

**GLÁUCIA MOREIRA ESPÍNDOLA LIMA**

**ANÁLISE DOS CASOS DE CANDIDÚRIA EM ADULTOS INTERNADOS NO  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO - UFMS, CAMPO GRANDE/MS**

**CAMPO GRANDE  
2014**

**GLÁUCIA MOREIRA ESPÍNDOLA LIMA**

**ANÁLISE DOS CASOS DE CANDIDÚRIA EM ADULTOS INTERNADOS NO  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO - UFMS, CAMPO GRANDE/MS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região do Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Linha de pesquisa: Doenças emergentes, reemergentes e negligenciadas na Região Centro-Oeste: aspectos socioculturais, ecoambientais, epidemiológicos e clínicos.  
Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Anamaria Mello Miranda Paniago.

**CAMPO GRANDE  
2014**

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus queridos **pais, marido, filhos e irmãos.**

Meus **pais, Iolete e Aldinar**, que sempre incentivaram o meu desenvolvimento pessoal e profissional desde a infância e acreditaram em mim em todos os momentos, com muita dedicação, amor e carinho.

Meu **marido, José Janildo**, pelo apoio e paciência nos dias difíceis de extrema dedicação, relevando meus momentos de preocupação com a pesquisa e conciliando seu trabalho com a dedicação de pai.

Meus **filhos, José Eduardo e Maria Eduarda**, pela compreensão durante os momentos de dedicação a este trabalho, entendendo minha ausência e, muitas vezes, minha falta de tempo. Vocês são minha alegria, felicidade e meu orgulho.

Meus **irmãos, Gladys e Fernando**, pela motivação, companheirismo em todas as horas, carinho e amor compartilhados. Sempre fomos e seremos amigos para sempre.

## AGRADECIMENTOS

- À **Deus** que esteve ao meu lado nas minhas vitórias e derrotas. Obrigada por tudo, obrigada pela saúde a mim concedida e pela graça de estar viva.

- À **Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)**, na figura da V. Mag.<sup>a</sup> Reitora Profa. Dra. Célia M<sup>a</sup>. S. Corrêa, pelo privilégio da realização deste Mestrado;

- Ao **Programa de Pós-graduação Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste**, através de seus professores e funcionários, que possibilitaram a realização de um sonho, a concretização desta pesquisa;

- Agradecimento especial à minha querida orientadora **Profa Dra. Anamaria Mello Miranda Paniago** pela oportunidade, confiança e apoio. Seu empenho para a realização deste trabalho, sua nobreza, gentileza, simpatia e simplicidade na maneira de ensinar e no seu jeito de ser. Profissional dedicada, ser humano admirável pela extrema bondade no coração. Seus ensinamentos foram essenciais e despertaram em mim a vontade de ser uma pesquisadora;

- À banca de qualificação, **Dr. Rondon Tosta Ramalho, Dra. Marta Driemeier**, pelas correções e sugestões valiosas bem aproveitadas e aceitas;

- À banca de defesa, **Prof. Dr. Rinaldo Poncio Mendes – UNESP – SP, Prof. Dr. Julio Cesar Leite da Silva – UFMS – MS e Profa. Dra. Ana Paula Costa Marques – UFMS – MS.**

- À minha amiga e colega de trabalho **Maína de Oliveira Nunes**, pela cumplicidade, ensinamentos e esclarecimentos. Admirável pela extrema paciência, dedicação e pelo prazer em compartilhar seus conhecimentos. À chefe do Laboratório de Análises Clínicas NHU/UFMS, **Luciana Iglesias** e à **Profa Dra. Marilene Rodrigues Chang**, pelo apoio durante a realização desta pesquisa.

- Aos amigos e colegas, **Joslaine Oliveira Nunes, Débora de Souza Olartechea de Alencar, Rosianne Assis de Sousa Tsujisaki, Cleison Ledesma Taira, Danilo Yamamoto Thomaz, Dijane Cristina de Barros Rosa Costa, Kelly Fillipin, Ione Maria Lobo dos Santos, Priscila Fanaia, Mirian Santos Costa, e todos os colegas e amigos do laboratório**, que de alguma forma, contribuíram, direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

*“O saber a gente aprende com os mestres e com os livros. A sabedoria, se aprende com a vida e com os humildes”  
(Cora Coralina)*

## RESUMO

**LIMA GME. Análise dos casos de candidúria em adultos internados no Hospital Universitário – UFMS, Campo Grande / MS.** Campo Grande; 2014. [Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul /UFMS].

Leveduras do gênero *Candida* são responsáveis por cerca de 80% das infecções fúngicas no ambiente hospitalar, acometendo pele, mucosas, sítio cirúrgico, trato pulmonar, urinário e corrente sanguínea. Candidúria é o crescimento de *Candida spp* em cultura de urina, comum entre pacientes expostos a fatores de riscos, particularmente internados em Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Pode indicar contaminação, colonização, infecção urinária localizada e disseminada ou sistêmica. O objetivo do presente estudo foi analisar os casos de candidúria em adultos: identificar as espécies de *Candida spp* em isolados de urocultura, determinar o perfil de susceptibilidade in vitro aos principais antifúngicos da candidúria e relacionar espécies de *Candida* com variáveis demográficas, setor de internação e resultado da urianálise de pacientes internados no Núcleo do Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian – UFMS - Campo Grande - MS, entre maio de 2011 e abril de 2012. Os dados dos pacientes foram obtidos dos formulários de solicitação de exames e banco de dados do Laboratório de Micologia Médica - NHU-UFMS. A partir das uroculturas positivas, foram realizadas a identificação das espécies e perfil de susceptibilidade aos antifúngicos através do aparelho automatizado Vitek®2, confirmados por cromoágar, auxanograma, ágar fubá e microdiluição padrão pelo CLSI-M27-A3 e Suplemento 4. Foram registrados 106 casos de candidúria, destacando Unidade de Terapia Intensiva adulto (n=33/ 31,1%), Unidade de Pronto Atendimento Médico (n=33/ 31,1%), Clínica Médica (n=20/ 19,0%) e demais setores (n=20/19,0%). A maioria dos pacientes era do sexo feminino (n=58/ 54,7%), e a idade variou de 19 a 93 anos. O agente mais frequente nas candidúrias estudadas foi a *C.albicans* (39,6%). Houve predomínio *Candida* não *albicans* (CNA) (60,4%) considerando a soma das espécies *C. tropicalis* 31,1%, *C. glabrata* 17,0%, *C. krusei* 4,7%, Complexo *C. parapsilosis* 3,8%, *C. kefyr* 1.9%, *C. lusitaniae* 0,9% e *C. guilliermondii* 0,9%. As espécies CNA foram significativamente mais comuns em idosos. *C.glabrata* foi mais frequente em pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva. Todas as espécies apresentaram alto grau de sensibilidade frente a anfotericina B e voriconazol e ausência de sensibilidade ao fluconazol da *C.krusei*, que é intrinsecamente resistente. Dezesete amostras de *C. glabrata* foram sensíveis dose dependente ao fluconazol (SDD=94,4%). Ressalta-se a ocorrência de um caso de resistência ao fluconazol por *C.glabrata*. O presente estudo deverá auxiliar no direcionamento da terapêutica dos pacientes do hospital estudado e ajudará a compor o panorama nacional e mundial das espécies de *Candida spp* envolvidas nas candidúrias de pacientes internados, bem como de seu perfil de resistência.

**Palavras-chave:** Candidúria; *Candida spp*; susceptibilidade antifúngica.

## ABSTRACT

**LIMA GME. Analysis of cases of candiduria in adults admitted at University Hospital – UFMS, Campo Grande / MS.** Campo Grande; 2014. [Dissertation – Post Graduate Program in Health and Development in the Midwest –Federal University of Mato Grosso do Sul /UFMS].

*Candida* species are responsible for about 80 % of fungal infections in the hospital environment, affecting the skin, mucous membranes, surgical site, pulmonary tract, urinary tract and the bloodstream. Candiduria is the growth of *Candida* spp in urine culture, common among patients exposed to risk factors, particularly the ones in the Intensive Care Unit (ICU). It may indicate contamination, colonization, localized and widespread urinary infection or systemic one. The purpose of this study was to analyze cases of candiduria in adults: to identify the species of *Candida* spp isolates in urine culture, determine the in vitro susceptibility profile to the main antifungals of candiduria and relate the *Candida* species to demographic variables, admission sector and the results of urianalysis from patients at the University Hospital Center of Maria Aparecida Pedrossian - UFMS, Campo Grande - MS, from May 2011 to April 2012. The patient data were obtained from the laboratory tests results and database of the Medical Mycology - NHU - UFMS. From the positive urine cultures, the identification of species and antifungal susceptibility profile were performed through automated Vitek® 2, confirmed by chromoágar, auxanogram, microculture in cornmeal agar and micro dilution standard by CLSI M27 - A3 and Supplement 4. A total of 106 candiduria's cases were reported, highlighting the adult Intensive Care Unit (n=33/31.1%), Emergency Care Unit (n=33/31.1%), Medical clinic (n=20/19.0%) and other sectors (n=20/19.0%). Most patients were female (n=58/54.7%), and age ranged from 19 to 93 years. The most common agent found was *C. albicans* (39.6%). There was predominated *Candida non albicans* (CNA=60.4%) considering the sum of the species: *C. tropicalis* 31.1 %, *C. glabrata* 17.0%, *C. krusei* 4,7%, *C. parapsilosis* complex 3.8 %, *C. kefyr* 1.9%, *C. lusitaniae* 0.9% and *C. guilliermondii* 0.9 % . The CNA species were significantly more common in the elderly; *C.glabrata* was more frequent in patients hospitalized in the Intensive Care Unit (ICU). All species showed a high degree of sensitivity compared to amphotericin B and voriconazole and lack of sensitivity to fluconazole was observed in *C.krusei*, which is intrinsically resistant. Seventeen samples of *C. glabrata* were sensitive dose dependent (SDD=94.4%) and the occurrence of a case of resistance to fluconazole by *C. glabrata*. This study will help in the targeting of the patient therapeutic of the hospital studied and will help to compose the national and global overview of *Candida* spp involved in the candiduria of the inpatients as well as its resistance profile .

**Key-words:** Candiduria; *Candida* spp; antifungal susceptibility.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Valores de referência para testes de Susceptibilidade In Vitro de <i>Candida spp</i> e respectivos valores de Concentração Inibitória Mínima (MIC) referente aos Azoles após 24 horas de incubação (CLSI - M27- A3 - Suplemento 4 – 2012) .....	45
Tabela 2 -	Número e percentual de pacientes com candidúria segundo características demográficas e setor de internação. Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Maio de 2011 a abril de 2012 (n=106) .....	47
Tabela 3 -	Número e percentual de pacientes com candidúria segundo número de leucócitos/ campo, contagem de colônias e visualização de levedura na sedimentoscopia. Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Maio de 2011 a abril de 2012 (n=106) .....	48
Tabela 4 -	Frequência das espécies de <i>Candida</i> isoladas de urina de pacientes adultos internados. Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Maio de 2011 a abril de 2012 (n=106) .....	48
Tabela 5 -	Casos de candidúria em adultos internados distribuídos por espécie de <i>Candida</i> e por faixa etária. Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Maio de 2011 a abril de 2012 (n=106) .....	50
Tabela 6 -	Casos de candidúria por <i>Candida glabrata</i> em adultos internados segundo as variáveis estudadas. Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Maio 2011 a Abril 2012 (n=106).....	50
Tabela 7 -	Susceptibilidade de espécies de <i>Candida spp</i> aos antifúngicos (CLSI-M27-A3-S4) de isolados de urina de adultos internados. Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Maio 2011 a Abril 2012 (n=106).....	51
Tabela 8 -	Casos de candidúria em adultos internados segundo as variáveis estudadas e a sensibilidade ao Fluconazol. Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Maio 2011 a Abril 2012 (n=106).....	52



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma do preparo das diluições do fluconazol segundo documento M27-A3-CLSI-2008.....	43
Figura 2 - Desenho esquemático da distribuição dos antifúngicos nas microplacas (NUNES, 2009).....	44
Figura 3 - Desenho esquemático do preparo do inóculo de leveduras para o teste de microdiluição em caldo, segundo documento M27-A3, CLSI,2008 (NUNES,2009).....	45
Figura 4 - Método de RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), para diferenciação das espécies do complexo <i>C. parapsilosis</i> .....	49

