bacilos Gram negativos; só não sendo maior que o aumento de infecções relacionadas a *Staphylococcus* sp coagulase negativa (1).

Beck-Sagué e cols também em estudo pelo NNIS em 115 hospitais norte americanos analisando infecções nosocomiais observaram, considerando todos os sítios anatômicos que o índice de infecção fúngica nosocomial passou de 2 pacientes/1000 altas em 1980 para 3,8/1000 altas em 1990. A mortalidade associada a fungemia foi da ordem de 29%, superior ao índice de mortalidade (17%) em pacientes com infecção sistêmica causada por outros patógenos (2).

Em 2 estudos realizados nos Estados Unidos para avaliar a incidência de infecções de corrente sanguínea por *Candida* spp, Diekema e cols em Iowa (60) e Kao e cols nas cidades de Atlanta e São Francisco (61) observaram a incidência anual de candidemia de 6-8 pacientes por 100.000 habitantes ao ano.

Voss e cols em estudo realizado em 5 hospitais universitários na Holanda entre 1987 e 1995 observaram um aumento de espécies não *albicans*, apesar disso este aumento de espécies não-*albicans* na Europa e Canadá são menos prevalentes que nos Estados Unidos (62).

Na década de 90 Pfaller e cols realizaram estudo em 50 hospitais dos Estados Unidos e observaram que o gênero *Candida* foi responsável por 8% dos episódios de infecção de corrente sanguínea em hospitais terciários passando de sétimo lugar ocupado nos anos 80 para quarto lugar como causa de infecção (23;59).

Um estudo do Surveillance and Control of Pathogens of Epidemiologic Importance (SCOPE) em 49 hospitais de diferentes tamanhos e áreas geográficas dos Estados Unidos em 3 anos mostrou a *Candida* spp como o quarto patógeno isolado em infecção de corrente sanguínea e apresentou a maior taxa bruta de mortalidade (59).

As taxas de candidemia em hospitais brasileiros também apresentam índices significativos conforme descrito por Colombo e Guimarães (4). Os autores analisaram os dados de 7.038 infecções em quatro hospitais de São Paulo, em um período de 12 meses, e constataram que 4,3% das infecções de corrente sanguínea foram atribuídas a *Candida*.

As espécies de *Candida* de interesse clínico incluem *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida glabrata*, *Candida stellatoidea*, *Candida guilliermondii*, *Candida lusitanae*, *Candida dubliniensis*, *Candida kefyr*, *Candida rugosa*, *Candida famata*, *Candida utilis*, *Candida lipolytica*, *Candida norvegensis* e *Candida inconspicua*. *Candida albicans* tem sido descrita como a espécie mais comumente isolada do sangue em aproximadamente 50-60 % dos casos de candidemia, no entanto existem outras 4 espécies que também se destacam na incidência em infecções sistêmicas: *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. krusei* (4;23;59).

Wingard analisando 37 estudos que incluíam pacientes oncológicos e 1591 episódios de candidemia observou alta incidência de *C. tropicalis* (25%), principalmente em pacientes com leucemia e *C. glabrata* (8%) em pacientes com tumores sólidos (63). A variabilidade de espécies não-*albicans* pode ser atribuída as diferentes doenças de base, fatores relacionados ao hospedeiro, tipos de tratamento, concentração da droga, terapia antimicrobiana ou medidas de suporte (19;26;63;64).

Candida albicans produz proteinases e fosfolipases, enzimas relacionadas a virulência, significativa termotolerância e capacidade de adesão, por formar blastoconídios, pseudo-hifas e hifas capazes de se aderir à superfície dos epitélios (35). Estes são importantes fatores que podem explicar a alta incidência desta levedura em diversas micoses superficiais e invasivas

em diferentes sítios nas séries publicadas em todas as partes do mundo (19;35;42;46;53;65;66).

Nos anos sessenta, a *C. albicans* representava 85% a 90% dos episódios de candidemia. Porém, um estudo realizado no MD Anderson Center sobre a etiologia da candidose entre 1988 a 1992, identificou o aumento de espécies não-*albicans*, destacando *C. tropicalis* (18%), *C. parapsilosis* (17%), *C. glabrata* (11%) *C. krusei* (4%) e outras espécies (3%). Neste estudo a espécie *C. albicans* respondia por apenas 42% dos casos de candidemia (9).

Embora a mudança na epidemiologia das espécies de *Candida* spp seja influenciada por diversos fatores, o uso de fluconazol parece exercer uma pressão seletiva para o aumento das espécies não-*albicans* (3). Este antifúngico começou a ser usado como profilaxia a partir dos anos 90, e concomitantemente observou-se um aumento progressivo de *Candida krusei* e *Candida glabrata*, espécies mais resistentes aos azólicos (3;9;23;28;45;55;59;64). As espécies *C. tropicalis* e *C. glabrata* são mais freqüente em adultos enquanto que a *C. parapsilosis* é mais comum em pacientes pediátricos, especialmente neonatos (19;22;24;45;60;67).

Cuenca-Estrella analisando 744 isolados de *Candida* spp (514 da Espanha e 230 da Argentina) observaram *C.albicans* em 30,2% e 40,9% respectivamente. *C. parapsilosis* foi a segunda espécie mais isolada (média: 36,4%), seguida de *C. tropicalis* (13,7%) e *C. glabrata* (7,4%) (37).

Portanto, apesar de a maioria dos casos de candidemia estarem associados a *C. albicans* (19;25;37;42;43;45), é crescente a partir dos anos 90 o isolamento de espécies não-*albicans* (9;27).

Estudos realizados na América do Sul indicam que entre as espécies não-*albicans* predominam *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* (5;25;42;68). *Candida tropicalis* é espécie oportunista de hospedeiro neutropênico e com doenças hematológicas, principalmente leucemia (26) o qual normalmente possui a microbiota bacteriana suprimida pelo uso de antibióticos de amplo espectro e *C. parapsilosis*, associada ao uso de cateter venoso central, uso de nutrição parenteral, e contaminação em soluções por produzir biofilme e frequentemente colonizar a pele (5;25;43). Esta última espécie também é citada como colonizante de mãos de equipe de pessoal de enfermagem que tem contato direto com o paciente (5;10;20).

Estudos multicêntricos de vigilância epidemiológica (NEMIS, SENTRY, NNIS) e de base populacional (CDC) tem monitorado o surgimento de novas espécies, tendências epidemiológicas e perfil de suscetibilidade de espécies auxiliando no controle de resistência aos antifúngicos. Os estudos de vigilância epidemiológica abrangem através de uma amostragem de episódios consecutivos em um grande número de instituições uma grande área geográfica por períodos prolongados de tempo (45;64;66) (Tabela 1).

Tabela 1: Distribuição de espécies de *Candida* em programas de vigilância epidemiológica e base populacional.

| População | Programa ^a | Período | <i>C.albicans</i> (%) | <i>C.glabrata</i> (%) | <i>C.parapsilosis</i> (%) | <i>C.tropicalis</i> (%) | <i>C.krusei</i> (%) | <i>Candida</i> spp (%) |
|-----------|-----------------------|-----------|--------------------------|--------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------|---------------------------|
| Adultos | NEMIS | 1993-1995 | 48 | 24 | 5 | 19 | 0 | 0 |
| | NNIS | 1989-1999 | 59 | 12 | 10 | 11 | ND | ND |
| | CDC | 1998-2000 | 48 | 25 | 12 | 14 | ND | ND |
| | SENTRY | 1997-2000 | 50 | 23 | 12 | 10 | 2 | ND |
| Neonatos | CDC | 1992-1993 | 53 | 0 | 45 | 0 | 0 | 2 |
| | NEMIS | 1993-1995 | 63 | 6 | 29 | 0 | 0 | 3 |
| | NNIS | 1989-1999 | 54 | 2 | 38 | 4 | 0 | 2 |
| | SENTRY | 1997-2000 | 60 | 3 | 24 | 7 | 0 | 6 |

^a NEMIS: National Epidemiology of Mycoses Study, NNIS: National Nosocomial Infection Surveillance System, CDC: Centers for Disease Control and Prevention

NA: Dado não disponível

Adaptado de Pfäller MA and Diekema (45).

Embora o aumento na incidência de *C. glabrata* tenha sido observado em diversos países (3;9;45;53;57;60;64;65;67), nos Estados Unidos esse aumento é mais acentuado (23;46;57;59;66) alcançando índices acima de 20% em algumas instituições (19).

Por outro lado, infecções devido a *C. krusei*, espécie com resistência intrínseca ao fluconazol e relacionada a alta mortalidade associada, tem sido relatada em 2 a 5% dos casos de fungemia, permanecendo estável nas últimas décadas (19;30;46;57).

Em relato de caso e revisão da literatura sobre 55 pacientes com *C. lusitaniae*, espécie com maior resistência a anfotericina, Hawkins e Boddour, descreveram ocorrência

principalmente em pacientes jovens (média de 44 anos) e pacientes com graves doenças de base tais como leucemia, linfoma, tumores sólidos, submetidos à quimioterapia, antibioticoterapia de amplo espectro e neutropênicos (31).

Godoy e cols realizaram estudo multicêntrico envolvendo cinco hospitais terciários (Maracaibo, Lima, Buenos Aires, São Paulo e Porto Alegre) num período de 12 meses totalizando 103 amostras de *Candida* spp isoladas de corrente sanguínea. *Candida albicans* foi a mais freqüente (42%) isolada, mas também se observou o isolamento de *Candida lusitanae*, espécie com perfil diferenciado de suscetibilidade a anfotericina (43).

No Brasil, Colombo e cols descreveram 145 episódios de candidemia em hospitais terciários de São Paulo e Rio de Janeiro e relataram as espécies mais prevalentes: *Candida albicans* (37%), *Candida parapsilosis* (25%), *Candida tropicalis* (24%), *Candida rugosa* (5%) e *Candida glabrata* (4%). Os autores concluíram que os fatores de risco para candidemia em hospitais terciários no Brasil são similares aos estudos anteriormente apresentados, isto é, a infecção é adquirida por pacientes críticos, submetidos à quimioterapia, procedimentos invasivos e pacientes que permanecem longos períodos hospitalizados, principalmente em unidades de tratamento intensivo. Além disso, a candidemia no Brasil também está associada à alta taxa de mortalidade atribuída, mas que, devido ao alto custo, raramente é realizado o uso de profilaxia com azólicos em hospitais públicos. O estudo considera que é importante identificar a espécie das leveduras isoladas em hospitais, pois isso auxilia a Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) e o clínico na tomada de decisão quanto ao tratamento bem como permitiria o conhecimento da epidemiologia local (5).

Estudos mais recentes no Brasil mostram um perfil de espécies semelhante aos estudos multicêntricos realizados na América do Sul onde apesar do predomínio de *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis* (25;42;68) tem sido observado o isolamento de espécies como *Candida krusei*, *Candida glabrata*, as quais apresentam maior resistência aos azólicos; *Candida dubliniensis*, que possui a característica de desenvolvimento de resistência aos azólicos (68) e *Candida lusitaniae* e *Candida guilliermondii* as quais apresentam maior resistência a anfotericina B (31;35;41;68).

FATORES DE RISCO

Vários fatores de risco para candidemia foram definidos na década de 80 com estudos de caso-controle com análise multivariada (6;11;13) (Tabela 2). Alguns fatores como quimioterapia, uso de corticosteróides e neutropenia agem primariamente causando imunossupressão, enquanto outros estão associados a quebra de barreiras de proteção como cateteres vasculares, queimaduras e uso de soluções parenterais os quais facilitam a invasão e conseqüente infecção por leveduras (8;11;13;18;33;52;69-71). Existe também a possibilidade de aquisição via exógena da levedura através da transmissão horizontal pelo contato das mãos de profissionais de saúde, com pacientes portadores de cateteres vasculares ou soluções parenterais contaminadas (8;11;13;24;69;72;73). Em outros pacientes a doença de base como peritonite ou deficiência na função intestinal pode ser a fonte da candidemia (35).

Os fatores de risco estão relacionados em maior ou menor grau com a candidemia, sendo que alguns constituem intervenções terapêuticas específicas (múltiplas transfusões, ventilação mecânica e tempo de permanência em unidade de terapia intensiva) (71). Estes fatores refletem a gravidade da doença de base, sendo considerado por alguns autores fatores secundários (34;35).

Acredita-se que a maioria dos casos de candidemia seja adquirida por via endógena onde a colonização é um importante fator de risco para infecção (8;13;16;32;33;35;74). Alguns autores comprovaram que isolados clínicos de pacientes colonizados ou com infecção superficial por *Candida* spp eram as mesmas cepas (mesmo genótipo) que causavam infecção de corrente sanguínea ou invasiva (8;10;33).

A origem endógena da candidemia foi originalmente sugerida por Krause em 1969 quando ele ingeriu uma solução de *Candida* sp na concentração de 10^{12} Unidades Formadoras de Colônias (UFC) e após duas horas apresentou culturas de sangue e urina com a levedura. Com esse experimento os pesquisadores deduziram que *Candida* sp provinda do intestino pode causar infecção sistêmica em duas etapas distintas. Primeiramente através da translocação do trato gastrointestinal para a corrente sanguínea e após pela invasão de outros órgãos. No experimento de Krause a segunda etapa foi prevenida pela administração de altas doses de nistatina oral após a ingestão da suspensão de *Candida*. (16).

Stone e cols também demonstraram a translocação de *Candida* após injeção de diferentes concentrações da levedura em diferentes órgãos de cães e primatas. As culturas de tecido e sangue confirmaram que a levedura atravessa a mucosa intestinal intacta em altas concentrações (17).

Wey e cols analisaram 28 fatores de risco em análise multivariada e concluíram que uso prévio de antibióticos é um importante fator de risco independente. O odds ratio (OR) obtido foi 12,50 nos pacientes que recebiam 3 a 5 antibióticos, quando comparados com aqueles pacientes que não recebiam, ou recebiam até 2 antibióticos. Neste estudo também foi identificado como importante fator de risco a colonização por *Candida* sp em diferentes sítios, hemodiálise e uso de cateter venoso central, sugerindo que pacientes com estes fatores de exposição têm alta probabilidade de desenvolver candidemia nosocomial.(13).

Beck-Sague e cols observaram associação entre o aumento de infecções fúngicas nosocomiais e uso de nutrição parenteral total, cateter venoso central e antibioticoterapia de amplo espectro (2).

Blumberg e cols analisaram fatores de risco para candidemia em unidades de terapia intensiva e observaram um risco relativo de 7,3 em pacientes cirúrgicos; de 4,2 em pacientes com insuficiência renal aguda; de 3,6 em uso de nutrição parenteral total e de 5,4 naqueles que faziam uso de cateter venoso central, todos considerados como fatores de risco independentes na análise multivariada (18).