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AnB :	Anfotericina B
ASD:	Ágar Sabouraud Dextrose
ATCC:	American Type Culture Collection
BHI:	Brain Infusion Heart
CCI:	Clínica Cirúrgica I
CCIH:	Comissão de controle de infecção hospitalar
CLSI:	Clinical and Laboratory Standards Institute
CA:	<i>Candida albicans</i>
CNA:	<i>Candida não-albicans</i>
CTI:	Centro de Terapia Intensiva
Fz:	Fluconazol
HU-UFMS:	Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
ICS:	Infecção da corrente sanguínea
IRA:	Insuficiência renal aguda
IRC:	Insuficiência renal crônica
ITU:	Infecção do trato urinário
LACEN–MS:	Laboratório Central de Mato Grosso do Sul
MIC=CIM:	<i>Minimum Inhibitory Concentration</i> = Concentração Inibitória Mínima
MOPS:	Ácido 3-[N-morfolino] propanosulfônico
NCCLS:	National Committee for Clinical Laboratory Standards
NHU:	Núcleo do Hospital Universitário
R:	Resistente
RPMI:	Roswell Park Memorial Institute
S:	Sensível
SDD:	Sensibilidade dependente da dose
SUS:	Sistema Único de Saúde
TGI:	Trato gastrointestinal
TU:	Trato urinário
UFC:	Unidade formadora de colônia
UTI:	Unidade de Terapia Intens

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>14</b>
<b>2.1 Histórico</b> .....	<b>14</b>
<b>2.2 Características gerais e prevalência das espécies de <i>Candida</i></b> .....	<b>16</b>
<b>2.3 Fatores predisponentes para a Candidúria</b> .....	<b>22</b>
<b>2.4 Mecanismos de infecção por <i>Candida</i></b> .....	<b>23</b>
<b>2.5 Candidemia e Candidúria</b> .....	<b>24</b>
<b>2.6 Diagnóstico da Candidúria</b> .....	<b>27</b>
<b>2.7 Antifúngicos</b> .....	<b>29</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>32</b>
<b>3.1 Objetivo geral</b> .....	<b>32</b>
<b>3.2 Objetivos específicos</b> .....	<b>32</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODO</b> .....	<b>33</b>
<b>4.1 Tipo, local e período de estudo</b> .....	<b>33</b>
<b>4.2 Sujeitos do Estudo</b> .....	<b>33</b>
<b>4.3 Coleta de dados</b> .....	<b>34</b>
4.3.1 Dados demográficos e setor de internação .....	34
4.3.2 Sedimentoscopia e contagem de colônias .....	34
<b>4.4 Identificação laboratorial das espécies de <i>Candida</i></b> .....	<b>35</b>
4.4.1 – Prova do Tubo Germinativo.....	35
4.4.2 Microcultivo em ágar fubá .....	36
4.4.3 Auxanograma .....	36
4.4.4 Metodologia RAPD-PCR – Biologia Molecular .....	37
<b>4.5 Testes de susceptibilidade <i>in vitro</i> a drogas antifúngicas</b> .....	<b>37</b>
4.5.1 Vitek <sup>®</sup> 2.....	37
4.5.2 Microdiluição em Caldo .....	39
4.5.2.1 - Preparo da solução estoque (solução mãe) de fluconazol.....	39
4.5.2.2 - Meio de Cultura .....	40
4.5.2.3 - Preparo das placas com fluconazol (Fz) .....	40
4.5.2.4 - Preparo do inóculo das leveduras.....	41
4.5.2.5 - Execução do antifungigrama.....	41

4.5.2.6 - Leitura e interpretação dos resultados .....	42
<b>4.6 Processamento de dados e análise estatística dos resultados .....</b>	<b>46</b>
<b>4.7 Considerações éticas .....</b>	<b>46</b>
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>47</b>
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>53</b>
<b>7 CONCLUSÕES .....</b>	<b>59</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>60</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>73</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os casos de infecções fúngicas hospitalares aumentam anualmente no mundo todo e chamam a atenção da área da saúde por sua correlação com o avanço da morbidade e mortalidade de pacientes. Ocorre principalmente em idosos, por imunossupressão ou exposição a tratamentos mais invasivos e permanência hospitalar extensiva, quadros comuns em internações em Unidades de Tratamento Intensivo (UTI) (PAPPAS *et al.*, 2009). As leveduras do gênero *Candida* são agentes de cerca de 80% das infecções fúngicas hospitalares, no trato urinário, corrente sanguínea, sítios cirúrgicos e pulmões (MORACE e BORGUI, 2010).

A candidúria, termo que designa o crescimento de *Candida ssp* em culturas de urina, apresenta dificuldade de interpretação clínica, podendo indicar contaminação no material biológico na coleta, colonização do trato urinário, doença invasiva localizada ou disseminada por *Candida* ou ainda, a formação de bola fúngica no trato urinário (SOBEL *et al.*, 2011). Na maioria dos casos, candidúria representa a colonização e não a Infecção do Trato Urinário (ITU). Na colonização há a presença da levedura, em geral nos cateteres de drenagem, sem que por isso ocorram outros sinais sugestivos ou sintomas de infecção. No entanto a colonização é o primeiro passo para que a infecção ocorra, podendo daí a doença progredir dependendo da interação fungo e hospedeiro (CHENOWETH *et al.*, 2014).

Colonizações de vários sítios devem ser interpretadas como fator de risco para a infecção e não como a doença em si. O risco de adquirir candidíase invasiva aparenta ter correlação com a extensão da colonização ao longo do tempo. A colonização disseminada em múltiplos sítios já foi correlacionada positivamente com um maior índice de mortalidade nas UTI, o que justifica acompanhamento rigoroso (CHARLES *et al.*, 2005; COLOMBO e GUIMARÃES, 2003; PITTET *et al.*, 1994).

Em casos de infecções graves e sistêmicas, é possível afirmar que a sobrevivência do paciente e o controle de seu quadro dependem de uma intervenção rápida na identificação do patógeno e de terapia antifúngica específica e eficiente. Quanto mais rápidas e precisas forem essas identificações, mais precoce será a intervenção terapêutica e melhores as chances de recuperação do paciente (KAUFFMAN, 2014; MÍMICA *et al.*, 2009).

O Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian, presta amplo atendimento médico-hospitalar multidisciplinar a pacientes de todo o estado do Mato Grosso do Sul, nas mais diversas especialidades. Publicações sobre *Candida* nesse hospital revelam sua importância como agente de infecção hospitalar na corrente sanguínea (BONFIETTI *et al.*, 2012; GAÚNA *et al.*, 2013).

O estudo da identificação das espécies e da susceptibilidade aos antifúngicos de *Candida* obtida de urocultura, independente do significado clínico: se colonização, infecção do trato urinário (ITU) ou infecção sistêmica, fornece importantes informações sobre este agente de infecção hospitalar. Especialmente para compor o panorama epidemiológico nacional, subsidiar as ações locais da Comissão para Controle da Infecção Hospitalar (CCIH) do hospital e colaborar com o manejo clínico-terapêutico das candidúrias.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Histórico

Hipócrates (460 a 337 a.C.) e Galeno (200 a 130 a.C.) já haviam reportado lesões orais esbranquiçadas em suas observações. A *Candida* foi relacionada a registros de lesões orais superficiais por Lanfenbeck no ano de 1839 e por Berg, no ano de 1846, mas, a definição da micose oral foi elaborada por David Gruby no ano de 1842, o que permitiu a classificação taxonômica da levedura, que recebeu mais de 100 (cem) designações ao longo dos anos (HURLEY, 1964).

Em 1853 foi dada a primeira denominação do micro-organismo como *Oidium albicans*, por Charles Robin e no ano de 1861, Zenker descreveu o primeiro caso de espectro cerebral que provavelmente teve como foco de origem as leveduras presentes em lesões esofágicas orais disseminadas por via hematogênica. No ano de 1890, Zopf fez a reclassificação do micro-organismo, que passou a ser conhecido por *Monilia albicans*. A levedura somente recebeu a classificação como gênero *Candida*, junto da identificação da espécie *C. albicans* no ano de 1923, pelos trabalhos investigativos de Berkhout. Durante o ano de 1940 foi descrito o primeiro caso de isolamento da levedura em corrente sanguínea (HURLEY e WINNER, 1964; SIDRIM, 1999).

Até a metade do século XX, as infecções invasivas por leveduras não eram muito conhecidas, mas, a partir desse marco de identificação, as infecções por leveduras *C. albicans* e *Candida* não *albicans* (CNA) se tornaram cada vez mais significativas no ambiente hospitalar. O aumento dos casos de identificação da levedura nos hospitais mostra correlação com a evolução do atendimento e dos tratamentos médicos, que criaram um terreno propício para a mudança de uma levedura de perfil comensal para o de um agente infeccioso (COLODNER *et al.*, 2007).

Muitos dos procedimentos modernos rompem a proteção natural do organismo, os tratamentos englobam antibióticos sistêmicos de largo espectro e a extensão da vida em pacientes críticos e vulneráveis a micro-organismos oportunistas se tornou comum em ambiente hospitalar, proporcionada pela tecnologia e utilizada

largamente. Um benefício inquestionável aos pacientes que acarretou algumas modificações consideráveis nos perfis dos agentes hospitalares, como o caso da *Candida* (COLODNER *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2001).

Reforça essa correlação o fato de que, até a década de 1970, as infecções por leveduras em ambiente hospitalar eram raras e as espécies de *Candida* não tinham papel protagonista nos quadros sistêmicos nesse espaço. Uma situação quase sempre acompanhada de uma alta taxa de mortalidade. Já na década de 1980, as infecções fúngicas ganharam destaque entre os casos hospitalares, principalmente atingindo pacientes imuno-comprometidos ou com longo tempo de internação em decorrência de sérias doenças de base. O percentual de infecções do trato urinário devido a espécies de *Candida* em hospitais aumentou de 22% no período de 1986-1989 para 40% em média no período de 1992-1997, nos Estados Unidos da América (EGGIMANN *et al.*, 2003; RICHARDS *et al.*, 2000).

No final da década de 1980, estimava-se que cerca de 26,5% das infecções do trato urinário decorrentes do uso de sonda vesical em ambiente hospitalar eram causadas por leveduras do gênero *Candida* (PLATT *et al.*, 1986). Já na década de 1990, estudo constatou que 90% das ITU por espécies de *Candida* foram decorrentes do uso de sonda vesical, em um centro terciário de grande porte dos Estados Unidos da América (BERROUANE *et al.*, 1999). Até essa década, a *C. albicans* respondia por cerca de 60% a 80% dos casos. Após esse período houve uma inversão e as espécies CNA assumiram o topo das causas, especialmente *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* (KAUFFMAN *et al.*, 2000; KAUFFMAN, 2005; LUNDSTRON e SOBEL, 2001).

Nos Estados Unidos da América, a partir do ano 2000, a frequência de candidúria foi estimada, em média, 25.000 casos por ano. Aproximadamente, um terço dos pacientes hospitalizados, com culturas de urina positiva para *Candida*, foram da Unidade de Terapia Intensiva, onde é frequente e intenso o uso de sonda vesical (SHAY e MILLER, 2004). O aspecto econômico torna essas infecções um grave problema para as estruturas de saúde: o paciente atingido geralmente demanda maior tempo de hospitalização e os custos envolvidos em seu restabelecimento se tornam, conseqüentemente, maiores (PAULA *et al.*, 2007).



Na Europa, a partir do ano 2000, *C. glabrata* passa a ser uma das espécies mais comumente isoladas em urinas. Estudo realizado na Espanha, revelou que 22% dos pacientes críticos hospitalizados por mais de sete dias em UTI, desenvolveram candidúria e 10-15% das ITU em UTI eram causadas por *Candida* (ÁLVAREZ-LERMA *et al.*, 2003). Atualmente na Espanha, as três espécies prevalentes em urina de pacientes hospitalizados são *C. albicans* (36,6%) seguida de *C. tropicalis* (23%) e *C. glabrata* (13,8%), sendo as demais espécies responsáveis por 26,6% das infecções restantes. Na França, em UTI as prevalências foram *C. albicans* (66,5%), *C. glabrata* (21,6%) e *C. tropicalis* (6,5%) (BOBADE *et al.*, 2013; BOUGNOUX, 2008).

No Canadá, estudo multicêntrico investigando a candidúria neonatal, considerou 13 unidades de tratamento intensivo (UTI) neonatais para a investigação. Entre crianças, a presença do quadro veio associada a uma mortalidade de 30%, o que destaca a importância da investigação das espécies, necessidade que pode ser estendida a todas as faixas etárias (ROBINSON *et al.*, 2009).

No Brasil, a partir do ano de 2000, a casuística nacional demonstrou que as três espécies mais prevalentes na urina dos pacientes internados em hospitais brasileiros são *C. albicans* (35,5%-70%), *C. tropicalis* (4,6%-52,5%) e *C. glabrata* (7%-8,8%) (BINELLI *et al.*, 2006; COLOMBO e GUIMARÃES, 2007; COLOMBO e GUIMARÃES, 2007; COLOMBO *et al.*, 2013; KOBAYASHI *et al.*, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2001; PASSOS *et al.*, 2005).

Em crianças a mesma sequência de prevalência de espécies se repetiu em suas urinas. Em um estudo com 100 (cem) amostras de leveduras isoladas de urina provenientes de um hospital público infantil da cidade de São Paulo / SP – Brasil, no período entre os anos de 1999 a 2004, as espécies mais frequentes foram *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. parapsilosis* (SILVA *et al.*, 2007).