Embora nem todos pacientes colonizados irão desenvolver candidemia, a colonização é considerada um pré-requisito para a infecção (35;36). Em pacientes com câncer e neonatos com baixo peso, altas concentrações de *Candida* nas fezes são reportadas como um importante fator de risco para candidemia (35). No momento da internação somente 5-10% dos pacientes se encontram colonizados por *Candida*, mas irremediavelmente esta proporção aumenta com o tempo de internação e exposição aos fatores de risco, podendo chegar a 50-86% em pacientes internados em unidades de tratamento intensivo (33;35). Alguns autores sugerem que em casos de suspeita clínica, a colonização de mais de 2 sítios é suficiente para predizer a infecção sistêmica por *Candida* sp e requer início da terapia (35).

A neutropenia é outro importante fator de risco para candidemia, uma vez que as leveduras tendem a invadir os tecidos na deficiência de neutrófilos, células essenciais para a fagocitose de um grande número de fungos oportunistas (35;63).

O uso de antibióticos previamente ou concomitante a candidemia favorece o crescimento de leveduras do gênero *Candida* spp no trato gastrointestinal, o que pode favorecer a translocação para a corrente sanguínea. Foi observada associação de infecções por *Candida* com o número, classe e tempo de uso do antibacteriano (6;29;33;52). Fraser e cols identificaram que 94% dos pacientes com candidemia fizeram uso de antibioticoterapia prévia,

sendo que 61% foram tratados com mais de quatro agentes antimicrobianos (6). Embora tenha sido descrita associação de candidemia com qualquer agente antimicrobiano, a pressão seletiva é mais evidenciada, segundo alguns autores pelo uso de cefalosporinas e drogas com atividade contra anaeróbios (35;33).

Cateter venoso central é um dispositivo freqüentemente utilizado em pacientes hospitalizados, e a candidemia pode estar relacionada a este fator em proporções que variam de 35% a 80% (35). Isto se deve principalmente a *C. parapsilosis*, a qual prolifera-se em soluções contendo glicose, tem grande capacidade de produzir biofilme e freqüentemente coloniza a pele (4). A remoção do cateter venoso central é sugerida quando ocorre isolamento de *C. parapsilosis* em hemocultura, em tempo superior a duas horas entre a positividade do sangue do cateter e da veia periférica. Por isto, em paciente neutropênico, recebendo nutrição parenteral total pelo cateter e candidemia que não responde ao tratamento, é aconselhado a retirada do cateter (21;32;36;73). Em neonatos a não remoção está associada a significativo aumento da mortalidade, principalmente relacionada a *C. albicans* (21).

Deve-se ainda salientar entre os fatores de risco a cirurgia abdominal, pelo risco de perfuração ou translocação. A nutrição parenteral total que pode induzir atrofia da mucosa intestinal, e veicular a levedura por contaminação no preparo das soluções (11;13;35;52).

O isolamento de *Candida* sp na urina freqüentemente torna-se um problema terapêutico, pois pode representar contaminação, colonização ou manifestação de candidose disseminada. Entre os fatores relacionados a candidúria estão a cateterização, idade, uso de múltiplos antibióticos, diabetes e obstrução do trato urinário (75;76). Cabe salientar que para a avaliação do isolado de *Candida* na urina é fundamental observar os procedimentos de coleta e

transporte do material clínico até o laboratório (76).

Tabela 2: Fatores de risco para candidemia.

| | |
|--|----------------------------------|
| Internação em Unidade de tratamento Intensivo* | Neutropenia |
| Presença de cateter venoso central * | Uso de Imunossupresores |
| Colonização por <i>Candida</i> spp * | Ventilação mecânica |
| Uso de múltiplos antibióticos * | Múltiplas transfusões sanguíneas |
| Hemodiálise * | Diabete mellitus |
| Cirurgia abdominal * | Uso de corticosteróides |
| Nutrição parenteral total * | |

Adaptado de Vincent JL e cols (34)

* fator de risco independenteNA:

DIAGNOSTICO LABORATORIAL

A forma mais convencional e prática de detecção das leveduras do gênero *Candida* é feita através de sua observação macroscópica e microscópica nos meios de cultura, observando o seu aspecto cremoso, liso, de coloração amarelada e correlacionando com o exame direto do material, ou seja, a observação de blastoconídios e pseudo-hifas (51).

O diagnóstico laboratorial das candidemias é realizado através do cultivo do sangue (hemocultura), um método que tradicionalmente, apresenta baixa sensibilidade para detecção de microrganismos presentes na corrente circulatória (5). Atualmente a sensibilidade das hemoculturas aumentou significativamente provavelmente devido a utilização de meios bifásicos (Isolator®) que utiliza método de lise-centrifugação e métodos automatizados (BactAlert®, Bactec®) que detecta o crescimento de fungos e emite um sinal. Além dos métodos automatizados para realização das hemoculturas existem métodos automatizados utilizados para a identificação precisa das leveduras. A utilização destes métodos aumentou também a capacidade do laboratório em identificar as diversas espécies de leveduras. Entre os sistemas automatizados de identificação destacam-se o sistema Vitek que utiliza Yeast Biochemical Cards (YBC) e o sistema mini-API (Biomerieux®) com o cartão API20 C. No entanto os clássicos métodos de assimilação e fermentação de açúcares continuam sendo usados em laboratórios de referência.(48;51).

Cabe salientar que os métodos automatizados para identificação de leveduras devem ser utilizados por profissionais experientes, os quais tenham capacidade de interpretar os resultados da identificação e, se necessário possam recorrer a métodos clássicos para corroborar a identificação dos métodos automatizados, mais atualmente as técnicas de biologia

molecular também tem sido utilizadas na identificação e tipagem das espécies de *Candida* (72;77).

Um teste inicial que pode ser feito na maioria dos laboratórios é a prova do tubo germinativo, a qual pode orientar na diferenciação de espécies entre *Candida albicans* e *Candida não-albicans*. No entanto, devido ao aumento da prevalência de espécies emergentes e que 5-10% de *C. albicans* não apresenta a formação de tubo germinativo, este método não pode ser considerado absoluto para a identificação de *C. albicans* (51).

O gênero *Candida*, em particular as espécies *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*, se caracterizam pela uniformidade de sensibilidade aos principais antifúngicos utilizados na prática médica. No entanto, o uso indiscriminado de antifúngicos, principalmente no meio hospitalar, propiciou o aumento de espécies mais resistentes (3;9;60;67). Assim, além da identificação correta em nível de espécie, o laboratório eventualmente necessita determinar o perfil de suscetibilidade das leveduras (14). Em relação aos testes de suscetibilidade aos antifúngicos existem algumas metodologias propostas para sua realização (47), mas permanece como método de referência apenas as técnicas da macrodiluição e microdiluição em caldo aprovado pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (14;78;79).

Os valores de *breakpoints* (pontos de corte) sugeridos pelo NCCLS para interpretar o teste de sensibilidade para o fluconazol são menor ou igual a 8 µg/ml para sensível (S), sensível dose dependente (SDD) se estiver na faixa de concentração entre 16 µg/ml e 32 µg/ml e resistente (R) se a concentração for maior ou igual a 64 µg/ml. (78).

Existem propostas alternativas ao método padronizado pelo NCCLS conforme diversos autores, mas nenhuma tem sido usada de forma consistente, provavelmente devido à baixa reprodutibilidade. Cabe mencionar que o método de maior concordância foi o E-test, um método quantitativo que visa a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), que obteve alta concordância para o fluconazol de acordo com o meio usado para o teste (47,48).

O diagnóstico laboratorial da candidemia depende do volume de sangue e do número adequado de amostras de hemoculturas. Assim um bom sistema de processamento das amostras com aparelhos automatizados que monitorizam constantemente as amostras e indicam quando ocorre um crescimento fúngico seria o ideal (48). Além disso, é necessária uma identificação correta da espécie envolvida, através de sistema manual ou automatizado de alta precisão e sensibilidade e de provas de suscetibilidade, em especial entre pacientes que fazem uso de antifúngico, principalmente azólicos, por longos períodos (14;48).

TRATAMENTO

Devido ao fato da candidemia estar relacionada à alta taxa de mortalidade, aumento do tempo de internação e risco de complicações a curto e longo prazo, requer tratamento com antifúngicos (12;74). Para a escolha do antifúngico é importante considerar, na abordagem terapêutica, os fatores de risco associados, gravidade do quadro clínico, a espécie envolvida bem como seu perfil de suscetibilidade (12;14;35;36;80). No geral, o tratamento da candidemia é realizado basicamente com anfotericina B, azólicos ou equinocandinas (35;36;40;80).

A identificação da espécie no gênero *Candida* pode predizer a suscetibilidade aos antifúngicos bem como pode servir para orientar o clínico quanto ao tratamento (Tabela 3). Embora já tenha sido reportada resistência de *C. albicans* aos azólicos em pacientes infectados com HIV com candidose orofaríngea recorrente e em pacientes com candidose invasiva, esta espécie é geralmente sensível à maioria dos antifúngicos. No geral, portanto, a determinação do perfil de suscetibilidade é recomendada para os pacientes com infecção profunda devido a espécies não-*albicans* e aqueles que fizeram tratamento prévio com azólicos (14;30;40;66).

A profilaxia é recomendada nos pacientes com colonização de múltiplos sítios por *Candida* sp, presença de vários fatores de risco como em pacientes transplantados de medula óssea ou órgão sólido ou febre que não responde ao tratamento com antibióticos (35;36;40;54;80;81).

Tabela 3: Padrões de suscetibilidade de *Candida* spp aos antifúngicos.

| Espécie | Fluconazol | Itraconazol | Voriconazol | Flucitosina | Anfotericina B | Equinocandina |
|------------------------|------------|-------------|-------------|-------------|----------------|---------------|
| <i>C. albicans</i> | S | S | S | S | S | S |
| <i>C. tropicalis</i> | S | S | S | S | S | S |
| <i>C. parapsilosis</i> | S | S | S | S | S | S |
| <i>C. glabrata</i> | SDD - R | SDD - R | S - I | S | S - I | S |
| <i>C. krusei</i> | R | SDD - R | SDD - I | I - R | S - I | S |
| <i>C. lusitaniae</i> | S | S | S | S | S - R | S |

Adaptado de Pappas PG e cols (40)

S: sensível; SDD: sensível dose-dependente; I: intermediário; R: resistente

A anfotericina B é um antifúngico do grupo dos poliênos, os quais apresentam amplo espectro e capacidade de ligar-se e romper a membrana citoplasmática que contém esteróis. Assim, a anfotericina B liga-se principalmente ao ergosterol, que constitui o principal esterol da membrana citoplasmática da célula fúngica. A ação fungistática ou fungicida dos poliênos é dependente da concentração da droga. Em baixas concentrações a anfotericina B liga-se de maneira reversível à membrana e provoca um aumento da permeabilidade da membrana dos fungos para íons potássio, exercendo assim efeito fungistático, com inibição do crescimento. Em altas concentrações a ligação é irreversível, provocando uma desorganização funcional bem abrangente com perda de permeabilidade seletiva e saída de água, íons, potássio, amônio, fosfato, açúcares, proteínas e nucleotídeos. Como consequência ocorre deterioração metabólica e morte da célula (14;30;35;51;54). Cabe mencionar que a anfotericina B está associada a uma série de efeitos colaterais como calafrios, febre, náuseas, hiponatremia,

vômitos, diarreia, cefaléia, tromboflebite e principalmente nefrotoxicidade. Alguns destes efeitos são atenuados pelo uso de formulações lipídicas (dispersão coloidal de anfotericina B-ABCD), complexo lipídico de anfotericina B (ABLCL) e anfotericina B lipossômica (LAMB), que permitem o uso de doses diárias mais elevadas com menor nefrotoxicidade. O uso destas formulações conforme recomendado pelo Food and Drug Administration (FDA) é indicado quando os níveis de creatinina do paciente forem superiores a 2,5 mg/dl, o que já indica insuficiência renal durante o tratamento com anfotericina B convencional. Além disso, estas formulações são usadas quando há refratariedade, necessidade de altas doses (pacientes com infecção por fungos filamentosos) e para aqueles pacientes em que a utilização de fármacos nefrotóxicos concomitantes implique em alto risco de comprometimento renal (30;35;40;51;80). No entanto, estas formulações não podem ser usadas na maioria das instituições pelo alto custo.

A anfotericina B é indicada para o tratamento da candidose, paracoccidiodomicose, aspergilose, zigomicose, criptococose, histoplasmose, coccidiodomicose e outros fungos filamentosos. Exerce ação sinérgica com a 5-flucitosina, o que permite a redução da dose, conseqüentemente, menor toxicidade, principalmente para o tratamento de *Candida albicans* e *Criptococcus spp* (30;40).

Os azólicos são outra classe de antifúngicos amplamente utilizados no tratamento das infecções fúngicas. Os derivados triazólicos diferenciam-se quimicamente dos imidazólicos por apresentarem três átomos de nitrogênio no núcleo cíclico pentagonal, enquanto que os derivados imidazólicos contêm somente dois. (51;48).

Entre os antifúngicos triazólicos de primeira geração destaca-se o fluconazol que

apresenta dois núcleos triazólicos e dois átomos de flúor na molécula. A droga é ativa contra várias espécies de *Candida*, exceto *Candida glabrata* e *Candida krusei*. É efetivo também contra *Cryptococcus spp*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioidis immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Malassezia spp*, dermatófitos e *Aspergillus spp*. O fluconazol também é usado como profilaxia secundária em pacientes com aids e profilaxia antifúngica em transplantados de medula óssea (14;40;51).

O mecanismo de ação do fluconazol ocorre por inibição da C-14- α -desmetilase, enzima dependente do citocromo P450 dos fungos, responsável pela síntese do ergosterol da membrana citoplasmática. O fluconazol leva a alteração das enzimas ligadas à membrana citoplasmática causando perda da permeabilidade seletiva da membrana. A ação do fluconazol é bastante específica contra a citocromo P450 dos fungos, exercendo ação mínima sobre a enzima correspondente das células humanas, tendo, portanto menor toxicidade e menor influência sobre a síntese de testosterona, estradiol e outros esteróis do homem. O fluconazol é pouco metabolizado, sendo eliminada via renal, predominantemente como droga inalterada (14;30;48;51). Os efeitos adversos mais freqüentes são náusea, cefaléia, vômitos, elevação transitória das transaminases e dor abdominal.

Basicamente o fluconazol é menos tóxico e tão eficaz quanto a anfotericina B, porém existe uma tendência de se evitar o uso de fluconazol quando a candidemia está relacionada a espécies não-*albicans* (26). Em algumas situações como refratariedade ou dano da função renal (creatinina >2,5 mg/dl) o uso de fluconazol não é indicado havendo preferência por anfotericina lipossomal, voriconazol ou caspofungina (35;40).

Anaissie e cols realizaram um estudo de coorte para comparar o fluconazol com a

anfotericina para tratamento de candidemia em pacientes com câncer e não foi observada diferença na mortalidade. A toxicidade foi observada em 9% dos pacientes sob uso de fluconazol e 67% dos pacientes com anfotericina B, sendo os principais efeitos observados a nefrotoxicidade, hipocalcemia, febre e calafrios. O fluconazol, segundo os autores, mostrou-se tão eficaz e menos tóxico para o tratamento da candidemia nestes pacientes (39).

RESISTÊNCIA AOS ANTIFÚNGICOS

O termo resistência é usado para descrever a não sensibilidade de um microorganismo frente a uma droga, “in vitro”, comparado com outros isolados da mesma espécie. Em contraste, falha terapêutica está relacionada à não-resposta clínica sob terapia apropriada. A razão desta falha terapêutica pode ser resistência à droga, deficiência de resposta imune, biodisponibilidade alterada ou metabolismo acelerado da droga (30;54;81).

A resistência pode ser primária quando o microorganismo nunca foi exposto, naquele hospedeiro, a droga de interesse ou secundária após exposição à droga. Resistência intrínseca é definida quando todos ou quase todos isolados de uma espécie são resistentes a certa droga, como por exemplo, a resistência de *Candida krusei* ao fluconazol. Finalmente o termo resistência clínica pode ser associado para descrever falha na terapêutica, ou recaída da infecção relacionada a um microorganismo sem resistência “in vitro”, como ocorre em pacientes neutropênicos (54).

O uso de antifúngicos pode selecionar espécies menos suscetíveis as quais estão em menor número no trato gastrointestinal e que ganham espaço quando espécies mais sensíveis são suprimidas. Além disso, o uso de antifúngicos pode ter ação sobre espécies inicialmente sensíveis, as quais que se tornam resistentes por mutação aos serem expostas destes fármacos (30;63). Isso foi corroborado através de estudos que com a análise do DNA genômico em isolados clínicos pré e pós-tratamento com azóis, demonstraram que a mesma cepa de *Candida* previamente sensível era obtida com CIM mais elevado, ou até mesmo resistente após exposição aos antifúngicos (71;81;82).

Diversos mecanismos de resistência têm sido observados em *Candida* spp, os quais eventualmente, ocorrem simultaneamente apresentando um efeito sinérgico. Os mecanismos de resistência em *Candida* incluem mudanças na parede celular ou membrana plasmática conduzindo à deficiência na ligação com a droga; expressão de bomba de efluxo que expulsa o antifúngico de dentro da célula; superexpressão da molécula alvo dos antifúngicos; modificação da molécula alvo do antifúngico; ativação de mecanismos alternativos que causam aumento do metabolismo dos antifúngicos; seqüestro do antifúngico em organelas como os vacúolos ou trocas cromossômicas para aumentar o número de cópias do gene (35;54;81).

Barchiesi e cols observaram, na Itália, que as espécies de *Candida* spp, são geralmente sensíveis aos antifúngicos utilizados (fluconazol, itraconazol, posaconazol, 5-fluorocitosina e anfotericina B) (69). De forma similar, Chen e cols em Taiwan observaram que a suscetibilidade de *Candida* sp ao fluconazol foi de 94% em 1994-1995 e 97,9% em 1999-2000. Isto indica que a resistência é muito baixa apesar do aumento do uso de fluconazol como profilaxia considerando que 12% dos isolados foram *C. glabrata*, espécie mais resistente azólicos (65).

Colombo e cols analisando 200 amostras de *Candida* spp de corrente sanguínea de pacientes de 5 hospitais terciários no Brasil (Rio de Janeiro e São Paulo) observaram baixa resistência ao azólicos (1,5%), onde somente 3 amostras (1 *C. glabrata* e 2 *C. krusei*) se mostraram resistentes ao fluconazol. Cabe ressaltar que neste estudo somente 11 pacientes foram expostos ao fluconazol antes do episódio (42).

Antunes e cols analisaram 120 amostras de *Candida* spp do Complexo Hospitalar da

Santa Casa em Porto Alegre e não observaram resistência ao fluconazol. Os autores creditaram a ausência de resistência ao baixo consumo de fluconazol na instituição. Neste estudo espécies mais resistentes (*C. krusei* e *C. glabrata*) aos azólicos representaram apenas 5% dos dados (68).

A resistência é um fenômeno naturalmente esperado, como visto nas bactérias, desde o surgimento da penicilina. Atualmente em ambiente hospitalar muitas vezes se observa bactérias resistentes a praticamente todas as classes de antibióticos disponíveis (28;79). Contudo deve ser reconhecido que a magnitude de resistência aos antifúngicos parece não ser como visto em antibacterianos. A exposição a curtos períodos de terapia antifúngica parece não apresentar um problema para o desenvolvimento da resistência. (73). Desde a introdução dos anti-retrovirais no tratamento de pacientes com HIV tem ocorrido diminuição significativa de infecções fúngicas nestes pacientes. A frequência de isolados de *Candida* spp permanece estável e com pequeno percentual de amostras resistentes aos azólicos (65).

A resistência a anfotericina B esta relacionada com a diminuição da quantidade de ergosterol presente na membrana fúngica. Sendo este um fator importante a ser considerado no tratamento das micoses oportunistas por espécies de fungos hialinos e demácios. A *Candida lusitanae*, agente de candidemia em pacientes imunodeprimidos, é frequentemente relacionada como capaz de desenvolver resistência a anfotericina B durante a terapia. Recentemente observou-se que em 103 isolados desta levedura (*C. lusitanae*) que ela apresentava 96,7% de sensibilidade a anfotericina B, sendo comparada com a sensibilidade apresentada por *C. albicans* (95%) (73).

A anfotericina B não age contra os fungos dos gêneros *Cladosporium* e *Phialophora*,

(agentes de cromomicose e feo-hifomicose), *Lacazzia loboi* (agente da lobomicose) e *Aspergillus terreus* (aspergilose). Além disso, este antifúngico tem sua ação limitada sobre *Pseudoallescheria boydii*, *Fusarium* spp, *Trichosporon* spp, *Scopulariopsis* spp, *Candida lisitaniae*, *Candida lipolytica* e *Candida guilliermondii* (14;30;51;54).

A resistência ao fluconazol pode ser devido à exposição prévia à droga, utilizada como profilaxia (54). Diferentes mecanismos de resistência ao fluconazol são possíveis, tais como modificação da molécula alvo da droga e expressão da bomba de efluxo (30;38;54;81). A natureza multifatorial de diferentes mecanismos de resistência pôde ser observada em 75% dos isolados resistentes de *C. albicans*. No geral os mecanismos foram expressos em diferentes percentagens, sendo que superexpressão dos genes responsáveis pelo efluxo da droga, mutação do gene da enzima lanosterol 14 α -demetilase e superexpressão deste gene foram observados em 85%, 65% e 35% dos casos, respectivamente (30).

Pacientes com aids com baixas contagens de CD4 e uso repetido de fluconazol para tratamento de candidose oral e esofágica desenvolveram resistência ao fluconazol. Nestes casos, a resistência aos azólicos é reportada em 32% dos pacientes assintomáticos e 14% dos pacientes sintomáticos. Alguns autores citam *Candida tropicalis*, como espécie com CIM mais elevada para alguns antifúngicos, principalmente ao fluconazol, sendo relatados inclusive, casos de resistência (30,37;38).

Pfaller e cols analisando 3932 isolados de *Candida* spp observaram a resistência ao fluconazol em menos de 1% de *C. albicans*, 5% em *C. parapsilosis*, 2% em *C. tropicalis*. Este antifúngico, portanto, pode ser uma escolha segura no tratamento da candidemia especialmente por estas espécies (83).

Rex e cols reportaram falha terapêutica em pacientes que desenvolveram candidemia enquanto faziam uso de fluconazol. Neste estudo embora tenham relatado outras espécies, se observou um grande número de *C. krusei* e *C. glabrata* (28).

Uzum e cols analisaram 479 episódios de candidemia em estudo retrospectivo de 1988 a 1992. Em um total de 49 pacientes foi detectado *breakthrough candidemia* (BT), definido como candidemia desenvolvida após cinco dias de terapia antifúngica sistêmica (candidemia de escape). A análise multivariada revelou que a internação em unidades de tratamento intensivo, duração da neutropenia e uso de corticosteróides foram fatores de risco determinantes para o episódio. A mortalidade geral nesses pacientes foi de 76% e nos pacientes sem *breakthrough candidemia* 50% (29).

Nguyen e cols analisaram 460 episódios de candidemia em 427 pacientes e observaram BT em pacientes com profilaxia com fluconazol (34 pacientes). As espécies não-*albicans* representaram 76% dos episódios e *C. parapsilosis* e *C. krusei* as espécies mais frequentes em pacientes sem BT enquanto que nos pacientes com BT e profilaxia com anfotericina B (21 pacientes) a espécie mais freqüente foi *C. glabrata*. Os pacientes mais envolvidos nos episódios de BT em vigência de fluconazol foram aqueles com câncer, aids e transplantados de medula óssea, enquanto que aqueles pacientes com BT e anfotericina B eram neutropênicos ou com tumor sólido (84).

Os principais fatores de risco para BT foram identificados como neutropenia profunda, uso de corticosteróides e antibióticoterapia de amplo espectro. Os pacientes mais suscetíveis ao episódio são imunodeprimidos com câncer, aids, tumor sólido e neutropênicos, e que eventualmente podem apresentar espécies com CIM mais elevado (29;84-86).

REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA

- (1) Banerjee SN, Emori TG, Culver DH, Gaynes RP, Jarvis WR, Horan T et al. Secular trends in nosocomial primary bloodstream infections in the United States, 1980-1989. National Nosocomial Infections Surveillance System. Am J Med 1991; 91(3B):86S-89S.
- (2) Beck-Sague C, Jarvis WR. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. National Nosocomial Infections Surveillance System. J Infect Dis 1993; 167(5):1247-1251.
- (3) Berrouane YF, Herwaldt LA, Pfaller MA. Trends in antifungal use and epidemiology of nosocomial yeast infections in a university hospital. J Clin Microbiol 1999; 37(3):531-537.
- (4) Colombo AL, Guimarães T. Epidemiology of hematogenous infections due to *Candida* spp. Rev Soc Bras Med Trop 2003; 36(5):599-607.
- (5) Colombo AL, Nucci M, Salomão R, Branchini ML, Richtmann R, Derossi A et al. High rate of non-albicans candidemia in Brazilian tertiary care hospitals. Diagn Microbiol Infect Dis 1999; 34(4):281-286.
- (6) Fraser VJ, Jones M, Dunkel J, Storfer S, Medoff G, Dunagan WC. Candidemia in a tertiary care hospital: epidemiology, risk factors, and predictors of mortality. Clin Infect Dis 1992; 15(3):414-421.

- (7) Pfaller MA. Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs, and modes of transmission. *Clin Infect Dis* 1996; 22 Suppl 2:S89-S94.
- (8) Reagan DR, Pfaller MA, Hollis RJ, Wenzel RP. Evidence of nosocomial spread of *Candida albicans* causing bloodstream infection in a neonatal intensive care unit. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1995;21(4):191-194.
- (9) Abi-Said D, Anaissie E, Uzun O, Raad I, Pinzowski H, Vartivarian S. The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida* species. *Clin Infect Dis* 1997; 24(6):1122-1128.
- (10) Rangel-Frausto MS, Wiblin T, Blumberg HM, Saiman L, Patterson J, Rinaldi M, Pfaller M, Edwards JE Jr, Jarvis W, Dawson J, Wenzel RP. National epidemiology of mycoses survey (NEMIS): variations in rates of bloodstream infections due to *Candida* species in seven surgical intensive care units and six neonatal intensive care units. *Clin Infect Dis*. 1999;26(2): 253-8.
- (11) Wenzel RP. Nosocomial candidemia: Risk factors and attributable mortality *Clin Infect Dis* 1995; 20:1531-4.
- (12) Wey SB, Mori M, Pfaller MA, Woolson RF, Wenzel RP. Hospital-acquired candidemia. The attributable mortality and excess of stay. *Arch Intern Med* 1988; 148:2642-2645.
- (13) Wey SB, Mori M, Pfaller MA, Woolson RF, Wenzel RP. Risk factors for hospital-acquired candidemia. A matched case-control study. *Arch Intern Med* 1989; 149(10):2349-2353.

- (14) Alves SH, Lopes JO, Cury AE. Teste de suscetibilidade aos antifúngicos. Por que, quando e como realizar. *Newslab*. 1997. São Paulo.v 25, p.140-148.
- (15) Rex JH, Pfaller MA. Has antifungal susceptibility testing come of age? *Clin Infect Dis* 2002; 35(8):982-989.
- (16) Krause W, Matheis H, Wulp K. Fungemia and funguria after oral administration of *Candida albicans*. *Lancet Infect Dis* 1969; 598-599.
- (17) Stone HH, Kolb LD, Currie CA, Geheber CE, Cuzzel JZ. *Candida* sepsis: Pathogenesis and principles of treatment. *Annals of Surgery*. 1974. vol 179(5).
- (18) Blumberg HM, Jarvis WR, Soucie JM, Edwards JE, Patterson JE, Pfaller MA et al. Risk factors for *Candida* bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: the NEMIS prospective multicenter study. The National Epidemiology of Mycosis Survey. *Clin Infect Dis* 2001; 33(2):177-186.
- (19) Sandven P. Epidemiology of candidemia. *Rev Iberoam Micol* 2000;17:73-81.
- (20) Diekema, Messer SA, Hollis RJ, Wenzel RP, Pfaller MA. An outbreak of *Candida parapsilosis* prosthetic valve endocarditis. *Diagn Microbiolog Infect Dis* 1997; 29:147-153.
- (21) Karlowicz MG, Hashimoto LN, Kelly RE, Buescher ES. Should central venous catheter be removed as soon as candidemia is detected in neonates? *Pediatrics* 2000;106(5).

- (22) Levy I, Rubin LG, Vasishtha S, Tucci V, Sood SK. Emergence of *Candida parapsilosis* as the predominant species causing candidemia in children. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 1086-1088.
- (23) Pfaller MA, Jones RN, Messer SA, Edmond MB, Wenzel RP. National surveillance of nosocomial blood stream infection due to species of *Candida* other than *Candida albicans*: frequency of occurrence and antifungal susceptibility in the SCOPE Program. SCOPE Participant Group. *Surveillance and Control of Pathogens of Epidemiologic. Diagn Microbiol Infect Dis* 1998; 30(2):121-129.
- (24) Silva CLP, Santos RMR, Colombo AL. Cluster of *Candida parapsilosis* Primary Bloodstream Infection in a Neonatal Intensive Care Unit. *Braz J Infect Dis* 2001; 5: 32-36.
- (25) Goldani LZ, Mario PS. *Candida tropicalis* fungemia in a tertiary care hospital. *J Infect* 2003; 46(3):155-160.
- (26) Kontoyannis DP, Vaziri I, Hanna HA, Boktour M, Thornby J, Hachem R et al. Risk factors for *Candida tropicalis* fungemia in patients with cancer. *Clin Infect Dis* 2001; 33:1676-1681.
- (27) Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, Sader HS, Fluit AC, Hollis RJ et al. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial surveillance program. *J Clin Microbiol* 2001; 39(9):3254-3259.