## **2.2 Características gerais e prevalência das espécies de *Candida***

As leveduras do gênero *Candida* são parte do Reino *Fungi*, integrantes da divisão *Deuteromycotina*, classe *Deuteromycetes* e Ordem *Cryptococcales*. A maioria dos fungos de natureza patogênica ao homem integra o grupo dos deuteromicetos.

Microscopicamente, apresentam forma de blastoconídeos (estruturas unicelulares) e algumas vezes, apresentam-se como pseudo-hifas, que são a união e a ramificação dos blastoconídeos na invasão dos tecidos. Macroscopicamente, suas colônias são cremosas, de cor branco-amarelada, podendo ter aspecto liso ou rugoso. São encontradas em reservatórios humanos e animais, bem como podem ser encontradas no solo, nas plantas, nos alimentos e no ambiente hospitalar (GIANNINI e MELHEM, 2000; LACAZ *et al.*, 2002; SIDRIM, 1999).

Desde o nascimento a microbiota da pele e das mucosas humanas podem conter espécies de *Candida*, obtidas através do contato materno e também do ambiente hospitalar. Podem colonizar o trato gastrointestinal (TGI) infantil entre a segunda e a terceira semana de vida e, nos adultos, pode ser encontrada no TGI em cerca de 20% a 80% da população sadia, bem como na mucosa vaginal de 20% a 30% das mulheres, sem que necessariamente venham a apresentar complicações em decorrência deste fato (COLOMBO e GUIMARAES, 2003; EGGIMANN *et al.*, 2003b; GIANNINI e MELHEM, 2000; HUANG e WANG, 2003, HURLEY, 1964).

Quando há colonização, estas leveduras podem passar de comensais a agentes de infecções superficiais em pessoas saudáveis ou de infecções sistêmicas graves em pacientes críticos, devido às alterações nos mecanismos de defesa, à quebra das barreiras anatômicas e às mudanças na microbiota original do hospedeiro. Têm maior significância para a instalação da micose os fatores predisponentes presentes no paciente que a própria virulência das leveduras que, no ambiente hospitalar tem um caráter de oportunismo, sendo responsáveis por cerca de 80% a 90% das doenças fúngicas (COLOMBO e GUIMARÃES, 2003; HOBSON, 2003; MORACE e BORGUI, 2010).

Estima-se que a incidência de candidemia nos hospitais públicos brasileiros seja de 2,5 casos a cada 1000 admissões hospitalares, o que é um nível consideravelmente alto quando se considera os índices existentes em hospitais da mesma natureza nos Estados Unidos e na Europa (COLOMBO *et al.*, 2006; DIEKEMA *et al.*, 2002).

Embora mais de 200 espécies de *Candida* sejam conhecidas, apenas 20 (vinte), em média, podem assumir o papel de patógenos humanos. As que mais chamam o interesse médico são: *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* e *C. lusitaniae*. Com o passar dos anos houve aumento na frequência de infecções da corrente sanguínea (ICS) por espécies CNA,

conjuntamente com o surgimento de espécies menos frequentes, como a *C. dubliniensis*, *C. kefyr*, *C. rugosa*, *C. famata*, *C. utilis*, *C. lipolytica*, *C. norvegensis* e *C. inconspicua* dentre outras (DIGNANI *et al.*, 2003; GIANNINI e MELHEM, 2000; MORACE, 2010; PAPPAS *et al.*, 2003; PASSOS *et al.*, 2007).

Assim como no mundo todo, no Brasil a espécie *C. albicans* é uma das mais frequentemente isoladas e responsáveis por um grande número de infecções (superficiais ou invasivas) em sítios diversos, podendo aderir a várias mucosas e membranas e tendo uma estrutura que é potencialmente favorecedora de sua disseminação e fixação (COLOMBO e GUIMARÃES, 2003, HILLER *et al.*, 2011).

Acredita-se que a *C. albicans* causadora de infecções, seja de origem do trato gastrointestinal (microbiota comensal). É considerada sensível, em maioria, a todos os antifúngicos, porém já foram relatados casos de resistência a azólicos (COLOMBO e GUIMARÃES, 2003). Pode ser confundida com *C. dubliniensis*. Estudo realizado com 548 amostras pertencentes ao banco de leveduras do Laboratório de Micologia da UNIFESP, demonstrou que, 2% das amostras diagnosticadas como *C. albicans* eram na realidade, *C. dubliniensis*. Essa diferenciação pode ser realizada através de provas de assimilação de carboidratos, temperatura de crescimento, coloração das colônias em meios cromogênicos (para alguns autores, diferentes tons de verde fazem a distinção entre elas), produção de clamidósporos. Porém, diagnóstico definitivo se faz por biologia molecular, através das sequências de DNA (COLOMBO *et al.*, 2003; KRUMHOLTZ *et al.*, 2002; MCMANUS *et al.*, 2008; SULLIVAN *et al.*, 2005).

O Complexo *C. parapsilosis* prolifera-se com facilidade em ambientes ou soluções que contenham glicose. Como tem grande capacidade de gerar biofilme e costuma colonizar a pele, é um importante agente entre pacientes em uso de cateter venoso (KOCSUBÉ *et al.*, 2007; LEVY *et al.*, 1998).

Na Europa e nos Estados Unidos a *C. parapsilosis* é geralmente encontrada entre crianças, recém-nascidos neonatos ou gravemente enfermos, como é o caso de prematuros em internação em UTI (LEVY *et al.*, 1998). Atinge ainda, transplantados, pessoas em alimentação artificial parenteral e que receberam previamente terapias antifúngicas. Tem excelente produção de biofilmes; é sensível à Anfotericina B e os derivados azólicos (COLOMBO e GUIMARÃES, 2003; KOCSUBÉ *et al.*, 2007).

A *C. parapsilosis* responde por cerca de 15% a 30% dos episódios de candidemias em hospitais públicos brasileiros. Uma particularidade no Brasil é que a espécie pode ser identificada sem tanta restrição de grupo etário, podendo incidir em praticamente todas as idades. Também a natureza do hospital não parece ser determinante para incidência, muito embora seja mais comum em hospitais públicos (COLOMBO *et al.*, 2006; COLOMBO *et al.*, 2007; COLOMBO *et al.*, 2012).

Atualmente a *C. parapsilosis* é entendida como um complexo de três espécies, diferenciadas por RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) e PCR e definidas conforme as diferenças na seqüência de DNA entre vários genes das *C. parapsilosis* dos grupos I, II e III: *C. parapsilosis strictu sensu*, *C. orthopsilosis* e *C. metapsilosis*, respectivamente (TAVANTI *et al.*, 2005).

A *Candida tropicalis* é considerada agente oportunista em pacientes neutropênicos, ou na supressão da microbiota bacteriana devido ao uso de antimicrobianos, ou ainda quando a mucosa gastrintestinal é danificada. É, no mundo todo, a segunda ou terceira causa de candidemias, principalmente em pacientes com leucemias, neoplasias e outros tipos de câncer. No Brasil, ela pode ser responsável por até a metade dos casos de candidúria (COLOMBO *et al.*, 2012; PASSOS *et al.*, 2005).

Do grupo de espécies CNA, *C. tropicalis* vem se tornando um patógeno emergente a nível global. Os principais fatores que contribuem para esse avanço: ampliação da terapêutica antifúngica, crescente número de pacientes imunocomprometidos, o uso a longo prazo de catéteres, o uso de antibióticos de amplo espectro, resultando infecções fúngicas recorrentes e surtos nosocomiais. A resistência a drogas em pacientes imunocomprometidos tem aumentado juntamente com a mortalidade (KOTHAVADE *et al.*, 2010).

Não é comum entre crianças recém-nascidas que, quando detectada, é indicativo de infecção. Os isolados clínicos dessa espécie são sensíveis a anfotericina B e a maioria deles a azólicos, mas alguns autores relatam a ocorrência de isolados resistentes a fluconazol (ALP *et al.*, 2010)

Dentre as espécies de *Candida*, a *C. glabrata*, no Brasil, é geralmente a terceira espécie diagnosticada em candidúria de pacientes hospitalizados, muito comum em idosos ou pacientes imunodeprimidos. Nos Estados Unidos e na Europa ocupa o segundo lugar das espécies de *Candida* identificadas nos casos de candidúria. (PASSOS *et al.*, 2005). No Brasil, um estudo publicado no ano de 2008

mostrou que entre os anos de 1995 a 2003, a espécie *C.glabrata* foi responsável por 3,5% dos 228 casos de candidemias registrados, mas, entre os anos de 2005 a 2007, esse índice se elevou para 10,6% entre os 263 casos estudados (PASQUALOTTO *et al.*, 2008).

O maior interesse sobre as infecções fúngicas causadas por *C. glabrata* relaciona-se à sua virulência e patogenicidade, alta taxa de mortalidade, variando de 78% a 100% em alguns estudos sobre candidemia, acompanhada de resistência às drogas antifúngicas mais comuns atualmente disponíveis (AQUINO *et al.*, 2005; COLOMBO *et al.*, 2006; DIEKEMA *et al.*, 2002).

Assim, técnicas para diferenciação molecular desta espécie tem sido utilizadas. Estudo recente revelou que a amplificação RAPD-PCR representa alto poder discriminatório na diferenciação molecular de isolados clínicos de *C. glabrata*, podendo ser recomendada para a análise de possível via de transmissão deste patógeno em hospitais, através da comparação genética dos isolados clínicos (SZWEDA *et al.*, 2013).

Esta espécie é comum em ITU de adultos mais velhos, os quais frequentemente, não respondem ao tratamento com Fluconazol. A remoção de cateteres e a interrupção dos antibióticos são essenciais. Uma dosagem mais elevada de fluconazol (800 mg por dia) pode fornecer concentração adequada da droga para erradicar a infecção. No entanto, se a espécie for resistente, deve-se optar por outro antifúngico. A anfotericina B é provavelmente o agente mais eficaz, mas provoca muitos efeitos colaterais. Equinocandinas, Voriconazol e Posaconazol não atingem concentrações adequadas na urina. Em alguns casos de cistite, irrigação local de anfotericina B tem sido útil à curto prazo, mas erradicação definitiva permanece indefinida para muitos pacientes (PAPPAS *et al.*, 2009).

Cerca de dez anos atrás, *Candida krusei* não era um achado comum no ambiente hospitalar e atualmente, infecta principalmente, pacientes com neutropenia, câncer, leucemia, transplantados e infectados por HIV. É intrinsecamente resistente ao fluconazol e apresenta baixa sensibilidade à AnB. Isso explica sua maior ocorrência nestes grupos específicos de pacientes que com freqüência recebem esta droga profilaticamente (HORN *et al.*, 2009). Essa resistência torna complicado o tratamento de pacientes que tenham comprometimento imunológico, como é o caso de hansenianos, leucêmicos, neutropênicos, dentre outros. O Voriconazol é eficiente

nesses casos, bem como as equinocandinas, tais como, caspofungina, anidulfungina e micanfungina (REX *et al.*, 1995; ZARDO e MEZZARI, 2004; PFALLER *et al.*, 2008).

Em geral, a *C. guilliermondii* responde por 2% dos casos mundiais, exceto em países como Índia, Brasil e Itália, nos quais sua incidência é maior e pode chegar a 10% dos casos. A maioria dos casos ocorre em pacientes oncológicos, transplantados, em UTI ou neutropênicos, porém não é frequente no ambiente hospitalar. Mais recentemente a *C. guilliermondii* foi subdividida em mais duas espécies, a *C. fermentati* e a *C. carpophila*, mas é impossível, bioquimicamente, realizar a distinção destas espécies. Em pacientes imunodreprimidos, seu tratamento pode ser complexo e a sua sensibilidade para inúmeros antifúngicos vem sistematicamente caindo, especialmente em relação ao Fluconazol e ao Itraconazol (MEDEIROS *et al.*, 2007)

A *C. lusitaniae* de um modo geral também não é um isolado comum no espaço hospitalar, mas é comum nos pacientes que passaram por cirurgias e transplantes. Torna-se mais agressiva ou invasiva quando o indivíduo apresenta qualquer tipo de comprometimento imunológico. Trata-se de uma espécie rara, tanto como comensal quanto em isolados hospitalares, com cerca de 1-2% dos achados. É sensível ao Fluconazol, mas, geralmente resistente à AnB, condição que pode ser determinante para a sua separação de outras espécies (FAVEL *et al.*, 2004 apud BARBEDO e SGARBI, 2010).

Considerado um micro-organismo emergente, não há muitas informações a respeito da epidemiologia e do desdobramento virulento da *C. kefyr*, que também é chamada eventualmente por seu antigo nome, *C. pseudotropicalis*. É comum em laticínios e em demais produtos alimentares industrializados, mas rara na comunidade. Por outro lado, quando ocorre, geralmente atinge imunodeprimidos ou pacientes oncológicos (SENDID *et al.*, 2006).