- (28) Rex JH, Rinaldi MG, Pfaller MA. Resistance of *Candida* species to fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39(1):1-8.
- (29) Uzun O, Ascioğlu S, Anaissie EJ, Rex JH. Risk factors and predictors of outcome in patients with cancer and breakthrough candidemia. *Clin Infect Dis* 2001; 32(12):1713-1717.
- (30) Canuto MM, Rodero FG. Antifungal drug resistance to azoles and polyenes. *Lancet Infect Dis* 2002; 2(9):550-561.
- (31) Hawkins JL, Baddour LM. *Candida lusitanae* Infections in the era of fluconazole availability. *Clin infect Dis* 2003;36:14-8.
- (32) Nucci M, Colombo AL, Silveira F, Richtmann R, Salomao R, Branchini ML et al. Risk factors for death in patients with candidemia. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1998; 19(11):846-850.
- (33) Saiman L, Ludington E, Dawson JD, Patterson JE, Rangel-Frausto S, Wiblin RT et al. Risk factors for *Candida* species colonization of neonatal intensive care unit patients. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20(12):1119-1124.
- (34) Vincent JL, Anaisse E, Bruining H, Demajo W, El Ebiary M, Solomkin J et al. Epidemiology, diagnosis and treatment of systemic *Candida* infection in surgical patients under intensive care. *Intensive Care méd* 1998;24:206-216.
- (35) Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis* 2003; 3(11):685-702.

- (36) Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Management of *Candida* species infections in critically ill patients. *Lancet Infect Dis* 2003; 3:722-785.
- (37) Cuenca-Estrella M, Rodero L, Garcia-Effron G, Rodriguez-Tudela JL. Antifungal susceptibilities of *Candida* spp. isolated from blood in Spain and Argentina, 1996-1999. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49(6):981-987.
- (38) Sanglard D, Odds FC. Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. *Lancet Infect Dis* 2002; 2(2):73-85.
- (39) Anaissie EJ, Vartivarian SE, Abi-Said D, Uzun O, Pinczowski H, Kontoyiannis DP et al. Fluconazole versus amphotericin B in the treatment of hematogenous candidiasis: a matched cohort study. *Am J Med* 1996; 101(2):170-176.
- (40) Pappas PG, Rex JH, Sobel JD, Filler SG, Dismukes WE, Walsh TK, Edwards JE. Guidelines for treatment of Candidiasis. *Clin Infect Dis* 2004; 38:161-89.
- (41) Viudes A, Péman J, Cantón E, Salavert M, Ubeda P, López-Ribot JL, Gobernado M. Two cases of fungemia due to *Candida lusitanae* and literature review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2002;294-299.
- (42) Colombo AL, Nakagawa Z, Valdetaro F, Branchini MLM, Kussano JU, Nucci M. Susceptibility profile of 200 bloodstream isolates of *Candida* spp. Collected from Brazilian tertiary care hospitals. *Med Mycol* 2003; 41: 235-239.
- (43) 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.

- (44) Pfaller MA, Diekema DJ. Rare and emerging opportunistic fungal pathogens: Concern for resistance beyond *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. J Clin Microbiol 2004;44:19-4431.
- (45) Pfaller MA, Diekema DJ. Role of sentinel surveillance: trends in species distribution and antifungal susceptibility. J Clin Microbiol 2002; 40(10):3551-3557.
- (46) Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN, Doern GV, Brandt ME et al. Trends in species distribution and susceptibility to fluconazole among blood stream isolates of *Candida* species in the United States. Diagn Microbiol Infect Dis 1999; 33(4):217-222.
- (47) Colombo AL, Barchiesi F, McGough DA, Rinaldi MG. Comparison of Etest and National Committee for Clinical Laboratory Standards broth macrodilution method for azole antifungal susceptibility testing. J Clin Microbiol 1995; 33(3):535-540.
- (48) Sidrim JCS, Rocha MFG. Micologia Médica à Luz de Autores Contemporâneos. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro 2004.
- (49) Odds, FC. *Candida* and candidosis. Leicester University Press 1979; 1-2.
- (50) Guarro J, Gene J, Stchiegel AM. Developments in fungal taxonomy. Clin Microbiol Rev 1999; 12(3):454-500.
- (51) Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Vaccari EMH, Melo NT. Tratado de Micologia Médica. São Paulo. Ed Sarvier 2002.
- (52) Fridkin SK, Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections. Clin Microbiol Rev. 1996; 9(4):499-511.

- (53) Slavin MA. The epidemiology of candidaemia and mould infections in Australia. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49 Suppl 1:3-6.
- (54) Loeffler J, Stevens D. Antifungal drug resistance. *Clin Infect Dis* 2003; 36: S31-41.
- (55) Bodey GP, Mardani M, Hanna HA, Boktour, Abbas J et al. The epidemiology of *Candida glabrata* and *Candida albicans* fungemia in immunocompromised patients with cancer. *Am J Med* 2002; 112:380-85.
- (56) Edmond MB, Wallace SE, McClish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis. *Clin Infect Dis* 1999; 29(2):239-244.
- (57) Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Messer SA, Houston A et al. Bloodstream infections due to *Candida* species: SENTRY antimicrobial surveillance program in North America and Latin America, 1997-1998. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44(3):747-751.
- (58) Wenzel RP, Pfaller MA. *Candida* species: emerging hospital bloodstream pathogens. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1991; 12(9):523-524.
- (59) Pfaller MA, Jones RN, Messer SA, Edmond MB, Wenzel RP. National surveillance of nosocomial blood stream infection due to *Candida albicans*: frequency of occurrence and antifungal susceptibility in the SCOPE Program. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998; 31: 327-332.

- (60) Diekema DJ, Messer SA, Brueggemann AB, Coffman SL, Doern GV, Herwaldt LA and Pfaller MA. Epidemiology of candidemia: 3-year results from the emerging infections and the epidemiology of Iowa organisms study. *J Clin Microbiol* 2002; 40:1298-1302.
- (61) Kao AS, Brandt ME, Pruitt WR, Conn LA, Perkins BA, Stephens DS et al. The epidemiology of candidemia in two United States cities: results of a population-based active surveillance. *Clin Infect Dis* 1999; 29(5):1164-1170.
- (62) Voss A, Kluitams JA, Koelman JG, Spanjaard L, Vanderboucke-Grauls CM, Verbrugh HA et al. Occurrence of yeast bloodstream infections between 1987 and 1995 in five Dutch university hospitals. *European Journal of Clinical Microbiology and infectious Diseases* 1996; 15: 9809-901.
- (63) Wingard JR. Importance of *Candida* species other than *C.albicans* as pathogens in oncology patients. *Clin Infect Dis* 1995; 20:115:125.
- (64) Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Tendolkar S, Hollis RJ, Diekema DJ. Variation in susceptibility of bloodstream isolates of *Candida glabrata* to fluconazole according to patient age and geographic location. *J Clin Microbiol* 2003; 41(5): 2176-2179.
- (65) Chen YC, Chang SC, Luh KT, Hsich. Stable susceptibility of *Candida* blood isolates to fluconazole despite increasing use during the past 10 years. *J Antimicrob Chemother* 2003;52:71-77.
- (66) Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Hollis RJ, Messer SA. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and antifungal susceptibilities of isolates collected in 1997 in the United States, Canada,

and South America for the SENTRY Program. The SENTRY Participant Group. J Clin Microbiol 1998; 36(7):1886-1889.

- (67) Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, Messer SA, Hollis RJ. Trends in antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from pediatric and adult patients with bloodstream infections: SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997 to 2000. J Clin Microbiol 2002; 40(3):852-856.
- (68) Antunes AGV, Pasqualotto AC, Diaz MC, D'Azevedo PL, Severo LC. Candidemia in a Brazilian tertiary care hospital: Species distribution and antifungal susceptibility patterns. Rev. Inst. Med. Trop 2004; S.Paulo 46 (5):239-241.
- (69) Barchiesi F, Caggano G, Maracci M, Arzeni D, Scalise G, Montagna MT. Antifungal susceptibility patterns of yeast isolates causing bloodstream infections. J Antimicrob Chemother 2003; 51(2):431-433.
- (70) Velasco E, Thuler LC, Martins CA, Nucci M, Dias LM, Goncalves VM. Epidemiology of bloodstream infections at a cancer center. Sao Paulo Med J 2000; 118(5):131-138.
- (71) Bota DP, Rodriguez-Villalobos H, Dimopoulos G, Melot C, Vincent JL. Potential risk factors for infection with *Candida* spp in critically ill patients. Clin Microbiol Infect 2004; 10:550-555.
- (72) Branchini ML, Geiger DC, Fischman O, Pignatari AC. Molecular typing of *Candida albicans* strains isolated from nosocomial candidemia. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1995; 37(6):483-487.

- (73) Pfaller MA, Diekema DJ. Rare and Emerging Opportunistic Fungal Pathogens: Concern for Resistance beyond *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. *J Clin Microbiol* 2004; 42(10):4419-4431.
- (74) Pittet D, Tarara D, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infection in critically ill patients. Excess length of stay, extra costs, and attributable mortality. *JAMA* 1994; 271:1598-1601
- (75) Kauffman CA, Vazquez JA, Sobel JD, Gallis HA, McKinsey DS, Karchmer AW et al. Prospective multicenter surveillance study of funguria in hospitalized patients. *Clin Infect Dis* 2000;30:14-8.
- (76) Lundström T, Sobel J. Nosocomial candiduria: a review. *Clin Infect Dis* 2001;32:1602-7
- (77) Pfaller MA. Epidemiology of nosocomial candidiasis: the importance of molecular typing. *Braz J Infect Dis* 2000; 4(4):161-167.
- (78) National Committee for Clinical Laboratory Standards. NCCLS M27-A2. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, approved standards. Wayne, NCCLS, 2002.
- (79) Rex JH, Pfaller MA, Walsh TJ, Chaturverdi V, Espinel-Ingroff et al. Antifungal susceptibility testing: Practical aspects and current challenges. *Clin Microbiol Reviews* 2001; 643-658.
- (80) Gavalda J, Ruiz I Guidelines for the treatment of invasive fungal infection by *Candida* spp. *Enferm Infect Microbiol Clin* 2003; 21(9):498-50.

- (81) Kontoyannis DP, Lewis RE. Antifungal drug resistance of pathogenic fungi. *Lancet Infect Dis* 2002; 30:1135-1144.
- (82) Voss A, Pfaller MA, Hollis RJ, Melchers WJ, Meis JF. Evaluation of the discriminatory power of pulsed-field gel electrophoresis and PCR fingerprinting for epidemiologic typing of *Candida* species. *Clin Microbiol Infect* 1998; 4(2):82-87.
- (83) Paller MA, Messer SA, Boyken L, Hollis RJ, Rice C, Tendolkar S, Diekema DJ. In vitro activities of voriconazole, posaconazole, and fluconazole against 4,169 isolates of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans* collected during 2001 and 2002 in the ARTEMIS global antifungal surveillance program. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004; 48:201-205.
- (84) Nguyen MH, Peacock JE jr, Morris AJ, Tanner DC, Rinaldi MG, Yu VL. The changing face of candidemia: Emergence of non-candida albicans species and antifungal resistance. *American Journal of Medicine*, 1996; 100:617:623.
- (85) Nucci M, Colombo AL. Risk factors for breakthrough candidemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002;21:209-211..
- (86) Nucci M, Colombo AL. Emergence of resistant candida in neutropenic patients. *Braz J Infect Dis* 2002;6(3):124-128.

OBJETIVOS

Geral

Estabelecer o perfil epidemiológico e de suscetibilidade ao fluconazol nas infecções hematogênicas causada por *Candida* spp no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Específicos

Determinar a prevalência de espécies de *Candida* isoladas em hemoculturas.

Determinar o perfil de suscetibilidade “in vitro” de *Candida* spp frente ao fluconazol.

Relatar os fatores de risco nos pacientes com candidemia.

Prevalence, Susceptibility Profile for Fluconazole and Risk Factors for Candidemia in a
Tertiary Care Hospital in Southern Brazil

Valério Rodrigues Aquino*, Luciano W. Lunardi**, Luciano Zubarán Goldani † e Afonso
Luis Barth*

* Microbiology Unit - Service of Clinical Pathology

**Medicine Faculty UFRGS

†Service of Internal Medicine

Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil

Author for correspondence:

Valério R. Aquino,

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Unidade de microbiologia - Serviço de Patologia Clínica

Rua Ramiro Barcelos 2350

Porto Alegre, RS, Brazil, 90.035-903

Phone: (+51) 21018452

E-mail: vaquino@hcpa.ufrgs.br

ABSTRACT

Bloodstream infections by yeast of *Candida* sp present a significant clinical and epidemiological significance due to their high mortality rate and the increasing number of non-*albicans* species with a more resistant (differentiated susceptibility) profile.

In order to establish the species prevalence and susceptibility profile for fluconazole and to describe the risk of nosocomial infections by *Candida* spp at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre, a general tertiary care hospital in southern Brazilian, we conducted a retrospective study starting on the date of positive cultures of hospitalized patients. The distribution by species in 131 documented episodes was as follows: *Candida albicans* (45%), *Candida parapsilosis* (24.4%), *Candida tropicalis* (15.3%), *Candida glabrata* (6.9%), *Candida krusei* (4.6%) and 3.8% of other species (*C. pelliculosa*, *C. guilhermondi*, *C. lusitanae* e *C. kefyr*).

The vast majority of samples (121 – 92.4%) were susceptible to fluconazole, and the resistant or dose-dependent sensitive included only samples of *C. krusei* and *C. glabrata*. The group of blood diseases (leukemia, lymphoma), or neoplasias (solid tumors), represented 35.0% of candidemia episodes. We noted the previous use of antibiotics in 128 (97.7%) patients, with 79.7% using three or more antibiotics before the candidemia episode. Other observed risk factors included the presence of central venous catheter in 94 (71.8 %) and abdominal surgery in 32 (24.4%) patients. The overall mortality rate was 51.9% which ranged according to the underlying disease.

According to our results, it is possible to conclude that *C. albicans* is the most prevalent specie although the non-*albicans* species represent the majority of isolates. However, resistance “in vitro” to fluconazole was detected only among the species (*C. glabrata* e *C.krusei*) which tend to be resistant to the azolic compounds. Previous use to antibiotic and the presence of central venous catheter were the major risk factors among patients with candidemia in our study

INTRODUCTION

Bloodstream infections due to *Candida* have drawn a significant attention in several medical fields over the past few decades due to their increasing incidence, high general (57-61%) and attributed (38-49%) mortality rate [1,2,3], and the appearance of non-*albicans* species displaying a differentiated resistant susceptibility profile. *Candida* spp is responsible for around 80% of nosocomial fungal infections and is the fourth main cause of bloodstream infections in tertiary care hospitals in the United States [4,5]. In South America, a different profile has been observed concerning the distribution of species and the susceptibility profile [6,7].

The the main risk factors for candidemia, included the use of immunosuppressive drugs, and/or broad-spectrum antibiotic therapy, abdominal surgery, parenteral nutrition, hemodialysis and central venous catheter use [2, 8-14].

Most often, *Candida albicans* is the main etiological species involved in hematogenic infections; however non-*albicans* species are increasingly reported as a cause of infection in patients with underlying diseases, such as hematological disorders, HIV infections and solid tumors where most of the time, patients are exposed to different risk factors for the development of systemic fungal infection due to specific therapies and differentiated procedures [10, 15-17].