A *C. inconspicua* é frequente entre imunodeprimidos ou pessoas com infecções na boca, no esôfago ou vagina e diabéticos, mas não está associada a pacientes com câncer. Tem alta susceptibilidade aos mais comuns antifúngicos utilizados, mas é resistente à AnB (MAJOROS *et al.*, 2005 apud BARBEDO e SGARBI, 2010).

A espécie *C. dubliniensis* foi identificada no ano de 1995, em Dublin, na Irlanda e tem estrutura genética e filogenética muito similar à *C. albicans*, embora esta última seja mais patogênica. Apresenta-se mais na mucosa oral, especialmente de pacientes imunodeprimidos e diabéticos, mas a maioria costuma manter um comportamento comensal quando instaladas em indivíduos saudáveis. Responde por cerca de 2% das candidemias e possui pequena capacidade de produzir hifas, portanto, tem pequeno potencial de colonização e de invasão de tecidos. É uma das espécies que mais facilmente desenvolvem resistência a azólicos (SULLIVAN *et al.*, 1999 apud BARBEDO e SGARBI, 2010).

### 2.3 Fatores predisponentes para a Candidúria

Durante a hospitalização, há fatores que aumentam a predisposição à candidúria, tais como idade avançada, sexo feminino, uso de antibioticoterapia de amplo espectro, corticosteroides e imunossupressores, anormalidades do trato urinário, diabetes, uso de sonda vesical de demora, procedimentos cirúrgicos de grande porte e a presença de doenças malignas (COLOMBO e GUIMARÃES, 2007; KAUFFMAN *et al.*, 2000; KAUFFMAN, 2005; LUNDSTRON e SOBEL, 2001).

Infecções disseminadas por *Candida*, em geral ocorrem mais em pacientes em estado grave ou com drástico comprometimento da imunidade e resistência geral. A apresentação disseminada pode comprometer olhos, pulmões, bexiga, rins, articulações, meninges e coração, dentre outros órgãos e tecidos. Pacientes que utilizam cateteres centrais ou que possuam valvulopatia podem ter comprometimento cardíaco e maior risco de sepse (GROSSI, 2009; KAUFFMAN *et al.*, 2011; KONEMAN *et al.*, 2008).

Sabe-se que os procedimentos invasivos comuns às internações em UTI são facilitadores para o aparecimento de infecções entre os pacientes. Cerca de 80% das ITU nestes ambientes têm relação com o uso de cateter uretral de permanência. Um dos fatores fundamentais para que ocorra o crescimento da *Candida* é a presença de biofilme nos dispositivos biomédicos, como os cateteres urinários que são feitos de látex (ABELHA *et al.*, 2006; CHENOWETH *et al.*, 2014; FISHER *et al.*, 2011; ORSI *et al.*, 2005).

Denomina-se biofilme a soma de micro-organismos que aderem de modo firme a uma superfície e o fazem junto ao revestimento de matriz extracelular. Esta matriz é formada por polissacarídeos, ácidos nucleicos e proteínas produzidas pelos micro-organismos. O biofilme de *Candida* é um dos principais elementos responsáveis pelo aumento da resistência a drogas, por ser capaz de resistir ao sistema imune daquele que o hospeda e de aderir a cateteres, a válvulas ou então a superfície de dispositivos gerais. Quando maduro, o biofilme é complexo e tridimensional, sendo capaz de apresentar ótimo ajustamento de espaço para acolher nutrientes e os distribuir entre os micro-organismos, também tendo boa eficiência na eliminação de metabólitos e formação de micro nichos. O biofilme presente nas sondas vesicais, pode induzir a uma infecção por *Candida*, capaz de confundir a equipe médica avaliadora de pacientes críticos (FISHER *et al.*, 2011; PEIXOTO *et al.*, 2010).

#### **2.4 Mecanismos de infecção por *Candida***

Os fungos podem colonizar e infectar vários tecidos, indicando que estes possuem uma variedade de moléculas de superfície, permitindo o processo de adesão de microrganismos a tecidos do hospedeiro. Isso é fundamental para o início da colonização e progressão do processo infeccioso. Um fator que geralmente ocupa espaço decisivo na infecção urinária por *Candida* é a colonização em locais próximos ao trato urinário (TU). É importante destacar que essa levedura está presente na microbiota da população mundial, especialmente na orofaringe, no cólon e na vagina de indivíduos saudáveis, sem causar com isso maiores intercorrências. Pode ocorrer infecção retrógrada, quando as leveduras vão da uretra a bexiga podendo alcançar o rim do indivíduo, ou então por meio de infecção sistêmica, por disseminação hematogênica atingem o rim e assim são eliminados na urina (DRASAR e SHINER, 1969; FISHER *et al.*, 2011; GORBACH *et al.*, 1967; NASSOURA *et al.*, 1993; TASHJIAN *et al.*, 1976).

A presença de mecanismos que permitem a adesão do patógeno é relevante nos sítios em que há secreções como: muco vaginal, na cavidade oral e no TU. Há evidências que a ampla capacidade de adesão pertinente a cada espécie de *Candida* responde por sua amplitude patológica. Pode aderir a inúmeros tecidos e



superfícies inanimadas, instalando-se em cateteres urinários e plásticos, formando biofilmes. Além disso, a *Candida* produz enzimas hidrolíticas que facilitam disseminação no hospedeiro, rompem membranas celulares e interferem na renovação das mucosas e vasos sanguíneos. Essas enzimas degradam a estrutura de defesa imunológica, atingem o colágeno, a queratina, a mucosa, as citocinas, os componentes do sistema complemento e os anticorpos. A *C. albicans* é uma das maiores produtoras dessas proteínas. (BORST e FLUIT, 2003; COTTER e KAVANAGH, 1999; FISHER *et al.*, 2011; GOLDMAN *et al.*, 2005; KAUR *et al.*, 2005; SCHIMID *et al.*, 1995; ZAUGG *et al.*, 2001).

Entre camundongos, as principais causas de morte em estudos de avaliação com a espécie *C. albicans* não foram a sepse ou a insuficiência renal, mas sim uma rede complexa de fatores que envolveram lesões na pelve renal, nos túbulos e nos ureteres. Pode ocorrer necrose e a pelve renal pode terminar preenchida por massas emaranhadas de leveduras, as bolas fúngicas, que obstruem o sistema. Mesmas condições já foram verificadas em humanos, o que sugere que a patogênese entre seres humanos é similar à descrita nos modelos animais (SPELLBERG *et al.*, 2005; TOMASHEFSKI JUNIOR e ABRAMOWSKY, 1981).

## 2.5 Candidemia e Candidúria

A candidemia é a infecção causada por *Candida spp* no sangue e representa uma ocorrência preocupante por ser uma situação significativa de morbidade e mortalidade hospitalar no mundo todo. Nos hospitais públicos brasileiros, a taxa de candidemia é de duas a dez vezes maior do que a registrada em hospitais europeus e estadunidenses da mesma natureza (COLOMBO *et al.*, 2006; COLOMBO *et al.*, 2013).

O procedimento padrão para a detecção da candidemia no Brasil é a hemocultura. A sensibilidade do exame é entre 50-60% de positividade, o que sugere a ocorrência de falsos negativos e conseqüente atraso do tratamento. Pelas limitações do método padrão, é comum a adoção de uma abordagem clínica do paciente conduzida por um tratamento empírico, orientado pela observação dos

fatores de risco e suspeitas clínicas. Em virtude dessas condições, atualmente, nem sempre se realiza a investigação laboratorial da candidemia. Como a escolha inicial do tratamento antifúngico desempenha papel de extrema importância no desfecho dos quadros, uma abordagem mais rápida e precisa a respeito da susceptibilidade aos antifúngicos contribui grandemente para a melhoria das chances de eficácia terapêutica (KAUFFMAN, 2014; KLOTZ *et al.*, 2007; PATEL *et al.*, 2005; ZAOUTIS *et al.*, 2005).

Estudo realizado no sul do Brasil, em um complexo hospitalar público entre os anos de 2002 a 2003 com hemoculturas dos pacientes, encontrou as seguintes espécies *Candida*: *albicans* (51,6%), *parapsilosis* (25,7%), *tropicalis* (13,3%) e *glabrata* (3,3%) (ANTUNES *et al.*, 2004). Outro estudo brasileiro, em mesma delimitação geográfica, mas realizado em um hospital escola (Hospital das Clínicas de Porto Alegre - UFRS, também observou a mesma ocorrência entre as espécies de *Candida* em hemocultura: *C. albicans* (45%), *C. parapsilosis* (24,4%), *C. tropicalis* (15,3%) e *C. glabrata* (6,9%) (AQUINO *et al.*, 2005).

Colombo *et al.* (2007), avaliando a mortalidade associada a espécies de *Candida* entre pacientes com candidemia em quatro centros médicos de São Paulo, Brasil, detectaram alta incidência de candidemia comparado a estudos da mesma época e metodologia na Europa e Estados Unidos. A taxa de mortalidade relacionada a candidemia por *Candida glabrata* foi alta, 100% dos pacientes registrados no estudo foram a óbito.

Estudo realizado por Chang *et al.* publicado em 2008, em um hospital de ensino público no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, verificou a mesma sequência na prevalência de leveduras em hemoculturas positivas entre os anos de 1998 a 2006. A *C. albicans* foi a espécie mais prevalente (45,8%), seguida pela *C. parapsilosis* (34,4%), *C. tropicalis* (14,6%) e *C. glabrata* (5,2%).

Também foi comprovada associação biológica entre *Candida albicans* provenientes de candidemia e de candidúria através da correlação do genótipo molecular de 33 pares de *C. albicans* isolados do sangue e da urina de pacientes, a maioria de UTI. A taxa de concordância molecular dos três maiores genótipos foi de 100% para o tipo I (P=0,013), 82% para o tipo II (P<0,001) e 71% para tipo III (p=0,001). Estes dados, estatisticamente significantes, confirmaram achados prévios e evidenciaram similaridade entre tipos moleculares dos pares de *Candida* isolados de sangue e urina. A concordância significativa entre a cepa *C. albicans* em

candidemia e candidúria implica que outras espécies de *Candida* podem ter os mesmos comportamentos (HUANG *et al.*, 2013).

Quanto à candidúria, no Brasil, as espécies mais comuns em isolados de urina de pacientes hospitalizados são a *C. albicans* (35,5-70%), *C. tropicalis* (4,6-52,5%) e *C. glabrata* (7-8,8%) (BINELLI *et al.*, 2006; COLOMBO; GUIMARÃES, 2007; KOBAYASHI *et al.*, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2001; PASSOS *et al.*, 2005).

Estudo realizado em hospital público universitário de Mato Grosso do Sul, Brasil, mostrou que o trato urinário é mais comumente atingido por *C. albicans*, *C. glabrata* e outras leveduras, totalizando 48,1% das infecções em relação a todos os outros micro-organismos isolados (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Pacientes hospitalizados expostos a tratamento antibioticoterápico de largo espectro, em uso de cateter venoso central e com a presença de colonização positiva por *Candida* podem ser considerados como dotados de fatores de risco para candidemia. As taxas mais altas de colonização costumam ser detectadas na urina (CHENG *et al.*, 2006).

Acredita-se que o uso de cateteres urinários seja facilitador da infecção porque o agente poderia ser introduzido durante a colocação no trato urinário, migrando para a bexiga através da via externa do cateter em sua parte periuretral. Quando a infecção se origina na bexiga, o TU superior pode ser infectado, principalmente se o fluxo urinário estiver obstruído (CHENOWETH *et al.*, 2014; KAUFFMAN, 2005; SOBEL, 2000).

Em UTI (Unidade de Terapia Intensiva), a taxa de colonização urinária por *Candida* tende a se elevar conforme o tempo de permanência do paciente nesse local. Isso sugere que o tempo de permanência no hospital, ou seja, o aumento do tempo de internação, é um importante fator para a aquisição da *Candida*, e é de cunho preventivo que se realize a identificação das espécies e testes de susceptibilidade antifúngica, que são importantes para a escolha do tratamento adequado. É importante ainda que sejam realizados mais estudos sobre a colonização urinária, pois esta condição pode ser o único indicativo precoce de uma candidíase invasiva (KAUFFMAN, 2014; SINGLA *et al.*, 2012).

A urocultura é um recurso eficiente na abordagem preventiva. Sabe-se que é estatisticamente significativa a diferença na frequência de candidíase invasiva entre pacientes com e sem colonização urinária. Aqueles que apresentam uma cultura de urina negativa costumam não desenvolver o quadro. Manter a vigilância das

uroculturas parece ajudar na diferenciação dos pacientes de alto risco para o desenvolvimento de candidíase, aumentando as chances de sucesso das abordagens terapêuticas e a segurança do paciente (KAUFFMAN, 2014; MAGILL *et al.*, 2006).

## 2.6 Diagnóstico da Candidúria

A candidúria pode ser identificada com a análise da amostra de urina e para a confirmação utiliza-se cultura em ágar *Sabouraud Dextrose* (ASD), que recebe adição de cloranfenicol para inibir o crescimento bacteriano. As colônias revelam-se com coloração branca ou branco-amarelada. Seu odor é característico e sua forma é convexa, lisa brilhante, cremosas e úmidas (WILLIAMS e LEWIS, 2000).

A prova do tubo germinativo é um teste que caracteriza rápida e presuntivamente a levedura da espécie *Candida albicans*. Trata-se de simples procedimento e baseia-se na semeadura de um pequeno inóculo dessa levedura em soro, que pode ser de várias espécies animais. Os soros recomendados são o humano, o fetal bovino ou de cavalo, podendo-se, ainda, utilizar albumina de ovo. Quando é formado o tubo germinativo *in vitro*, o teste é positivo e confirma a espécie *C. albicans* (LACAZ *et al.*, 2002).

A assimilação de carboidratos ou auxanograma é um teste realizado para a identificação de leveduras em geral. Esta técnica baseia-se na observação da capacidade de uma levedura em utilizar determinado carboidrato, tais como glicose, galactose, dulcitol, sacarose, ramnose, lactose, rafinose, inositol, xilose, celebiose, trealose, maltose, melibiose. O carboidrato é utilizado como fonte de carbono, o qual é necessário ao seu desenvolvimento. A habilidade ou não de assimilar os diferentes açúcares define um padrão bioquímico que auxilia na identificação da espécie (LACAZ *et al.*, 2002; LARONE, 2011).

O microcultivo em ágar fubá é uma técnica em que, as leveduras,, quando incubadas em meio com *Tween-80* apresentam a capacidade de filamentar, formando pseudo-hifas e/ou hifas verdadeiras. A morfologia diferenciada dos filamentos, sugere a espécie de levedura. A identificação, quando rápida, simples e presuntiva pode contribuir para o diagnóstico do quadro infeccioso. Quando a levedura apresenta hifas hialinas e ramificadas, é sugestivo do gênero *Candida sp* e se, além disso,

desenvolver clamidósporos células de reserva ou tubos germinativos, em determinadas condições “*in vitro*”, é identificada como *Candida albicans*. O restante dos gêneros e espécies têm suas características próprias de filamentação, permitindo sua identificação. Porém, são necessárias provas bioquímicas para confirmação das espécies (LACAZ *et al*, 2002; LARONE, 2011).

Os meios cromogênicos são utilizados para diferenciação das espécies de leveduras através da coloração final, observada após o crescimento das colônias. Facilita a detecção das espécies de leveduras em uma única placa, sendo eficaz na identificação presuntiva de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. parapsilosis* pela morfologia e cor da reação, podendo apresentar colônias características, verde claro, azul escuro, rosa e rosa claro, respectivamente, após 36-48 horas de incubação a 35°C-37°C (LACAZ *et al*, 2002; LARONE, 2011 ).

O antifungigrama é um teste *in vitro* que aponta os resultados de resistência ou susceptibilidade dos isolados de leveduras. Com isso, é traçado o perfil de susceptibilidade *in vitro* destas com relação aos antifúngicos da rotina hospitalar. Sabe-se que boa parte das espécies de *Candida* não é resistente aos antifúngicos, mas algumas têm evidenciado resistência intrínseca ou adquirida a azólicos, o que foi identificado em isolados clínicos de pacientes expostos a terapias prolongadas com estes antifúngicos (COLOMBO e GUIMARÃES, 2007).

A microdiluição em caldo é um método de referência para a determinação da sensibilidade de leveduras à terapia antifúngica (antifungigrama). A técnica baseia-se no preparo de microplacas contendo variadas concentrações de um determinado antifúngico, nas quais posteriormente são inoculadas as leveduras para avaliação de sua susceptibilidade. A técnica segue a padronização pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute*, uma instituição educacional internacional, que desenvolveu diretrizes padronizadas consensualmente com a comunidade de pesquisadores mundiais da saúde (CLSI – M27 – A3, 2008; CLSI – S4, 2012).

O antifungigrama pode ser realizado através do sistema Vitek®2 system (BioMérieux®, Marcy L’Etoile, França) é um aparelho automatizado cujos cartões colorimétricos fornecem a identificação rápida de espécies de leveduras e suas respectivas susceptibilidades a antifúngicos da rotina hospitalar. É um método valioso para a identificação de espécies de leveduras de importância médica (principalmente quando associado ao método do Cromoágar) e determinação do perfil de susceptibilidade das mesmas (JAIN *et al*, 2012).

O aparelho Vitek®2, com seus cartões ID-YST (identificação de leveduras, baseada na reação bioquímica) e ID-AST (susceptibilidade das leveduras aos antifúngicos) compõem um sistema completo para a identificação da maior parte das leveduras e microorganismo similares, oferecendo boa identificação das espécies e seu perfil de susceptibilidade aos antifúngicos. A metodologia devolve os resultados em cerca de 15 horas. Tem sido bem avaliado mundialmente, sendo considerado eficiente e rápido para identificar as espécies e traçar o perfil de susceptibilidade aos antifúngicos Anfotericina B, Fluconazol e Voriconazol. A rapidez no diagnóstico fornece informações oportunas aos médicos, bem como a identificação de *Candida glabrata*, *Candida krusei*, que são reconhecidos como inerentemente ou potencialmente resistentes aos azoles ou anfotericina B. Essa agilidade no diagnóstico é essencial para a preservação da vida do paciente (GRAF *et al*, 2000; PFALLER *et al*, 2007; SANGUINETTI *et al*, 2007; VALENZA *et al*, 2008).

## 2.7 Antifúngicos

Para o sucesso da terapia antifúngica, é fundamental que o médico tenha acesso às informações do perfil de susceptibilidade das leveduras o quanto antes, no processo de diagnóstico. Períodos entre 12 a 24 horas para o início de uma terapia antifúngica eficiente, em pacientes hospitalizados, são associados a uma mortalidade 2-3 vezes superior a verificada em pacientes que receberam o aporte terapêutico em tempo adequado. Novos métodos de diagnóstico laboratorial são necessários para evitar atrasos na terapia antifúngica apropriada (BADDLEY, 2004; GAREY *et al*, 2006; MORRELL *et al.*, 2005; PAI *et al.*, 2003; REX e PFALLER, 2002).

A redução da sensibilidade de algumas leveduras do gênero *Candida* pode ter sido causada pela introdução e a ampliação do uso de antifúngicos azólicos para o tratamento das candidíases, principalmente o Fluconazol (SENDID *et. al.*, 2006; SOBEL, 2006).

O Fluconazol é um composto sintético triazólico, integrante da família dos azoles. Atua nos fungos causando a inibição da enzima que é responsável pela síntese do ergosterol da membrana celular, sendo administrado por via oral ou

endovenosa e utilizado largamente porque apresenta boa absorção gastrointestinal (FRATARELLI *et al.*, 2004).

O uso do Fluconazol é muito comum, principalmente se o paciente não apresenta sintomas e quando a espécie isolada não é a *C. glabrata* ou *C. krusei*, dado que as chances de resistência são maiores. A dose mais comum é 200 mg diários em um período que pode variar de uma a duas semanas. (HOLLENBACH, 2008; SOBEL *et al.*, 2000). É o antifúngico mais largamente utilizados por ser bem tolerado e por apresentar atividade cíclica contra as principais espécies de *Candida*, porém, com histórico de resistência adquirida ou intrínseca, especialmente das espécies *C. glabrata* e *C. krusei*, respectivamente (BERNARDES *et al.*, 2012; KAUFFMAN, 2014).

O aumento do MIC, observado em algumas espécies de leveduras, no decorrer dos anos, pode ter relação com a exposição prévia ao Fluconazol, que é a droga de escolha tanto para a profilaxia quanto para o tratamento da maioria dos casos. O excesso no uso dessa droga é um sugestivo fator de seleção para a resistência em isolados previamente sensíveis (AKINS, 2005; KRIENGLAUYKIAT *et al.*, 2011; PFALLER *et al.*, 2004).

O Voriconazol, por sua vez, é um agente antifúngico de segunda geração, derivado sintético do Fluconazol. Sua atuação é semelhante a dos azoles, sendo ativo contra todas as espécies de *Candida*, incluindo as cepas resistentes como a *C. krusei* e *C. glabrata*. Possui boa atividade contra *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporon beigeli* e *Saccharomyces cerevisiae* e ampla atividade contra espécies de *Aspergillus*. É aprovado para o tratamento de aspergilose invasiva e seu uso pode ser feito tanto por via oral quanto por via endovenosa (FRATARELLI *et al.*, 2004).

É um fármaco de bom uso, indicado mais especificamente quando o paciente apresenta sepse grave ou então choque séptico. Sua administração depende diretamente da existência de função renal adequada, por ser o fármaco de alta excreção renal (SARAVOLATZ *et al.*, 2003).

Quando não há resposta ou então as infecções são sistêmicas, a AnB é indicada, especialmente nos casos de pacientes gravemente enfermos. O uso da AnB é bastante frequente, já que as espécies CNA se apresentam menos sensíveis ao Fluconazol. Oralmente, não é absorvido e por isso seu uso é somente parenteral e combinado com o Deoxicolato, que o torna mais solúvel em água. Uma vez na corrente sanguínea, o medicamento se dissocia do Deoxicolato e se liga às proteínas plasmáticas, procedendo a distribuição nos tecidos. Formulações lipídicas de AnB e

equinocandinas possuem atividades antifúngicas contra biofilmes de *Candida*, mas têm uso limitado em pacientes com cateteres (BERNARDES *et al.*, 2012; FISHER *et al.*, 2011; FRATARELLI *et al.*, 2004; STRABELLI, 2011).

As equinocandinas (caspofungina, anidulfungina e micanfungina) são recursos atualmente explorados, mas pouco utilizadas para ITU devido a baixa filtração glomerular pelos rins. Equinocandinas, voriconazol e posaconazol não atingem concentrações adequadas na urina (PAPPAS *et al.*, 2009).



### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Analisar os casos de candidúria em adultos internados no Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian - UFMS, Campo Grande / MS, entre maio de 2011 e abril de 2012.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Identificar as espécies de *Candida* envolvidas em episódios de candidúria;
- Verificar o perfil de susceptibilidade *in vitro* dos isolados de *Candida* aos antifúngicos convencionais: anfotericina B, fluconazol e voriconazol.
- Relacionar espécies de *Candida* com variáveis demográficas, setor de internação e resultado da urianálise.

## 4 MATERIAL E MÉTODO

### 4.1 Tipo, local e período de estudo

Estudo epidemiológico transversal em que foram analisados os casos de candidúria ocorridos em pacientes adultos internados no Núcleo do Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (NHU-UFMS), entre os meses de maio do ano de 2011 a abril de 2012, na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Criado em 1970, o NHU-UFMS acompanhou o crescimento da saúde no estado e atualmente é um centro de referência no tratamento de várias especialidades, atendendo pacientes de todos os municípios através do Sistema Único de Saúde (SUS) e da rede de apoio de sua mantenedora, a UFMS. A área total de atividade é de 36 mil m<sup>2</sup>, com aproximadamente 76 consultórios, 260 leitos e 9 centros cirúrgicos, além dos 4 centros obstétricos. A unidade oferece desde atendimento ambulatorial até suporte de pacientes críticos, bem como cirurgias de pequeno, médio e grande porte, servindo centralmente como espaço de atendimento popular e aprendizado, com um grande volume de residentes e acadêmicos de várias áreas da saúde. É referência para gestação de alto-risco, neonatologia completa, hemodiálise, terapia intensiva adulta e pediátrica e doenças infecciosas, tais como HIV/AIDS.

### 4.2 Sujeitos do Estudo

Os critérios de inclusão no estudo foram: ter mais de 18 anos e ter resultado de urocultura positiva para leveduras do gênero *Candida* a partir de 1.000 UFC/ml. Foi selecionada 1 amostra positiva de cada paciente.

### 4.3 Coleta de dados

#### 4.3.1 Dados demográficos e setor de internação

As variáveis como idade, sexo e setor de internação foram obtidas do formulário de solicitação de exames complementares do NHU-UFMS.

#### 4.3.2 Sedimentoscopia e contagem de colônias

Os exames de sedimentoscopia e cultura de urina foram solicitados pelos médicos assistentes como parte da rotina assistencial para diagnóstico e manejo clínico dos pacientes. Foram coletadas pela equipe de enfermagem ou pelo próprio paciente conforme protocolo de rotina. As amostras foram processadas e analisadas no Laboratório de Análises Clínicas (LAC) do NHU-UFMS.