The epidemiology of systemic *Candida* infections varies according to different regions, and frequently, from one hospital to another within the same region [13,17]. In this sense, local studies are important in order to establish epidemiological data and the *Candida* susceptibility profile to anti-fungal drugs aiming to assist in the management and treatment of hospitalized patients with *Candida* infection.

The objectives of this study were (1) to establish the prevalence of *Candida* species, (2) to determine the “in vitro” susceptibility to fluconazole and (3) to describe the risk factors for candidemia in patients hospitalized at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre, a tertiary care hospital located in the southern region of Brazil.

MATERIALS AND METHODS

We conducted a retrospective study to assess the prevalence of *Candida* species in blood cultures, the risk factors associated with candidemia and the “in vitro” susceptibility profile to fluconazole at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), a general tertiary care hospital with 723 beds in the south of Brazil from April 1998 to August 2004.

We included only the isolate of *Candida* spp obtained from the first episode of candidemia of each patient. The yeast was conserved in Sabouraud agar at room temperature before performing the susceptibility test.

Blood samples were monitored and detected by the Bactec[®] 9240 (Becton Dickinson, Sparks, USA) and sub-cultures were seeded in blood agar for subsequent identification on the mini-API with ID-32C card (Biomérieux SA, Marcy-l’Etoile, France).

For quantitative determination of susceptibility to fluconazole, we used the broth microdilution technique in accordance with the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) document M-27 A2 [18]. Fluconazole was supplied by the manufacturer (Pfizer Inc, New York, NY, USA) and prepared in a concentration of 5120 µg/ml and kept at -20° C. The medium employed was the RPMI-1640 with L-glutamine without bicarbonate (Gibco Invitrogen Corporation, USA) and buffered with morpholinopropanosulfonic acid (MOPS) 0,165 M at pH 7.0.

From the stored samples, two successive subcultures were performed on Sabouraud agar before conducting the susceptibility test.

The microdilution technique was performed in a multi-well plate, containing RPMI-MOPS which was incubated at 35° C for 48 hours. The concentrations of fluconazole varied from 0,125 µg/ml to 64 µg/ml. The reading was conducted by visual comparison of the turbidity of the test well with the turbidity of the positive control well without fluconazole, and the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) was established as the lowest concentration of the antifungal agent which inhibit the yeast growth. The MIC was interpreted according to the cut-off points suggested by document M27-A2 from NCCLS, and reported as “Resistant” (MIC \geq 64 mg/L), “Dose-Dependent Sensitive - DDS” (MIC between 16 and 32 mg/L) and “Sensitive” (MIC $8 \leq$ mg/L). Quality control was performed with strains of *Candida krusei* ATCC 6258 and *Candida parapsilosis* ATCC 22019.

Medical records were retrospectively reviewed starting 30 days before the positive result in blood culture in order to observe any existing risk factor and outcome until the death of patient or resolution of candidemia.

A database was created with the following variables: age, gender, location of hospitalization, underlying disease, previous use of antibiotics, chemotherapy, antifungal agents, corticosteroids, total parenteral nutrition, neutropenia, presence of central venous catheter, surgery, mechanical ventilatory support, clinical symptoms (fever, hypothermia, hypotension, eye lesions and skin lesions) and presence of *Candida* spp in other sites.

The statistical analysis was performed with the SPSS 9.0 software through descriptive analysis for relative frequency and prevalence.

Consultation of the patients medical records was performed in accordance with the term of commitment for data usage at the “ Serviço de Arquivo Médico e Informações em

Saúde” (Service of Medical Archives and Health Information). The study protocol was approved by the Institutional Ethics Committee and the resources for the development of the project were obtained from the Fundo de Incentivo a Pesquisa e Eventos do Hospital de Clinicas de Porto Alegre (FIPE-HCPA).

RESULTS

Characteristics of patients

A total of 131 blood samples from 77 male and 54 female patients which were yielded *Candida* sp included from June 1998 to July 2004. The age of patients ranged from nine days to 91 years, with a mean of 33.6 and median of 28. A total of 21 (16%) patients were under one year of age at the candidemia episode. During the episodes, the patients were located at the following areas: 53 patients hospitalized in medical units (40.4%), 31 in adult intensive care units (ICUs) (23.7%), 21 in pediatric intensive care unit (16%), 18 in oncology units (13.8%), 5 in neonatology units (3.8%), 2 in the emergency sector (1.5%) and 1 in unit for bone marrow transplant (0.8%). Among the episodes observed, 10 (7.6%) were identified within 48 hours of hospitalization representing community infection according to CDC definitions, in contrast with 121 (92.4%) cases of candidemia that were considered as nosocomial infections.

Etiology and Susceptibility profile

Candida albicans (45%) was the most prevalent specie, followed by *Candida parapsilosis* (24.4%) and *Candida tropicalis* (15.3%) (Table 1). The vast majority of isolates (121 - 92,4%) of *Candida* were susceptible to fluconazole (MIC \leq 8 μ g/ml), with 2 μ g/ml and

4 µg/ml being the concentrations capable to inhibit 90% (MIC 90) of *C.albicans*, *C. parapsilosis* and *C. tropicalis*, respectively.

It is worth stressing that, only 4 out of 131 isolates (3%) of *Candida* sp proved to be resistant (MIC \geq 64 mg/L) to fluconazole. These isolates were identified as *C. krusei*, which characteristically presents intrinsic resistance to fluconazole. Additionally, 6 isolates (2 *C. krusei*, 4 *C. glabrata*) were dose-dependent sensitive to fluconazole were identified.

Underlying disease or condition

It was possible to cohort the cases of candidemia into fourteen types of underlying condition or disease. Patients with hematological diseases (leukemia, lymphoma) and neoplasias (solid tumors) represented 35.9% of candidemia episodes (Table 2). It is of note the identification of *Candida* spp in the group of patients with bone marrow (5) and solid organ transplantation (2), whom constitute a significant risk group for opportunistic infections.

Risk Factors

Among the 131 patients included in the study only 3 had not used antibiotics previously. Considering the 128 patients with previous antibiotics use, we observed that 26 (20.3%) used 1 to 2 antimicrobial drugs, 56 (43.8%) used 3 to 5 antimicrobial drugs and 46 (35.9%) used 5 or more antimicrobial drugs previously to the episode of candidemia. It was found that approximately 50% of patients were treated with vancomycin (72.7%) and/or cefepime (48%), though several groups of antimicrobial drugs (penicillins, aminoglycosides, carbapenems, quinolones and sulfonamides) had been used in a smaller proportion.

It was possible to detect previous use of antifungal agents among 3 patients (2,3%), 1 patient was using ketoconazole, 1 patient was using fluconazole and 1 patient used amphotericin B.

The presence of a short or long-term central venous catheter (intra-cath®, Hickman®, port-a-cath®, swan ganz, double-lumen) was observed in 94 (71.8 %) patients in our study.

Among the 131 patients assessed, 50 patients underwent surgery within 30 days before the episode of candidemia, and abdominal surgery was the most common procedure (24.4%) (Table 3).

Clinical manifestations and mortality

In addition to the detection of *Candida* sp in the blood, we observed the presence of *Candida* sp in urine (19 patients), the oral cavity (17 patients), the catheter tip (14 patients) and in a lung biopsy (3 patients).

Fever was the main clinical symptom observed in patients (87%) and more specific symptoms for candidemia such as skin lesions and eye lesions were described in 17 (13.1%) and 6 (3.9%) patients, respectively.

Sixty-eight patients (51.9%) died within a period of up to 30 days after the episode of candidemia. This overall mortality rate ranged according to the underlying disease or condition reaching levels up to 100% for diabetic patients in contrast with 28.6% for patients with transplantation of bone marrow or solid organs.

Different species of *Candida*, were related to distinct the mortality rates which was higher among patients with *C. glabrata* (78%), and *C. tropicalis* (60%). For the remaining species (*C. albicans*, *C. parapsilosis* and *C. krusei*) the mortality rate was around 50%.

Discussion

The distribution of species of *Candida* obtained from the bloodstream may vary according to the geographic area and population in which the studies were performed, probably due to variations in the endogenous microorganisms of the patients [19]. Our study was performed in a tertiary care hospital in the south of Brazil and included adult and pediatric patients, with different underlying diseases or clinical conditions. We observed a high proportion (40.4%) of patients hospitalized in medical units, despite their unstable conditions and, therefore, it is possible to speculate that many of these patients should be hospitalized in intensive care units (ICU) but due to the shortage of available beds in ICU Brazilian tertiary care hospitals these patients are transferred to non-ICU units, as suggested by Colombo et al [10].

With an increase in the incidence of infections by *Candida* spp, there was a trend towards an increase in non-*albicans* species [4]. In the United States, where several studies were performed assessing prevalence and epidemiological surveillance, the *C. albicans* species was reported with a frequency of around 50% (38% to 79.4%) in the majority of institutions [19-21]. Among non-*albicans* species, the most prevalent included *C. glabrata*, *C. tropicalis* and *C. parapsilosis*. We highlight the prevalence of *C. glabrata* a specie more resistant to azolic compounds between 10-21%, the phenomenon that appears to be less frequent in South American hospitals, perhaps due to the lower use of prophylaxis with azolic drugs [10,19,21,22]. In a study performed in 9 tertiary hospitals in Australia, Slavin, obtained a pattern similar to the United States with 56% of *C. albicans*, 16% *C. parapsilosis* and 5% *C. krusei*, *C. glabrata* and *C. tropicalis* [15]. In Canada, the frequency of *C. albicans* is slightly higher, ranging between 53 and 74% in some series [6,19]. In Europe the incidence of *C.*

albicans ranges between 49% and 59%, according to the epidemiological surveillance programs EORTC and SENTRY, respectively [21,23], reaching 70% in some hospitals [19].

In our study, the prevalence of *C albicans* was 45%; this range is equivalent to those found in series from South America and specifically from Brazil [6,7,16,24,25]. In an epidemiologic study in 6 Brazilian tertiary hospitals, Colombo found a small difference between *C. albicans* and non-*albicans* with predominance (63%) of non-*albicans* species [10]. The second most prevalent species was *C. parapsilosis* (24.4%). A specie with an acknowledged ability to develop in solutions containing glucose, to producing biofilm, and to colonizes skin in association with the use of central venous catheter [9,17]. *C. parapsilosis* occurrence is higher in children and premature newborns who are hospitalized in ICUs, however with lower mortality when compared with *C. albicans* [26,27]. The explanation for this effect may be related to the lower virulence of the *C. parapsilosis* in animal models, its inability to adhere and penetrate the endothelium of human cells and susceptibility to phagocytosis [27, 28]. Though *C. parapsilosis* is associated with the use of central venous catheter, there are controversies on whether the catheter should be removed or not. Some authors suggest that removal must be performed whenever possible since it is associated with treatment failure and higher mortality while others prefer to try anti-fungal therapy without removing the catheter [27, 29].

The development of resistance among *Candida* sp is a phenomenon that has occurred during the past few years, especially in patients who used fluconazole as prophylaxis and in neutropenic cancer patients [30]. This phenomenon is more evident in the United States where this approach has been adopted for a longer time than in South America or specifically Brazil [10]. This aspect has been evidenced in studies with HIV positive patients, who were colonized by *Candida* sp fluconazole resistant in the oral epithelium, which was associated

with the use of this antifungal agent as prophylaxis for oral candidiasis. Our study confirmed the high susceptibility of *Candida* spp in South America and in studies with Brazilian samples [7,16,24].

Pfaller et al. described high susceptibility to fluconazole in isolates of *C. parapsilosis* and *C.tropicalis* (98.9 to 100%) obtained in Canada and South America, demonstrating that *Candida* species from the southern hemisphere are generally more susceptible than those from the northern hemisphere [6].

However, the pathogenic yeasts may develop complex mechanisms of resistance to antifungal drugs [30,31] and this probably will lead to an increase of resistant isolates in the Brazilian tertiary care hospitals where there is an increasingly use of antifungal prophylaxis, especially in patients with hematological diseases or transplantations of bone marrow or solid organs [16].

In relation to the underlying diseases associated with candidemia, the findings in this study were equivalent to those described in other centers [8-10,13,19]. Despite cancer patients being more frequently affected, some groups of patients without degenerative disease are highly susceptible due to exposition to risk factors such as invasive procedures during the hospitalization period [2,8,9,11,14,23].

When assessing episodes of candidemia in tertiary hospitals, Fraser et al. observed that 92% of patients who developed candidemia had received antibiotics previously and 62% received at least four antimicrobial drugs. In our study, 97.7% of patients with candidemia received previous antibiotic therapy, and 79.7% used three or more anti-microbial drugs before the episode [32].

In a prospective study, when analyzing data from six intensive care units in the United States, the National Epidemiology of Mycoses Survey (NEMIS) found as independent risk

factors on the multivariate analysis: abdominal surgery and total parenteral nutrition [11]. In this study, abdominal surgery was the most frequent surgical intervention occurring in 32 of 50 patients who underwent surgery. On the other hand, the use of total parenteral nutrition was observed in only 25.2% of patients included in this study. Due to the variability of underlying diseases or conditions for which surgical processes and parenteral nutrition would not be indicated, it is possible that the percentage of these risk factors had been underestimated. The objective of this study was not to determine risk factors for candidemia, but to analyse the risk factors originally described in the literature concerning hematogenic candidiasis.

It is worth stressing that the clinical significance of *Candida* sp in the urine (14.5% of patients with candidemia in this study) is controversial. This finding usually poses a therapeutic problem, since the presence of yeast can indicate contamination or colonization [33], but it should not be ignored, especially in high-risk patients [33,34]. We understand that this finding must be reported for clinical interpretation provided the use of proper procedures for collection and transportation urine to the laboratory.

Clinical symptoms of candidemia are not specific and there are few reports in clinical practice about the involvement of different organs during candidemia. We observed involvement of the skin in 13.1% of patients and eye lesions in 3.9%, the latter representing an uncommon manifestation in neutropenic patients [17].

Breakthrough candidemia (BT) occurs mainly in patients in ICU, neutropenics and/or under corticosteroid treatment. The 3 patients which were identified in our study had underlying diseases leukemia, AIDS and one was a bone marrow transplant. Therefore, these patients are under antifungal prophylaxis, which is a risk factor to develop candidemia by species resistant or BT [35].

Despite the predominance of species susceptible to fluconazole, the general mortality of patients with candidemia in our study was 51.9%, showing that, epidemiologic studies in institutions are important for monitoring these infections.

References

1. Wey SB, Mori M, Pfaller MA, Woolson RF, Wenzel RP. Hospital-acquired candidemia. The attributable mortality and excess of stay. *Arch Intern Med* 1988; 148:2642-2645.
2. Wenzel RP. Nosocomial candidemia: Risk factors and attributable mortality *Clin Infect Dis* 1995; 20:1531-4.
3. Gudlaugson O, Gillespie Sh, Lee K, Vande Berg J, Hu J Mecer Sh, herwaldt L, Pfaller MA, Diekema D. Attributable mortality of nosocomial candidemia. *Clin Infect Dis* 2003; 37:1172-7.
4. Beck-Sague C, Jarvis WR. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. National Nosocomial Infections Surveillance System. *J Infect Dis* 1993; 167(5):1247-1251.
5. Banerjee SN, Emori TG, Culver DH, Gaynes RP, Jarvis WR, Horan T et al. Secular trends in nosocomial primary bloodstream infections in the United States, 1980-1989. National Nosocomial Infections Surveillance System. *Am J Med* 1991; 91(3B):86S-89S.
6. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Messer SA, Houston A et al. Bloodstream infections due to *Candida* species: SENTRY antimicrobial surveillance program in North America and Latin America, 1997-1998. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44(3):747-751.