O procedimento padrão em relação aos exames de urina foi semeadura com alça calibrada, por esgotamento, sobre o meio de cultura ágar *Sabouraud Dextrose* (ASD) com cloranfenicol, para exame quantitativo pela contagem de unidades formadoras de colônias (UFC).

Outra porção da urina foi centrifugada entre 1500 a 2000 rpm (rotações por minuto) durante dez minutos e o sedimento utilizado para exame microscópico e nova semeadura em tubo, também com ASD para cultura qualitativa.

A presença de leveduras na microscopia foi classificada em cruzes conforme Manual de Procedimentos Operacionais Padrão do laboratório LAC/NHU-UFMS, que segue normas do Programa Nacional de Controle de Qualidade da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas.

A placa e o tubo foram armazenados em estufa a 35° C por 24 horas. Após esse tempo, observou-se o crescimento das colônias (as que se desenvolveram) e procedeu-se então a contagem das UFC nas placas. As leveduras foram identificadas e armazenadas à temperatura de - 20°C, em caldo *Brain Infusion Heart* (BHI, Difco®) com glicerol a 50% no Laboratório de Micologia do NHU-UFMS (*Clinical and*

*Laboratory Standards Institute* – Método de referência para testes de diluição em caldo para a determinação da sensibilidade a terapia antifúngica das leveduras. Norma Aprovada -Terceira edição, CLSI documento M27-A3, USA (2008) e complementada pelo suplemento 4 – S4, USA (2012).

#### **4.4 Identificação laboratorial das espécies de *Candida***

As amostras foram descongeladas e semeadas em ágar *Sabouraud Dextrose* comercial (ASD- Oxoid®), para crescimento das colônias.

Após o crescimento, para a identificação da levedura e de possíveis infecções mistas, foram semeadas em ágar cromogênico (*CHROMagar Candida*, DIFCO®) incubadas a 37°C, de 36-48 horas

Passadas 24 horas de crescimento em ASD, as leveduras foram identificadas pelo aparelho automatizado *Vitek 2® System* (*BioMérieux®*, Marcy L'Etoile, França) e, também, segundo técnicas convencionais (provas clássicas), incluindo: pesquisa do tubo germinativo, auxanograma (prova de assimilação de açúcares) e microcultivo em ágar fubá (LACAZ *et al.* 2002; LARONE, 2011).

##### 4.4.1 – Prova do Tubo Germinativo

A partir de uma alçada da colônia isolada, foi feita uma suspensão em tubo de ensaio contendo 0,5 ml de soro humano. A suspensão foi incubada a 37°C durante período máximo de 3 horas. Este prazo é importante porque, após esse período, outras espécies de *Candida* e de outros gêneros, formam também tubo germinativo. Foi depositada uma gota da suspensão sobre lâmina, coberta com lamínula e examinada ao microscópio óptico. A presença de tubo germinativo, na forma de pequeno filamento que brota do blastoconídio, sem formar constrição com a célula-mãe, permitiu a identificação presuntiva das espécies de *Candida albicans*, resultado considerado positivo. O resultado negativo indicou outra espécie de *Candida* (LACAZ *et al.*, 2002).

#### 4.4.2 Microcultivo em ágar fubá

Foi realizado o repique de cada colônia em placa com meio ASD, incubada a 37°C por 24hs. Após crescimento foi confirmada sua pureza, por microscopia. Foram depositados 3 ml de ágar fubá (*Corn Meal Agar*, HIMEDIA®) fundido sobre uma lâmina contida sobre um suporte dentro de uma placa de Petri. Após a solidificação do meio, a levedura foi semeada com auxílio de uma agulha em “L”, fazendo 2 estrias paralelas e coberta com lamínula estéril. Foi montada uma câmara úmida, colocando a água estéril no papel de filtro dentro da placa, abaixo da lâmina, sendo deixada de 2 a 3 dias à 25° C e foi observada a preparação em microscópio com aumento de 400x e observada a micromorfologia das colônias, com características específicas de cada espécie de *Candida* (LACAZ *et al.*2002; LARONE, 2011).

#### 4.4.3 Auxanograma

Em uma placa de Petri adicionou-se de 1 a 2 mL da suspensão da levedura que se desejava identificar juntamente com cerca de 50 mL de ágar base (*Agar Bacteriological-Oxoid*®) ainda fundido (temperatura máxima de 40°C). Homogeneizou-se com movimentos suaves simulando o número oito. Após o endurecimento do ágar com a levedura já inoculada, foram acrescentadas pequenas porções dos carboidratos (adicionados com medidor próprio) a serem testados e então foi observada a capacidade de utilização destes como fonte de carbono.

Quando o carboidrato foi assimilado pela levedura foi observado o crescimento do microorganismo ao redor da fonte de carbono após 24-72 horas de incubação a 37°C. A assimilação foi considerada positiva quando ao redor do açúcar houve formação de uma zona turva/opaca indicando o crescimento da levedura. A identificação da espécie foi obtida de acordo com o açúcar assimilado (LACAZ *et al.*, 2002; LARONE, 2011).

#### 4.4.4 Metodologia RAPD-PCR – Biologia Molecular

As amostras identificadas como *Candida parapsilosis* foram submetidas a Metodologia RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) PCR – Biologia Molecular para a diferenciação das espécies do complexo *C.parapsilosis* (*C.parapsilosis strictu sensu*, *C.methapsilosis* e *C.orthopsilosis*).

As leveduras foram suspensas em salina até a escala de 0,5 de *McFarland*, centrifugadas e submetidas à extração de DNA. As amostras de DNA obtidas foram dosadas em espectrofotômetros Nanodrop 1000 (*Thermo*) e 20 ng de DNA de cada amostra foram submetidas à amplificação pelo método de RAPD, com *primer* RPO2 de acordo com metodologia descrita por Tavanti *et al.* (2005) por comparação do perfil de bandas das amostras com as ATCC (*American Type Culture Collection*).

#### **4.5 Testes de susceptibilidade *in vitro* a drogas antifúngicas**

Testes de susceptibilidade das leveduras aos antifúngicos foram realizados pelo aparelho automatizado Vitek 2<sup>®</sup> System (*BioMérieux*<sup>®</sup>, *Marcy L'Etoile*, França). Anfotericina B, Fluconazol e Voriconazol foram testados. As amostras utilizadas como controles para a avaliação dos métodos foram *C. krusei* ATCC 6258 (Resistente) e *C. parapsilosis* ATCC 22019 (Sensível). A determinação da concentração inibitória mínima (CIM ou MIC) pela metodologia de microdiluição em caldo foi realizada para confirmação dos perfis de susceptibilidade somente quando Resistente (R) ou Sensível Dose Dependente (SDD) aos antifúngicos testados.

##### 4.5.1 Vitek<sup>®</sup> 2

Os isolados de *Candida spp.* foram identificados por espécie e foi traçado o perfil de susceptibilidade de cada um através do aparelho automatizado *Vitek*<sup>®</sup> 2. A preparação do inóculo ocorreu a partir de uma cultura pura, conforme as boas

práticas laboratoriais. Em caso de culturas mistas (duas espécies de leveduras na mesma amostra), foi necessária outra etapa de isolamento, em Cromoágar para certificar a pureza da colônia, aguardando mais 24 horas.

Foi utilizada alça estéril para a transferência de um número suficiente de colônias morfológicamente idênticas crescidas na placa de ASD- Oxoid® para o tubo de ensaio plástico de tamanho de 12 x 75 mm, com solução salina (NaCl de 0,45% a 0,5%, ph 4,5 a 7,0), obtendo assim uma suspensão de leveduras com densidade equivalente a um padrão *McFarland* de 1,8 a 2,2 x 10<sup>3</sup> células/ml, com uso de densitômetro (*Densichek*<sup>™</sup> Vitek®2). Os tubos e os cartões foram dispostos em estantes, as quais foram analisadas uma a uma separadamente. Cada estante foi inserida no primeiro compartimento do aparelho para distribuição da levedura entre os poços dos cartões.

Após sinalização luminosa do aparelho, na sequência, a estante foi colocada no segundo compartimento do mesmo, para a separação entre os cartões e a estante (com os tubos). Nova sinalização luminosa e a estante foi retirada do aparelho, onde ficaram apenas os cartões (com as leveduras absorvidas neles) incubados a 35,5°C por aproximadamente 18 horas a 24 horas para leitura final.

Os dados indicaram as reações típicas das espécies em questão e as reações bioquímicas de diferenciação foram classificadas como excelentes pelo aparelho, que fornece avaliação da qualidade de cada teste realizado (Manual do Vitek 2® System, BioMérieux®, Marcy L'Etoile, França, 2010).

Os valores de referência utilizados para interpretação dos resultados com relação aos azoles (fluconazol e voriconazol) foram os mesmos utilizados para microdiluição em caldo, segue padronização do CLSI – M27 – A3, S4 (suplemento 4) publicado em 2012, que classifica cada espécie de *Candida* como sensível (S), sensível dose dependente (SDD) ou Resistente (R), dependendo da MIC (concentração inibitória mínima) de cada espécie obtida em relação a cada antifúngico testado (Tabela 1).

Quanto a Anfotericina B, considera-se Sensível quando MIC for menor ou igual a um (1 µg/ml ) e Resistente quando MIC for maior ou igual a dois (2 µg/ml ), segundo orientação de M. Hong Nguyen *et al.* (1998) e Arnaldo Lopes Colombo *et al.* (2013).

#### 4.5.2 Microdiluição em Caldo

O teste de microdiluição (MD) *in vitro*, foi utilizado para confirmação do perfil de susceptibilidade diminuído, apresentado por alguns isolados, em relação ao Fluconazol, no aparelho Vitek 2. Foi realizado de acordo com a padronização publicada pelo NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*), atual CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), documento M27-A3 - em 2008.

Foi testado o Fluconazol (Pfizer), com o meio de cultura RPMI-1640 (Vitrocell). A suspensão de leveduras foi ajustada para obter a concentração final de  $0,5 \times 10^3$  células/ml (Escala de McFarland Probac®) e do cartão de Wickerhan; o teste foi realizado em microplacas de 96 poços; a incubação a 35°C por 24 e 48 horas.

##### 4.5.2.1 - Preparo da solução estoque (solução mãe) de fluconazol

Para o preparo da solução estoque foi utilizado o fluconazol na forma de pó. Este foi pesado em balança analítica de precisão a fim de minimizar possíveis erros. Após a pesagem, foi dissolvido em água estéril. A fórmula abaixo determinou o peso do fluconazol em pó necessário para se obter uma solução mãe com concentração 5120µg/mL. Potência do fluconazol = 980 µg/mg. Volume pretendido = 1000 ml. Formou-se a seguinte equação:

$$\text{Peso (mg)} = \frac{\text{Volume solvente (mL)} \times \text{Concentração solução estoque (}\mu\text{g/mL)}}{\text{Potência da substância antifúngica (}\mu\text{g/mg)}}$$

Após a solubilização das drogas, as mesmas foram transferidas para criotubos de 2mL e armazenadas a -20°C até sua utilização (CLSI-M27-A3, 2008).



#### 4.5.2.2 - Meio de Cultura

O meio utilizado foi o RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) 1640 com glutamina e 0,165mM de MOPS (ácido 3-[N-morfolino] propanosulfônico), sem bicarbonato e antibiótico e com indicador vermelho de fenol, recomendado pelo documento M27-A3. Trata-se de um caldo de cor laranja, estabilizado em pH 7,0 e composto por uma mistura de sais enriquecidos com aminoácidos, vitaminas e outros componentes essenciais para o crescimento celular. O meio foi adquirido comercialmente (Vitrocell ®) e mantido em geladeira.

#### 4.5.2.3 - Preparo das placas com fluconazol (Fz)

A solução estoque de Fz (5120µg/mL) foi descongelada à temperatura ambiente para posterior diluição. Foi feita uma série de diluições em razão 2, partindo das soluções mãe de Fz estocadas (Figura 1). Após o término das diluições, foram obtidas soluções com concentrações finais que variaram de 0,25 a 128 µg/mL. As soluções finais de Fz foram aplicadas nas placas de microtitulação de fundo plano, contendo 96 orifícios.

As 10 concentrações do antifúngico foram dispensadas no sentido vertical das placas, nos poços das colunas 2 a 11, nesta sequência: 100µL da menor concentração final de Fz (tubo 10 com 0,25µg/mL) foram pipetados em cada um dos 8 orifícios da coluna 11; 100µL da concentração do tubo 9 (0,5µg/mL) nos poços da coluna 10 e assim por diante. A coluna 2 foi a última a ser preenchida com 100µL em cada poço da maior concentração da droga (tubo 1 com 128µg/mL). Não foi aplicado antifúngico nas colunas 1 e 12 destinadas ao controle negativo (CN) e controle positivo (CP), respectivamente (Figura 2) .

Finalizando, as placas foram vedadas com filme plástico (parafilme), tampadas e identificadas com o nome do antifúngico, data de preparo e lote do RPMI. Em seguida foram acondicionadas em sacos plásticos e congeladas a -20°C.