7. Godoy P, Tiraboschi IN, Severo LC, Bustamante B, Calvo B, Almeida LP et al. Species distribution and anti-fungal susceptibility profile of *Candida* spp. bloodstream isolates from Latin American hospitals. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003; 98(3):401-405
8. Wey SB, Mori M, Pfaller MA, Woolson RF, Wenzel RP. Risk factors for Hospital-acquired candidemia. A matched case-control study. *Arch Intern Med* 1989; 149:2349-2353.
9. Pfaller MA. Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs, and modes of transmission. *Clin Infect Dis* 1996; 22 Suppl 2:S89-S94.
10. Colombo AL, Nucci M, Salomao R, Branchini ML, Richtmann R, Derossi A et al. High rate of non-albicans candidemia in Brazilian tertiary care hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; 34(4):281-286.
11. Blumberg HM, Jarvis WR, Soucie JM, Edwards JE, Patterson JE, Pfaller MA et al. Risk factors for candidal bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: the NEMIS prospective multi-center study. *The National Epidemiology of Mycosis Survey. Clin Infect Dis* 2001; 33(2):177-186.
12. Saiman L, Ludington E, Dawson JD, Patterson JE, Rangel-Frausto S, Wiblin RT et al. Risk factors for *Candida* species colonization of neonatal intensive care unit patients. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20(12):1119-1124.
13. Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis* 2003; 3(11):685-702.

14. Bota DP, Villalobos HR, Dimopoulos G, Melot C, Vicent JL. Potential risk factors for infection with *Candida* spp in critically ill patients. Clin Microbiol Infect; 2004; 10: 550-555.
15. Slavin MA. The epidemiology of candidaemia and mould infections in Australia. J Antimicrob Chemother 2002; 49 Suppl 1:3-6.
16. Colombo AL, Nakagawa Z, Valdetaro F, Branchini MLM, Kussano JU Nucci M. Susceptibility profile of 200 bloodstream isolates of *Candida* spp. Collected from Brazilian tertiary care hospitals. Med Mycol .2003; 41: 235-239.
17. Colombo AL, Guimaraes T. Epidemiology of hematogenous infections due to *Candida* spp. Rev Soc Bras Med Trop 2003; 36(5):599-607.
18. National Committee for Clinical Laboratory Standards – Reference method for broth dilution anti-fungal susceptibility testing of yeasts; approved standards. NCCLS document M27-A2. Wayne, PA, 2002.
19. Sandven P. Epidemiology of candidemia. Rev Iberoam micol 2000; 17:73-81.
20. Edmond MB, Wallace SE, McClish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis. Clin Infect Dis 1999; 29(2):239-244.
21. Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, Sader HS, Fluit AC, Hollis RJ et al. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and

voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY anti-microbial surveillance program. *J Clin Microbiol* 2001; 39(9):3254-3259.

22. Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN, Doern GV, Brandt ME et al. Trends in species distribution and susceptibility to fluconazole among blood stream isolates of *Candida* species in the United States. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; 33(4):217-222.

23. Viscoli C, Girmenia C, Marinus A, Collette L, Martino P, Vandercam B, Doyen C, Lebeau B, Spence D, Krcmery V, De Pauw B, Meunier F. Candidemia in cancer patients: a prospective, multi-center surveillance study by the Invasive Fungal Infection Group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Clin Infect Dis* 1999; 28: 1071-1079.

24. Antunes AGV, Pasqualotto AC, Diaz MC, D'Azevedo PA, Severo LC. Candidemia in a Brazilian tertiary care hospital: Species distribution and susceptibility patterns. *Rev. Inst. Med. Trop* 2004; 46(5):239-241

25. Goldani LZ, Mario PS. *Candida tropicalis* fungemia in a tertiary care hospital. *J Infect* 2003; 46(3):155-160.

26. Levy I, Rubin LG, Vasishtha S, Tucci V, Sood SK. Emergence of *Candida parapsilosis* as the predominant species causing candidemia in children. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 1086-1088.

27. Karlowicz MG, Hashimoto LN, Kelly RE Jr, Buescher ES. Should central venous catheters be removed as soon as candidemia is detected in neonates? *Pediatrics* 2000; 106(5): 1-5.

28. Nucci M, Anaissie E. Should vascular catheters be removed from all patients with candidemia? An evidence-based review. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 591-599.
29. Edwards JE Jr, Bodey GP, Bowden RA, et al. International conference for the development of a consensus on the management and prevention of severe candidal infections. *Clin Infect Dis*. 1997; 25:43-59.
30. Loeffler J, Stevens DA. Anti-fungal drug resistance. *Clin Infect Dis* 2003; 36 (Suppl 1): S31-41.
31. Kontoyiannis DP, Lewis RE. Anti-fungal drug resistance of pathogenic fungi. *Lancet* 2002; 359: 1135-1144.
32. Fraser VJ, Jones M, Dunkel J, Storfer S, Medoff G, Dunagan WC. Candidemia in a tertiary care hospital: epidemiology, risk factors, and predictors of mortality. *Clin Infect Dis* 1992; 15(3): 414-421.
33. Lundstrom T, Sobel J. Nosocomial candiduria: a review. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1602-1607.
34. Krcmery S, Dubrava M, Krcmery Jr V. Fungal urinary tract infections in patients at risk. *International Journal of Anti-microbial Agents* 1999; 11: 289-291.
35. Uzun O, Ascioğlu S, Anaissie EJ, Rex JH. Risk factors and predictors of outcome in patients with cancer and breakthrough candidemia. *Clin Infect Dis* 2001; 32(12):1713-1717.

Table 1: Distribution of species and susceptibility profile of *Candida* spp (n =131) to fluconazole.

| Species | n (%) | MIC range* | MIC 50 | MIC 90 | Susceptible n (%) | DDS** n (%) | Resistant n (%) |
|-----------------------|-----------|------------|--------|--------|----------------------|----------------|--------------------|
| <i>C.albicans</i> | 59 (45) | 0.12-4.0 | 0.5 | 2.0 | 59 (100) | 0 | 0 |
| <i>C.parapsilosis</i> | 32 (24.4) | 0.12-4.0 | 0.5 | 2.0 | 32 (100) | 0 | 0 |
| <i>C.tropicalis</i> | 20 (15.3) | 0.25-4.0 | 1.0 | 4.0 | 20 (100) | 0 | 0 |
| <i>C.glabrata</i> | 9 (6.9) | 0.5-32 | 8.0 | 32.0 | 5 (55) | 4 (45) | 0 |
| <i>C.krusei</i> | 6 (4.6) | 32-64 | 64.0 | 64.0 | 0 | 2 (33) | 4 (67) |
| Others *** | 5 (3.8) | 0.125-8.0 | 0.125 | 8.0 | 5 (100) | 0 | 0 |

* µg/ml

**DDS: dose-dependent susceptibility

*** *C.pelliculosa* (2), *C.guilhermondii* (1), *C.lusitaniae* (1), *C.kefyr* (1)

Table 2: Location and underlying disease or condition of patients with candidemia

| CHARACTERISTICS | Patients (n=131) | % |
|---|------------------|-------------|
| Male/female | 77/54 | 58.8 / 41.2 |
| Age | 33,6 years* | |
| <u>Location</u> | | |
| Adult ICU** | 31 | 23.7 |
| Medical hospitalization | 53 | 40.4 |
| Oncology | 18 | 13.8 |
| Emergency | 2 | 1.5 |
| Neonatology | 5 | 3.8 |
| Pediatric ICU** | 21 | 16 |
| BMT*** | 1 | 0.8 |
| <u>Subjacent disease or condition</u> | | |
| Hematological diseases | 26 | 19.8 |
| Neoplasias (solid tumors) | 20 | 15.2 |
| Respiratory tract diseases | 14 | 10.7 |
| Gastrointestinal tract diseases | 14 | 10.7 |
| Premature babies | 11 | 8.4 |
| Endocrinopathy | 9 | 6.9 |
| AIDS | 8 | 6.0 |
| Transplantation of bone marrow and solid organs | 7 | 5.5 |
| Cardiovascular diseases | 6 | 4.5 |
| Neurological diseases | 5 | 3.8 |
| Infectious diseases | 4 | 3.1 |
| Genetic syndromes | 3 | 2.3 |
| Nephropathy | 3 | 2.3 |
| Rheumatological diseases | 1 | 0.8 |

* Range: 9 days-91 years ** Intensive Care Unit, *** Unit for bone marrow transplant

Table 3: Risk factors, clinical signs and symptoms in patients with candidemia

| RISK FACTORS | Patients n=131 | % |
|--|----------------|-------------|
| Previous use of antibiotics | 128 | 97.7 |
| Number of antibiotics (1-2) | 26 | 20.3 |
| Number of antibiotics (3-5) | 56 | 43.8 |
| Number of antibiotics (>5) | 46 | 35.9 |
| Central venous catheter | 94 | 71.8 |
| Corticosteroids | 87 | 66.4 |
| Mechanical ventilatory support | 64 | 48.9 |
| Neutropenia | 37 | 28.2 |
| Chemotherapy | 31 | 23.7 |
| Total parenteral nutrition | 33 | 25.2 |
| Abdominal surgery | 32 | 24.4 |
| Non-abdominal surgery | 18 | 13.7 |
| Other sites/materials with <i>Candida</i> spp | | |
| Urinary tract | 19 | 14.5 |
| Catheter tip | 17 | 13 |
| Oral cavity | 14 | 10.7 |
| Pulmonary (Biopsy) | 3 | 2.3 |
| Others (ascitis, fluid, feces, cerebrospinal fluid) | 5 | 3.8 |
| Clinical symptoms | | |
| Fever | 114 | 87 |
| Skin lesions | 17 | 13.1 |
| Hypotension | 13 | 8.4 |
| Hypothermia | 7 | 4.6 |
| Eye lesions | 6 | 3.9 |
| Death | 68 | 51.9 |

Prevalência, Perfil de Suscetibilidade ao Fluconazol e Fatores de Risco para Candidemia em
Hospital Terciário no Sul do Brasil

Valério Rodrigues Aquino*, Luciano W. Lunardi**, Luciano Zubaran Goldani † e Afonso

Luís Barth*

* Unidade de Microbiologia - Serviço de Patologia Clínica

**Faculdade de Medicina UFRGS

†Serviço de Medicina Interna

Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brasil

Autor para correspondência:

Valério R. Aquino,

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Unidade de Microbiologia - Serviço de Patologia Clínica

Rua Ramiro Barcelos 2350

Porto Alegre, RS, Brasil, 90.035-903

Phone: (+51) 21018452

E-mail: vaquino@hcpa.ufrgs.br

RESUMO

Infecções de corrente sanguínea por leveduras do gênero *Candida*, em especial *Candida albicans*, apresentam importante relevância clínica e epidemiológica por sua alta taxa de mortalidade. Além disso, tem aumentado a frequência das espécies não-*albicans*, as quais podem apresentar maior resistência ao tratamento com antifúngicos.

A fim de determinar a distribuição das espécies e o perfil de suscetibilidade frente ao fluconazol bem como descrever os fatores de risco de infecções nosocomiais por *Candida* spp no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (hospital geral de atenção terciária do sul do Brasil) foi realizado um estudo retrospectivo a partir da data da positividade de hemoculturas em pacientes internados. A distribuição das espécies em 131 episódios documentados onde a média de idade foi de 33,6 anos (9 dias a 91 anos) foi *Candida albicans* (45%), *Candida parapsilosis* (24,4%), *Candida tropicalis* (15,3%), *Candida glabrata* (6,9%), *Candida krusei* (4,6%) e 3,8% de outras espécies (*C.pelliculosa*, *C.guilhermondi*, *C.lusitaniae* e *C.kefyr*). A grande maioria das amostras (121 - 92,4%) foram sensíveis ao fluconazol, sendo que as amostras resistentes ou sensível dose-dependente incluíram apenas as espécies *C.krusei* e *C.glabrata*, as quais tendem a ser mais resistentes aos azólicos. Pacientes com doenças hematológicas (leucemia, linfoma) ou neoplasias (tumores sólidos) representaram 35,0% dos casos de candidemia. Foi detectado o uso prévio de antibióticos em 128 (97,7%) dos pacientes, sendo que 79,7% fizeram uso de três ou mais antibióticos antes do episódio de candidemia. Outros fatores de risco observados foram a presença de cateter venoso central em 94 (71,8 %) e realização e cirurgia abdominal em 32 (24,4%) pacientes.

De acordo com estes resultados, é possível concluir que *C. albicans* é a espécie mais prevalente embora espécies não-*albicans* representem a maioria dos isolados. No entanto, a resistência “in vitro” ao fluconazol foi detectada somente entre as espécies (*C. glabrata* e *C. krusei*) com tendência a resistência aos azólicos. Uso prévio de antibióticos e presença de cateter venoso central foram os principais fatores e rico entre os pacientes com candidemia em nosso estudo.

INTRODUÇÃO

Infecções de corrente sanguínea por leveduras do gênero *Candida* adquiriram nas últimas décadas um importante foco de atenção em diversas áreas da medicina pelo aumento de incidência, alta taxa de mortalidade geral (57-61%) e atribuída (38-49%) [1,2,3], e surgimento de espécies não-*albicans*, as quais podem apresentar perfil de suscetibilidade diferenciado, ou seja, diminuição de sensibilidade aos antifúngicos. *Candida* spp é responsável por 80% das infecções fúngicas nosocomiais e a quarta causa de infecção de corrente sanguínea em hospitais terciários dos Estados Unidos [4,5]. Na América do Sul tem-se observado um perfil diferente com relação à distribuição das espécies e a suscetibilidade aos antifúngicos [6,7].

Dentre os principais fatores de risco para candidemia destacam-se o uso de drogas imunossupressoras, antibioticoterapia de amplo espectro, cirurgia abdominal, nutrição parenteral, hemodiálise e uso de cateter venoso central [2, 8-14].

Na maioria das vezes, *Candida albicans* é o principal agente etiológico envolvido nessas infecções, porém, é crescente o número de relatos de espécies não-*albicans* como causadoras de infecções em pacientes com diferentes doenças de base como, tumores sólidos, infecção pelo HIV e doenças hematológicas. Nestes casos, os pacientes estão expostos a diversos fatores de risco associados ao desenvolvimento de infecção sistêmica por fungos, como uso de antibiótico e procedimentos diferenciados [10, 15-17].

Existe uma variação na epidemiologia das infecções sistêmicas por *Candida* de uma região para outra, e muitas vezes de um hospital para outro em uma mesma região [13,17]. Neste sentido, estudos locais são importantes para descrever as características

epidemiológicas, distribuição das espécies e perfil de suscetibilidade do gênero *Candida* aos antifúngicos, para auxiliar na conduta e tratamento dos pacientes hospitalizados.

O objetivo deste estudo foi determinar a prevalência de espécies de *Candida*, determinar o perfil de suscetibilidade “in vitro” ao fluconazol e descrever os fatores de risco para candidemia nos pacientes internados no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo para avaliar a prevalência das espécies de *Candida* em hemoculturas, fatores de risco associados a candidemia e o perfil de suscetibilidade “in vitro” frente ao fluconazol no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), hospital geral de atenção terciária com 723 leitos, no período de abril de 1998 a agosto de 2004.

Foi analisado somente o isolado de *Candida* sp obtido no primeiro episódio de candidemia de cada paciente. O cultivo foi conservado em ágar Sabouraud inclinado a temperatura ambiente até a realização do teste de suscetibilidade.

As amostras de sangue foram incubadas e monitoradas no sistema Bactec[®] 9240 (Becton Dickinson, Sparks, USA); quando positivas, os subcultivos eram semeados em ágar sangue para posterior identificação no sistema comercial mini-API com cartões ID-32C (Biomérieux SA, Marcy-l’Etoile, France).

Para a determinação quantitativa da suscetibilidade ao fluconazol foi utilizada a técnica de microdiluição em caldo segundo padronização do National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), documento M-27 A2 [18]. O fluconazol foi fornecido pelo fabricante (Pfizer Inc, New York, NY, USA), preparado na concentração de 5120 µg/ml e conservado a - 20° C. O meio de cultura utilizado para a técnica da microdiluição foi o RPMI-1640 com L-glutamina sem bicarbonato (Gibco Invitrogen Corporation, USA) e tamponado com ácido morfolinopropanosulfônico (MOPS) 0,165 M em pH 7,0.

A partir das amostras armazenadas, foram realizados dois subcultivos sucessivos em ágar Sabouraud antes da realização do teste de suscetibilidade.

A técnica de microdiluição foi realizada em placas com múltiplos poços, as quais foram incubadas a 35° C por 48 horas na presença de concentrações crescentes de fluconazol. A leitura foi realizada por análise visual comparando a turbidez do teste com a turbidez do controle positivo. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi estabelecida como a menor concentração do antifúngico capaz de inibir significativamente o crescimento da levedura (50%). A CIM foi interpretada conforme os pontos de corte sugeridos pelo documento M27-A2 do NCCLS, e reportadas como “Resistente” (CIM \geq 64 µg/L), “Sensível Dose-Dependente - SDD” (CIM entre 16 e 32 µg/L) e “Sensível” (CIM $8 \leq$ µg/L). O controle de qualidade foi realizado com as cepas de *Candida krusei* ATCC 6258 e *Candida parapsilosis* ATCC 22019.

Os prontuários foram avaliados retrospectivamente até 30 dias antes da data da positividade da hemocultura com o objetivo de observar a presença de fatores de risco. Os prontuários serviram também para determinar o desfecho, óbito ou resolução da candidemia.

O banco de dados foi criado com as seguintes variáveis: Idade; sexo; local de internação; doença de base; uso prévio de antibióticos, quimioterápicos, antifúngicos, corticosteróides, nutrição parenteral total; neutropenia; presença de cateter venoso central; cirurgia; ventilação mecânica; sintomas clínicos (febre, hipotermia, hipotensão, lesões oculares e lesões cutâneas); presença de *Candida* spp em outros sítios e desfecho clínico.

A análise estatística foi realizada no programa SPSS 9.0, através de análise descritiva para frequência relativa e prevalência.

A consulta aos prontuários dos pacientes foi realizada conforme termo de compromisso para utilização de dados junto ao Serviço de Arquivo Médico e Informações em Saúde (SAMIS). O protocolo deste estudo foi aprovado pelo comitê de ética institucional e os recursos para realização do projeto foram obtidos junto ao Fundo de Incentivo a Pesquisa e Eventos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE-HCPA).

RESULTADOS

Características dos pacientes

Foram incluídas 131 amostras de pacientes (77 masculinos, 54 femininos) de junho de 1998 a julho de 2004 com hemocultura positiva para *Candida* spp. A idade variou de nove dias a 91 anos, sendo a média de 33,6 anos e a mediana 28 anos. Um total de 21 (16%) pacientes apresentavam idade inferior a um ano no episódio da candidemia. Durante os episódios de candidemia os pacientes encontravam-se situados nas seguintes áreas: 53 pacientes em unidades de internação clínica (40,4%), 31 em unidade de tratamento intensivo (UTI) adulto (23,7%), 21 em unidade de tratamento intensivo (UTI) pediátrica (16%), 18 em unidade de oncologia (13,8%), 5 em unidade de neonatologia (3,8%), 2 no setor de emergência (1,5%) e 1 em unidade de transplantados de medula óssea (0,8%). Entre os episódios ocorridos, 10 (7,6%), foram identificados em um tempo menor de 48 horas de internação, representando infecção comunitária, segundo definições do CDC, em contraste com 121 (92,4%) casos de candidemia que foram consideradas infecções nosocomiais.

Distribuição das espécies e Perfil de suscetibilidade

Entre os isolados clínicos de *Candida* de pacientes com candidemia (Tabela 1), *Candida albicans* (45%) foi a espécie mais prevalente, seguida de *Candida parapsilosis* (24,4%) e *Candida tropicalis* (15,3%). A grande maioria das amostras (121 - 92,4%) de *Candida* foram sensíveis ao fluconazol (CIM \leq 8 μ g/ml), sendo que 2 μ g/ml foi a concentração capaz de inibir 90% das amostras de *C. albicans* e *C. parapsilosis* e 4 μ g/ml capaz de inibir 90% de *C. tropicalis*.

Cabe ressaltar que do total de 131 amostras, apenas 4 (3%) se mostraram resistentes (CIM \geq 64 mg/L) ao fluconazol, sendo que todas as 4 amostras eram da espécie *C. krusei*, que caracteristicamente apresenta resistência intrínseca a este antifúngico. Foram identificadas ainda 6 amostras (2 *C. krusei*, 4 *C. glabrata*) sensíveis dose-dependente ao fluconazol.

Doença de base ou condição

Foi possível agrupar, de forma genérica, os casos de candidemia em quatorze tipos de condição ou doença de base sendo que os pacientes com doenças hematológicas (leucemia, linfoma) e neoplasias (tumores sólidos) representaram 35,0% dos episódios de candidemia documentados (Tabela 2). Cabe salientar o isolamento de *Candida* spp no grupo de pacientes transplantados de medula óssea (5) e órgão sólido (2), que constituem um importante grupo de risco para infecções oportunistas.

Fatores de risco

Entre os 131 pacientes incluídos no estudo somente 3 não faziam uso prévio de antibióticos. Considerando os 28 pacientes com uso prévio de antibióticos, foi observado que 26 (20,3%) utilizavam 1 a 2 antimicrobianos, 56 (43,8%) estavam sob uso de 3 a 5 antimicrobianos e 46 (35,9%) utilizavam 5 ou mais antimicrobianos previamente ao episódio de candidemia (Tabela 3). Foi observado que aproximadamente 50% dos pacientes faziam uso de vancomicina (72,7%) e/ou cefepime (48%), embora os diversos grupos de antimicrobianos (penicilinas, aminoglicosídeos, carbapenêmicos, quinolonas e sulfa) tenham sido utilizados, mas em menor proporção.

Foi observado o episódio da candidemia em três pacientes sob uso de terapia antifúngica caracterizando candidemia de escape (breakthrough candidemia), definida como candidemia desenvolvida após 5 dias de terapia antifúngica. Os antifúngicos usados no tratamento destes pacientes foram: fluconazol (1 paciente), anfotericina B (1) e cetoconazol (1). A presença de cateter venoso central de curta ou longa permanência (intra-cath®, Hickman®, port-a-cath®, swan ganz, duplo-lúmen) foi observada em 94 (71,8 %) dos pacientes no nosso estudo.

Um total de 50 pacientes entre os 131 avaliados, realizaram cirurgia no período de 30 dias antes do episódio de candidemia sendo a cirurgia abdominal a mais comum (24,4%). (Tabela 3)

Manifestações clínicas e mortalidade

Além da detecção de *Candida* sp no sangue, foi observada a presença de *Candida* sp em urina (19 pacientes), cavidade oral (17 pacientes), ponta de cateter (14 pacientes) e biópsia de pulmão (3 pacientes). A febre foi o principal sintoma clínico observado nos pacientes (87%) e os sintomas mais específicos para candidemia como lesões cutâneas e lesões oculares foram descritos em apenas 17 (13,1%) e 6 (3,9%) pacientes, respectivamente (Tabela 3).

Sessenta e oito pacientes (51,9%) foram a óbito em período de até 30 dias após o episódio da candidemia. Essa taxa de mortalidade geral variou conforme a doença ou condição de base atingindo níveis de até 100% para os pacientes diabéticos em contraste com 28,6% para pacientes transplantados de medula óssea ou órgão sólido.

Considerando as diferentes espécies de *Candida* a taxa de mortalidade foi maior entre pacientes com *C. glabrata* (78%) e *C. tropicalis* (60%). Para as outras espécies (*C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*) a taxa de mortalidade foi em torno de 50%.

Discussão

A distribuição de espécies de *Candida* spp isoladas de corrente sanguínea pode apresentar variações segundo a área geográfica e população em que são realizados os estudos, provavelmente devido a variações na microbiota endógena dos pacientes [19]. Nosso estudo foi realizado em hospital terciário do sul do Brasil com diversas especialidades médicas, pacientes adultos e pediátricos expostos a diferentes procedimentos, com diferentes doenças de base ou condição clínica. Observou-se uma alta proporção (40,4%) de pacientes internados em unidades de internação clínica. No entanto, é possível considerar que muitos destes pacientes deveriam estar internados em centros de tratamento intensivo, devido a suas condições clínicas serem instáveis, mas, conforme sugere Colombo [10], estes pacientes não se encontram em unidades de tratamento intensivo provavelmente por falta de leitos disponíveis nos hospitais terciários brasileiros.

Com o aumento na incidência de infecções por *Candida* spp, há uma tendência para um aumento de espécies não-*albicans* [4]. Nos Estados Unidos, onde foram realizados vários estudos de prevalência e vigilância epidemiológica, a espécie *C. albicans* foi relatada com uma frequência em torno de 50% (38% a 79,4%) na maioria das instituições [19-21]. Dentre as espécies não-*albicans* as mais prevalentes foram *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*. Cabe destacar a prevalência de *C. glabrata* entre 10-21% nos estudos norte americanos visto que esta é uma espécie mais resistente aos azólicos. No entanto, a prevalência de *C. glabrata* parece ser menos frequente em hospitais da América do Sul, talvez pelo menor uso de profilaxia com azólicos [10,19,21,22]. Slavin em estudo realizado em 9 hospitais terciários na Austrália obteve padrões similares aos Estados Unidos com 56% de *C. albicans*, 16% *C. parapsilosis* e 5% *C. krusei*, *C. glabrata* e *C. tropicalis* [15]. No Canadá a

freqüência *C. albicans* é um pouco mais elevada, e varia de 53 a 74% em algumas séries [6,19]. Na Europa a incidência de *C. albicans* varia entre 49% e 59%, segundo os programas de vigilância epidemiológica EORTC e SENTRY, respectivamente [21,23], chegando a 70% em alguns hospitais [19].

Em nosso estudo a prevalência de *C. albicans* foi de 45%, sendo este índice equivalente aos encontrados em outros estudos realizados na América do Sul e especificamente no Brasil [6,7,16,24,25]. Colombo e cols em estudo epidemiológico em 6 hospitais terciários brasileiros detectou leve predomínio de espécies não-*albicans* (63%) [10]. A espécie não-*albicans* mais freqüente foi *C. parapsilosis* (24,4%), a qual apresenta conhecida habilidade em se desenvolver em soluções contendo glicose, grande capacidade de produzir biofilme e freqüentemente coloniza a pele e esta associada ao uso de cateter venoso central [9,17], sua ocorrência é maior em crianças e recém nascidos prematuros internados em unidades de terapia intensiva, porém com uma menor mortalidade comparada com *C. albicans* [26,27]. A explicação para este efeito pode estar relacionada a menor virulência da *C. parapsilosis* em modelos animais, a incapacidade da mesma de aderir e penetrar o endotélio das células humanas e a não resistência à fagocitose [27, 28]. Embora a *C. parapsilosis* esteja associada ao uso de cateter venoso central, existem controvérsias quanto à retirada ou não do cateter, alguns autores sugerem que deve ser realizada sempre que possível, pois está associado à falha no tratamento e maior mortalidade e outros preferem tentar a terapia antifúngica sem a remoção do cateter [27, 29].

O desenvolvimento de resistência em amostras de *Candida* sp é um fenômeno que tem ocorrido nos últimos anos, principalmente em pacientes que utilizaram fluconazol como profilaxia e em pacientes neutropênicos com câncer [30]. Este fenômeno é mais evidente nos

Estados Unidos onde esta conduta é adotada a mais tempo do que na América do Sul e especificamente no Brasil [10]. O uso de profilaxia com fluconazol e aumento de resistência foi evidenciado em estudos em pacientes HIV positivos, os quais por utilizarem este antifúngico como profilaxia da candidose oral apresentaram *Candida* sp de microbiota oral resistente ao fluconazol.

Nosso estudo confirmou a alta sensibilidade das espécies de *Candida* spp isoladas na América do Sul e no Brasil [7,16,24]. Pfaller e cols observaram alta sensibilidade em isolados de *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* (98,9 a 100%) ao fluconazol isoladas no Canadá e América do sul, demonstrando que as espécies de *Candida* do hemisfério sul são geralmente mais suscetíveis que as do hemisfério norte. [6]. No entanto, os fungos patogênicos possuem complexos mecanismos de resistência a drogas antifúngicas [30,31] e inevitavelmente este fenômeno deverá acontecer, pois cada vez mais os hospitais terciários brasileiros fazem uso de profilaxia antifúngica principalmente em pacientes hematológicos, transplantados de medula ou órgão sólidos [16].

Com relação às doenças de base associadas a candidemia neste estudo os achados foram equivalentes aos descritos em outros centros [8-10,13,19]. Embora pacientes com câncer serem mais freqüentemente acometidos, alguns grupos de pacientes sem doença degenerativa encontram-se altamente suscetíveis por estarem expostos a fatores de risco como procedimentos invasivos durante o período de internação [2,8,9,11,14,23].

Fraser e cols avaliando episódios de candidemia em hospital terciário observaram que 92% dos pacientes que desenvolveram candidemia recebiam antibióticos e 62% recebiam pelo menos quatro antimicrobianos. No nosso estudo 97,7% dos pacientes com candidemia

receberam antibioticoterapia prévia, sendo que 79,7% fizeram uso de três ou antimicrobianos antes do episódio[32].