#### 4.5.2.4 - Preparo do inóculo das leveduras

Cerca de dez dias antes de realizar o antifungigrama, cada amostra de *Candida* estocada a - 20°C foi descongelada e semeada em placa de ágar Sabouraud-dextrose (ASD, Difco®). Após crescimento em placa, colônias isoladas foram repicadas para tubos de rosca contendo ASD e estocadas na micoteca à temperatura ambiente. A partir das culturas crescidas nos tubos, realizou-se uma subcultura (repique) dos microrganismos em placas contendo ASD e incubou-se em estufa a temperatura de 35° C. 24 horas antes da realização do teste.

O inóculo foi semeado escolhendo-se de uma a cinco colônias puras (isoladas) nas placas de ASD. Os isolados foram então suspensos em 5mL de solução fisiológica estéril contida em tubos de ensaios, homogeneizados em agitador de vórtex durante 15 segundos e a densidade celular ajustada com a ajuda da escala 0,5 de McFarland (Probac®) e do cartão de Wickerhan. Esse procedimento forneceu uma suspensão-padrão de levedura contendo aproximadamente  $1 \times 10^6$  a  $5 \times 10^6$  unidades formadoras de colônia (UFC) por mililitro.

Em sequência, a “suspensão 1” foi diluída em meio RPMI numa proporção de 1:50, ou seja, 100µL da suspensão 1 foram adicionados a um tubo de ensaio contendo 4,9mL de RPMI. Homogeneizou-se por 15 segundos com a ajuda do agitador. Esta segunda suspensão foi determinada “suspensão 2”.

Finalizando as diluições do inóculo, foi retirado 500µL da suspensão 2 e dispensados em um tubo de ensaio com 9,5mL de RPMI (diluição 1:20). Esta última diluição (1:20) denominou-se “suspensão 3” e continha cerca de  $1 \times 10^3$  a  $5 \times 10^3$  UFC/mL (Figura 3).

#### 4.5.2.5 - Execução do antifungigrama

A “suspensão 3” foi aplicada nas microplacas que já continham o antifúngico. O inóculo foi vertido no reservatório em “V” estéril e transferido com auxílio de pipeta multicanal (utilizado 11 ponteiras) para as linhas A e B das microplacas com antifúngico. Foi pipetado 100µL do inóculo em cada um dos 11

orifícios nas linhas A e B entre as colunas 12 a 2 (coluna 1 foi destinada ao controle de esterilidade do meio RPMI). Outro inóculo foi adicionado às linhas C e D de cada placa, nas linhas E e F foi aplicada outra levedura e as linhas G e H reservadas para colocar as cepas do controle de qualidade American Type Culture Collection (ATCC): *C. krusei* (ATCC 6258) e *C. parapsilosis* (ATCC 22019).

As cepas de controle de qualidade *C. krusei* (ATCC 6258) e *C. parapsilosis* (ATCC 22019) foram fornecidas pelo Laboratório Central de Mato Grosso do Sul (LACEN-MS) e adicionadas às placas para comparação. Nas colunas 12 (que contém 100µL de inóculo de levedura - positivo) foi adicionado mais 100µL de meio RPMI e à coluna 1 (controle de esterilidade - negativo) 200µL do mesmo meio. Desta forma, todos os orifícios ficaram com um volume final de 200µL.

Ao adicionar 100µL do inóculo nos orifícios que já continham 100µL do antifúngico realizou-se uma diluição 1:2 de ambos. Assim, chegou-se à concentração final desejada de inóculo ( $0,5 \times 10^3$  a  $2,5 \times 10^3$  UFC/mL) e de antifúngico (0,125 a 64µg/mL de Fz). As placas de antifungigrama foram incubadas a 35°C por 24 horas. Todo o procedimento foi realizado em cabine de segurança biológica.

#### 4.5.2.6 - Leitura e interpretação dos resultados

A concentração inibitória mínima (CIM = MIC) foi definida como a menor concentração do antifúngico capaz de promover 50% de inibição para os azólicos, ou seja, uma redução de 50% ou mais no crescimento da levedura se comparado com crescimento livre de antifúngico (coluna 12 ou controle positivo).

Os resultados são expressos em: sensível (S), sensível dependente da dose (SDD) e resistente (R). Os pontos de corte para a classificação das leveduras, ou seja, os valores de referência utilizados para interpretação da CIM ou MIC foram baseados no Suplemento 4 do CLSI publicado em 2012 e foram consideradas as leituras após 24 horas de incubação, como descrito neste protocolo (Tabela 1).

## PREPARO DAS PLACAS DE FLUCONAZOL (SOLÚVEL EM ÁGUA)

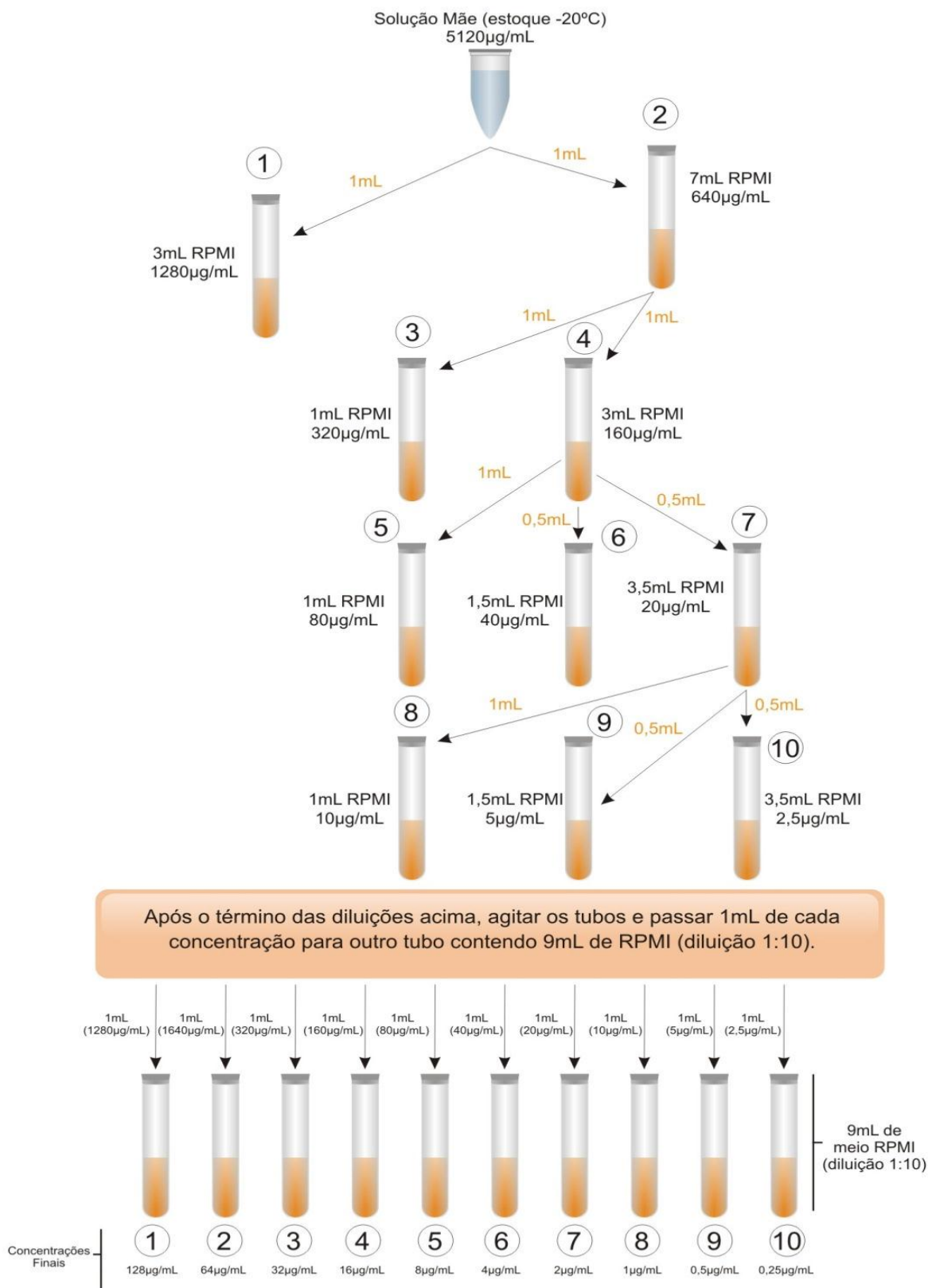
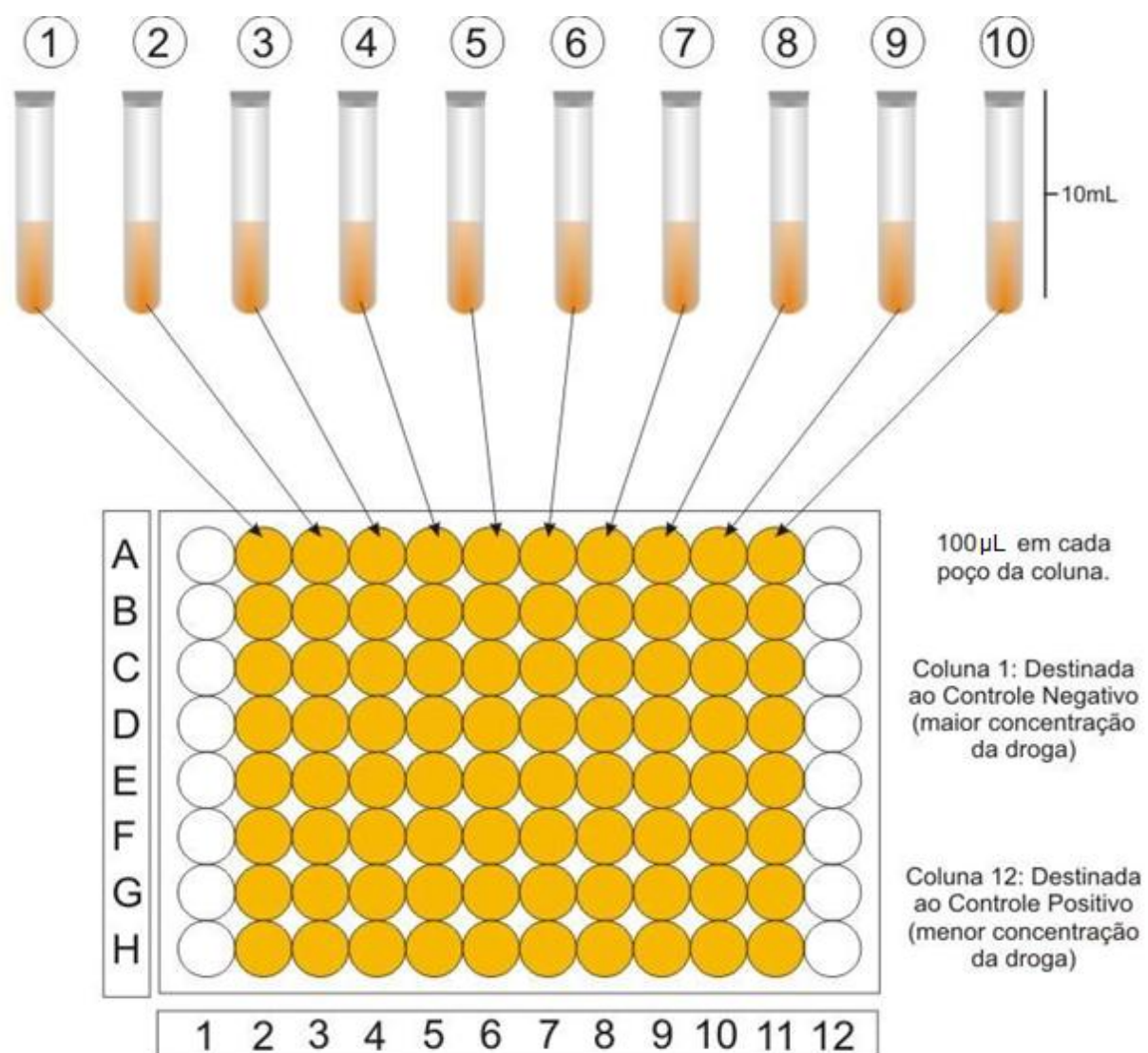
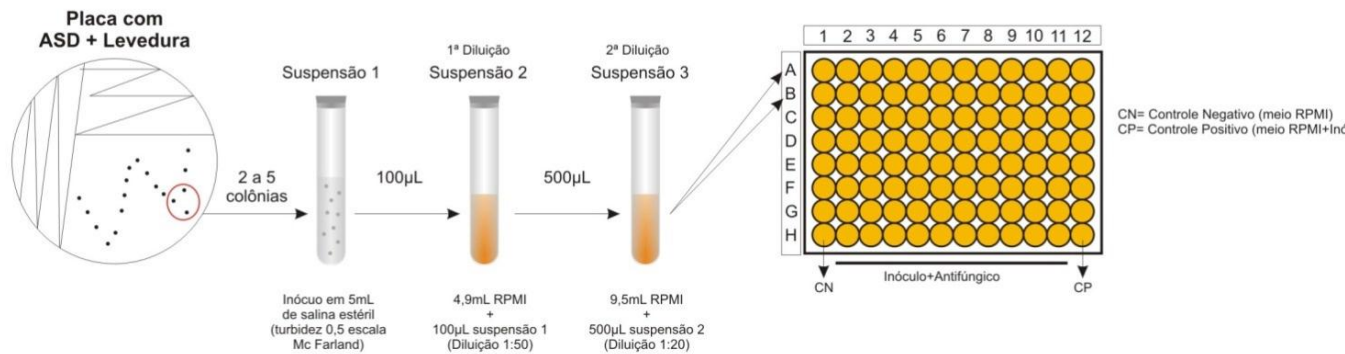


Figura 1 - Fluxograma do preparo das diluições do fluconazol - M27-A3-CLSI-2008 (NUNES, 2009).