Em estudo prospectivo, o “National Epidemiology of Mycoses Survey” (NEMIS), analisando dados de seis unidades de terapia intensiva nos Estados Unidos, encontrou em análise multivariada, como fatores de risco independentes: cirurgia abdominal e nutrição parenteral total [11]. Neste estudo, a cirurgia abdominal foi a intervenção cirúrgica mais freqüente tendo ocorrido em 32 dos 50 pacientes que sofreram cirurgia. Por outro lado, o uso de nutrição parenteral total foi observado em apenas 25,2% dos pacientes. Devido à variabilidade de doenças ou condição de base as quais não indicariam processos cirúrgicos e/ou nutrição parenteral, é possível que o percentual destes fatores de risco possa ter sido subestimado. Este estudo não teve como objetivo determinar os fatores de risco para candidemia, mas apenas descrever e avaliar estes fatores em relação aos pacientes do nosso hospital.

Cabe ressaltar que o significado clínico do isolamento de *Candida* sp obtido em urina (14,5% dos pacientes com candidemia em nossa série) é controverso. Esse achado freqüentemente se apresenta como um problema terapêutico, uma vez que a presença da levedura pode significar contaminação ou colonização [33], mas que não deve ser ignorado, principalmente em pacientes de alto risco [33,34]. Entendemos que este achado deve ser relatado para interpretação do clínico desde que os procedimentos de coleta e transporte da urina tenham sido comprovadamente adequados.

Os sintomas clínicos da candidemia são inespecíficos e na prática clínica se tem poucos relatos do envolvimento de diferentes órgãos durante a candidose sistêmica.

Observamos o envolvimento da pele em 13,1% dos pacientes e lesões oculares em 3,9%, sendo esta uma manifestação rara em pacientes neutropênicos [17].

A candidemia de escape (breakthrough candidemia), ocorre principalmente em pacientes internados em unidades de terapia intensiva, neutropênicos e/ou sob uso de corticosteróides. Os 3 pacientes que foram identificados tinham como doença de base leucemia, aids e um era pós-transplantado de medula óssea. Portanto, estes pacientes por fazerem uso de antifúngico como profilaxia, estariam a risco de desenvolver candidemia por espécies resistentes ou de escape (35).

Embora se tenha um predomínio de espécies sensíveis ao fluconazol, a mortalidade geral dos pacientes com candidemia em nosso estudo foi de 51,9%, mostrando que estudos epidemiológicos nas instituições são importantes para monitoramento destas infecções.

Referências

1. Wey SB, Mori M, Pfaller MA, Woolson RF, Wenzel RP. Hospital-acquired candidemia. The attributable mortality and excess of stay. *Arch Intern Med* 1988; 148:2642-2645.
2. Wenzel RP. Nosocomial candidemia: Risk factors and attributable mortality *Clin Infect Dis* 1995; 20:1531-4.
3. Gudlaugson O, Gillespie Sh, Lee K, Vande Berg J, Hu J Mecer Sh, herwaldt L, Pfaller MA, Diekema D. Atributable mortality of nosocomial candidemia. *Clin Infect Dis* 2003; 37:1172-7.
4. Beck-Sague C, Jarvis WR. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. National Nosocomial Infections Surveillance System. *J Infect Dis* 1993; 167(5):1247-1251.
5. Banerjee SN, Emori TG, Culver DH, Gaynes RP, Jarvis WR, Horan T et al. Secular trends in nosocomial primary bloodstream infections in the United States, 1980-1989. National Nosocomial Infections Surveillance System. *Am J Med* 1991; 91(3B):86S-89S.
6. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Messer SA, Houston A et al. Bloodstream infections due to *Candida* species: SENTRY antimicrobial surveillance program in North America and Latin America, 1997-1998. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44(3):747-751.
7. 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

8. Wey SB, Mori M, Pfaller MA, Woolson RF, Wenzel RP. Risk factors for Hospital-acquired candidemia. A matched case-control study. *Arch Intern Med* 1989; 149:2349-2353.
9. Pfaller MA. Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs, and modes of transmission. *Clin Infect Dis* 1996; 22 Suppl 2:S89-S94.
10. Colombo AL, Nucci M, Salomao R, Branchini ML, Richtmann R, Derossi A et al. High rate of non-albicans candidemia in Brazilian tertiary care hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; 34(4):281-286.
11. Blumberg HM, Jarvis WR, Soucie JM, Edwards JE, Patterson JE, Pfaller MA et al. Risk factors for candidal bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: the NEMIS prospective multicenter study. The National Epidemiology of Mycosis Survey. *Clin Infect Dis* 2001; 33(2):177-186.
12. Saiman L, Ludington E, Dawson JD, Patterson JE, Rangel-Frausto S, Wiblin RT et al. Risk factors for *Candida* species colonization of neonatal intensive care unit patients. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20(12):1119-1124.
13. Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis* 2003; 3(11):685-702.
14. Bota DP, Villalobos HR, Dimopoulos G, Melot C, Vicent JL. Potential risk factors for infection with *Candida* spp in critically ill patients. *Clin Microbiol Infect*; 2004; 10: 550-555.
15. Slavin MA. The epidemiology of candidaemia and mould infections in Australia. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49 Suppl 1:3-6.

16. Colombo AL, Nakagawa Z, Valdetaro F, Branchini MLM, Kussano JU Nucci M. Susceptibility profile of 200 bloodstream isolates of *Candida* spp. Collected from Brazilian tertiary care hospitals. *Med Mycol* .2003; 41: 235-239.
17. Colombo AL, Guimaraes T. Epidemiology of hematogenous infections due to *Candida* spp. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003; 36(5):599-607.
18. National Committee for Clinical laboratory standars – Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standars. NCCLS document M27-A2. Wayne, PA, 2002.
19. Sandven P. Epidemiology of candidemia. *Rev Iberoam Micol* 2000; 17:73-81.
20. Edmond MB, Wallace SE, McClish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis. *Clin Infect Dis* 1999; 29(2):239-244.
21. Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, Sader HS, Fluit AC, Hollis RJ et al. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial surveillance program. *J Clin Microbiol* 2001; 39(9):3254-3259.
22. Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN, Doern GV, Brandt ME et al. Trends in species distribution and susceptibility to fluconazole among blood stream isolates of *Candida* species in the United States. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; 33(4):217-222.

23. Viscoli C, Girmenia C, Marinus A, Collette L, Martino P, Vandercam B, Doyen C, Lebeau B, Spence D, Krcmery V, De Pauw B, Meunier F. Candidemia in cancer patients: a prospective, multicenter surveillance study by the Invasive Fungal Infection Group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Clin Infect Dis* 1999; 28: 1071-1079.
24. Antunes AGV, Pasqualotto AC, Diaz MC, D'Azevedo PA, Severo LC. Candidemia in a Brazilian tertiary care hospital: Species distribution and suseptibility patterns. *Rev. Inst. Med. Trop* 2004; 46(5):239-241
25. Goldani LZ, Mario PS. *Candida tropicalis* fungemia in a tertiary care hospital. *J Infect* 2003; 46(3):155-160.
26. Levy I, Rubin LG, Vasishtha S, Tucci V, Sood SK. Emergence of *Candida parapsilosis* as the predominant species causing candidemia in children. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 1086-1088.
27. Karlowicz MG, Hashimoto LN, Kelly RE Jr, Buescher ES. Should central venous catheters be removed as soon as candidemia is detected in neonates? *Pediatrics* 2000; 106(5): 1-5.
28. Nucci M, Anaissie E. Should vascular catheters be removed from all patients with candidemia? An evidence-based review. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 591-599.
29. Edwards JE Jr, Bodey GP, Bowden RA, et al. International conference for the development of a concensus on the management and prevention of severe candidal infections. *Clin Infect Dis*. 1997; 25:43-59.

30. Loeffler J, Stevens DA. Antifungal drug resistance. *Clin Infect Dis* 2003; 36 (Suppl 1): S31-41.
31. Kontoyiannis DP, Lewis RE. Antifungal drug resistance of pathogenic fungi. *Lancet* 2002; 359: 1135-1144.
32. Fraser VJ, Jones M, Dunkel J, Storfer S, Medoff G, Dunagan WC. Candidemia in a tertiary care hospital: epidemiology, risk factors, and predictors of mortality. *Clin Infect Dis* 1992; 15(3): 414-421.
33. Lundstrom T, Sobel J. Nosocomial candiduria: a review. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1602-1607.
34. Krcmery S, Dubrava M, Krcmery Jr V. Fungal urinary tract infections in patients at risk. *International Journal of Antimicrobial Agents* 1999; 11: 289-291.
35. Uzun O, Ascioğlu S, Anaissie EJ, Rex JH. Risk factors and predictors of outcome in patients with cancer and breakthrough candidemia. *Clin Infect Dis* 2001; 32(12):1713-1717.

Tabela 1: Distribuição das espécies e perfil de suscetibilidade de *Candida* spp (n =131) ao fluconazol em candidemia no HCPA.

| Espécie | n (%) | Faixa de MIC* | CIM 50 | CIM 90 | Sensível | SDD** | Resistente |
|-----------------------|-----------|---------------|--------|--------|----------|--------|------------|
| | | | | | n (%) | n (%) | n (%) |
| <i>C.albicans</i> | 59 (45) | 0,12-4,0 | 0,5 | 2,0 | 59 (100) | 0 | 0 |
| <i>C.parapsilosis</i> | 32 (24,4) | 0,12-4,0 | 0,5 | 2,0 | 32 (100) | 0 | 0 |
| <i>C.tropicalis</i> | 20 (15,3) | 0,25-4,0 | 1,0 | 4,0 | 20 (100) | 0 | 0 |
| <i>C.glabrata</i> | 9 (6,9) | 0,5-32 | 8,0 | 32,0 | 5 (55) | 4 (45) | 0 |
| <i>C.krusei</i> | 6 (4,6) | 32-64 | 64,0 | 64,0 | 0 | 2 (33) | 4 (67) |
| Outras *** | 5 (3,8) | 0,125-8,0 | 0,125 | 8,0 | 5 (100) | 0 | 0 |

* µg/ml

**SDD: Sensível dose-dependente

*** *C.pelliculosa* (2), *C.guilliermondii* (1), *C.lusitaniae* (1), *C.kefyr* (1)

Tabela 2: Local de internação e doença ou condição de base dos pacientes com candidemia.

| CARACTERÍSTICAS | Pacientes (n=131) | % |
|---|-------------------|-------------|
| Masculino/feminino | 77/54 | 58,8 / 41,2 |
| Idade | 33,6 anos* | |
| <u>Local de internação</u> | | |
| UTI adulto** | 31 | 23,7 |
| Internação Clínica | 53 | 40,4 |
| Oncologia | 18 | 13,8 |
| Emergência | 2 | 1,5 |
| Neonatologia | 5 | 3,8 |
| UTI pediátrica** | 21 | 16 |
| TMO*** | 1 | 0,8 |
| <u>Doença base ou condição</u> | | |
| Doenças hematológicas | 26 | 19,8 |
| Neoplasias (tumores sólidos) | 20 | 15,2 |
| Doenças do trato respiratório | 14 | 10,7 |
| Doenças do trato gastrointestinal | 14 | 10,7 |
| Prematuros | 11 | 8,4 |
| Endocrinopatias | 9 | 6,9 |
| AIDS | 8 | 6,0 |
| Transplantados de medula óssea e órgãos sólidos | 7 | 5,5 |
| Doenças cardiovasculares | 6 | 4,5 |
| Doenças neurológicas | 5 | 3,8 |
| Doenças infecciosas | 4 | 3,1 |
| Síndromes genéticas | 3 | 2,3 |
| Nefropatias | 3 | 2,3 |
| Doenças reumatológicas | 1 | 0,8 |

* Faixa: 9 dias-91 anos ** Unidade de Tratamento Intensivo, *** Unidade de Transplantados de Medula Óssea

Tabela 3: Fatores de risco, sinais e sintomas clínicos dos pacientes com candidemia.

| FATORES DE RISCO | Pacientes n=131 | % |
|---|-----------------|-------------|
| Uso prévio de antibióticos | 128 | 97,7 |
| Número de antibióticos (1-2) | 26 | 20,3 |
| Número de antibióticos (3-5) | 56 | 43,8 |
| Número de antibióticos (>5) | 46 | 35,9 |
| Cateter venoso central | 94 | 71,8 |
| Corticosteróides | 87 | 66,4 |
| Ventilação mecânica | 64 | 48,9 |
| Neutropenia | 37 | 28,2 |
| Quimioterapia | 31 | 23,7 |
| Nutrição parenteral total | 33 | 25,2 |
| Cirurgia abdominal | 32 | 24,4 |
| Cirurgia não abdominal | 18 | 13,7 |
| Outros sítios/materiais com <i>Candida spp</i> | | |
| Via urinária | 19 | 14,5 |
| Ponta de cateter | 17 | 13 |
| Cavidade oral | 14 | 10,7 |
| Pulmonar (Biópsia) | 3 | 2,3 |
| Outros (líquido de ascite, fezes, líquido) | 5 | 3,8 |
| Sintomas clínicos | | |
| Febre | 114 | 87 |
| Lesões cutâneas | 17 | 13,1 |
| Hipotensão | 13 | 8,4 |
| Hipotermia | 7 | 4,6 |
| Lesões oculares | 6 | 3,9 |
| Óbito | 68 | 51,9 |

ANEXO 1



HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação
COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE

RESOLUÇÃO

A Comissão Científica e a Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde, que é reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS como Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA e pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB0000921) analisaram o projeto:

Projeto: 02-346

Pesquisadores:

AFONSO LUIS BARTH

LUCIANO ZUBARAN GOLPANI

VALERIO RODRIGUES AQUINO

Título: PERFIL DE SENSIBILIDADE AO FLUCONAZOL, TIPAGEM MOLECULAR E FATORES DE RISCO DE CANDIDEMIA NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE

Este projeto foi Aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos, de acordo com as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde. Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada ao CEP/HCPA.

Porto Alegre, 27 de setembro de 2002.



Profa. Themis Reverbil da Silveira
Coordenadora do GPPG e CEP-HCPA

ANEXO 2**Protocolo de candidemia**

Paciente:.....Registro:.....

Solicitação:..... Idade:..... sexo:.....

Local de internação:.....

Doença de base:.....

Antibióticos: () Sim () Não

Quais:.....+.....//.....+.....

Tempo de uso: 1ºesquema:..... 2ºesquema:.....

Quimioterápicos: () Sim () Não

Quais?.....

Antifúngicos: () Sim () Não

Quais?.....

Tempo de uso:.....

Corticóides: () Sim () Não

Qual? dose.....

Tempo de uso:.....

NPT: () Sim () Não tempo de uso:.....

Neutropenia: () Sim () Não. Valor:.....tempo:.....

Cateter venoso central: () Sim () Não tempo de permanência:.....

Sofreu cirurgia: () Sim () Não tipo:.....

Ventilação mecânica: () Sim () Não

Data da hospitalização.....

Data da positivação da hemocultura:.....

Outros sítios com *Candida* sp:.....

Sintomas clínicos: () febre () hipotermia () hipotensão () lesões oculares
() Lesões cutâneas () Outros:.....

Paciente foi a óbito: () Sim () Não - Data do óbito:.....

Resultado da MIC: fluconazol:.....