**Figura 2** - Desenho esquemático da distribuição dos antifúngicos nas microplacas - M27-A3-CLSI-2008 (NUNES, 2009).

## PREPARO DO INÓCULO



**Figura 3** - Desenho esquemático do preparo do inóculo de leveduras para o teste de microdiluição em caldo - M27-A3-CLSI-2008 (NUNES,2009).

A Concentração do fluconazol nas colunas das placas após adicionar o inóculo de levedura ( $\mu\text{g/mL}$ ) foi a seguinte:

Coluna 1=controle negativo (controle de esterilidade do meio RPMI), Coluna 2=64, coluna 3=32, coluna 4=16, coluna 5=8, coluna 6=4, coluna 7=2, coluna 8=1, coluna 9=0,5, coluna 10=0,25, coluna 11=0,125, coluna 12=controle positivo (100 $\mu\text{L}$  de inóculo de levedura mais 100 $\mu\text{L}$  de meio RPMI).

**Tabela 1** – Valores de referência para testes de Susceptibilidade In Vitro de *Candida spp* e respectivos valores de Concentração Inibitória Mínima (MIC) referente aos Azoles após 24 horas de incubação (CLSI - M27- A3 - Suplemento 4 – 2012)

Agente antifúngico	Espécies	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )		
		S	SDD <sup>a</sup>	R
Fluconazol <sup>b</sup>	<i>C. albicans</i>	$\leq 2$	4	$\geq 8$
	<i>C. glabrata</i>	-	$\leq 32$	$\geq 64$
	<i>C. krusei</i>	-	-	-
	<i>C. parapsilosis</i>	$\leq 2$	4	$\geq 8$
	<i>C. tropicalis</i>	$\leq 2$	4	$\geq 8$
Voriconazol <sup>c,d</sup>	<i>C. albicans</i>	$\leq 0.12$	0.25-0.5	$\geq 1$
	<i>C. glabrata</i>	-	-	-
	<i>C. krusei</i>	$\leq 0,5$	1	$\geq 2$
	<i>C. parapsilosis</i>	$\leq 0.12$	0.25-0.5	$\geq 1$
	<i>C. tropicalis</i>	$\leq 0.12$	0.25-0.5	$\geq 1$

S=Sensível, SDD=Sensível dose dependente, R=Resistente. MIC=Concentração Inibitória Mínima.

Quanto a Anfotericina B, devido a falta de consenso sobre a definição do MIC, para este estudo adota-se a orientação de M. Hong Nguyen *et al.* (1998), que sugere que MICs  $\leq 1$   $\mu\text{g/ml}$  são considerados sensíveis e aqueles  $> 1$   $\mu\text{g/ml}$  são considerados resistentes (COLOMBO *et al.*, 2013).

#### **4.6 Processamento de dados e análise estatística dos resultados**

Os resultados laboratoriais e os dados coletados foram lançados em planilha do *software Microsoft Excel 2010* e as tabelas e gráficos foram elaboradas com o *software Epi Info™7*. A análise estatística foi realizada com o *software Minitab* versão 14. Foi realizada análise descritiva dos pacientes (dados demográficos e clínicos) e avaliada a associação entre as variáveis significativas. Foram utilizados dois testes estatísticos: *Qui – quadrado* ( $\chi^2$ ) e *Teste Exato de Fisher*, sendo ambos aplicados com 95% de confiabilidade, relacionando as variáveis qualitativas e considerando significativa o *p value*  $< 0,05$ .

#### **4.7 Considerações éticas**

O Projeto foi aprovado pelo CEP-PROPP pelo parecer número 86663 de 30/08/2012 (Anexo A).

## 5 RESULTADOS

No período de maio de 2011 a abril de 2012, foram obtidas uroculturas positivas para *Candida* spp de 106 pacientes adultos internados no hospital do estudo. A idade dos pacientes variou de 19 a 93 anos, com mediana de 68 anos.

**Tabela 2** – Número e percentual de pacientes com candidúria segundo características demográficas e setor de internação. Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Maio de 2011 a abril de 2012 (n=106).

Características	N	%
Sexo		
Masculino	48	45,3
Feminino	58	54,7
Idade		
18 anos – 30 anos	12	11,3
31 anos – 60 anos	25	23,6
> 60 anos	69	65,1
Setor de internação		
Pronto Atendimento	33	31,1
Unidade de Terapia Intensiva	33	31,1
Clínica Médica	20	19,0
Unidade Coronariana/RCPO	8	7,5
Clínicas Cirúrgicas	5	4,7
Maternidade	4	3,8
Doenças Infecciosas e Parasitárias	2	1,9
Unidade Renal	1	0,9

RCPO: Recuperação Cardíaca de Pós Operatório.

O exame da sedimentoscopia urinária, 84,9% das amostras foi observada leucocitúria no sedimento urinário (>6 p/c), 98,1% das amostras apresentaram leveduras no sedimento e 86,8% resultaram em número de colônias maior ou igual a 100.000 UFC/ml (Tabela 3).



**Tabela 3** – Número e percentual de pacientes com candidúria segundo número de leucócitos/ campo, contagem de colônias e visualização de levedura na sedimentoscopia. Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Maio de 2011 a abril de 2012 (n=106)

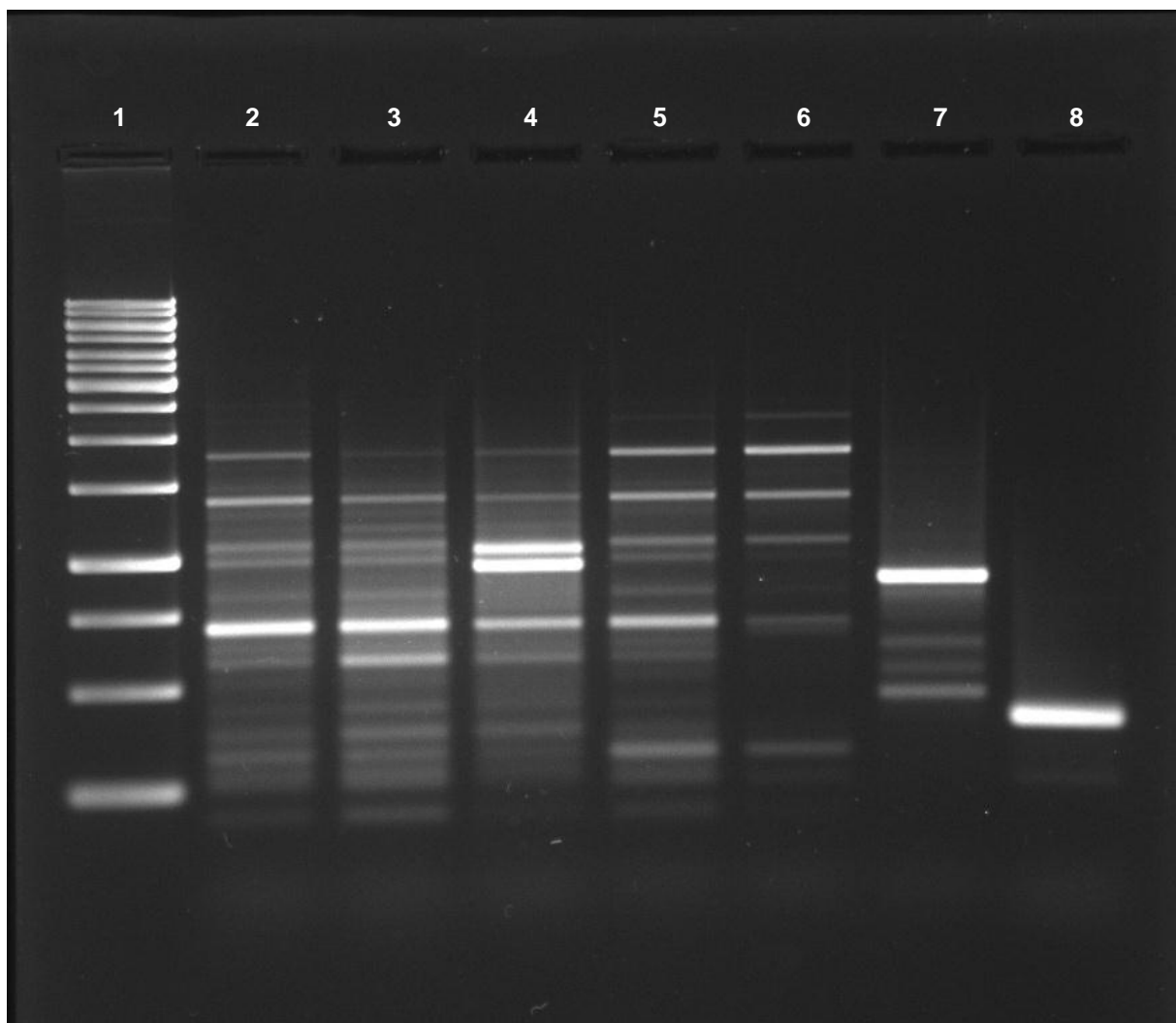
<b>Exame de urina</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Nº de leucócitos/ campo		
0-5	15	14,2
6 a 50	54	50,9
>50	36	34,0
Não realizado	1	0,9
Unidades Formadoras de Colônias/mL		
1.000 a 2.000	2	1,9
30.000 a 90.000	12	11,3
≥ 100.000	92	86,8
Levedura na urina		
Ausente	2	1,9
1+ ou 2+	44	41,5
>2+	60	56,6

Predominaram as espécies *Candida*-não-*albicans* (60,37%) em relação as *C.albicans* (39,6%) (Tabela 4).

**Tabela 4** – Frequência das espécies de *Candida* isoladas de urina de pacientes adultos internados. Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Maio de 2011 a abril de 2012 (n=106)

<b>Espécie</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<i>Candida albicans</i>	42	39,6
<i>Candida</i> não <i>albicans</i>	64	60,4
<i>Candida tropicalis</i>	33	31,1
<i>Candida glabrata</i>	18	17,0
<i>Candida krusei</i>	5	4,7
<i>Candida parapsilosis</i>	4	3,8
<i>Candida kefyr</i>	2	1,9
<i>Candida guilliermondii</i>	1	0,9
<i>Candida lusitanae</i>	1	0,9

As quatro amostras de *Candida parapsilosis* foram identificadas como *Candida parapsilosis strictu sensu* após realização da metodologia RAPD. Na figura em sequência, observa-se na primeira linha está o Marcador Molecular (100 pb), no 2,3,4 e 5, amostras de *Candida parapsilosis strictu sensu* e no 6, 7 e 8 as ATCCs de *C. parapsilosis* (ATCC 22019), *C. orthopsilosis* (ATCC 96141) e *C. metapsilosis* (ATCC 96143) respectivamente (Figura 4):



**Figura 4** - Método de RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), para diferenciação das espécies do complexo *C. parapsilosis*.

A espécie *C. albicans* predominou entre pacientes com idade menor de 60 anos (54,1%) e com mais de 60 anos, predominaram as espécies *C. não albicans* (68,1%) (Tabela 5).

**Tabela 5** - Casos de candidúria em adultos internados distribuídos por espécie de *Candida* e por faixa etária. Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Maio de 2011 a abril de 2012 (n=106)

Espécie	<= 60 anos		> 60 anos		Total	
	N	%	N	%	N	%
<i>Candida albicans</i>	20	54,1 <sup>a</sup>	22	31,9 <sup>a</sup>	42	39,6
<i>Candida não albicans</i>	17	45,9 <sup>b</sup>	47	68,1 <sup>b</sup>	64	60,4
<i>Candida tropicalis</i>	9	24,3 <sup>c</sup>	24	34,8 <sup>c</sup>	33	31,1
<i>Candida glabrata</i>	5	13,5 <sup>d</sup>	13	18,8 <sup>d</sup>	18	17,0
<i>Candida krusei</i>	1	2,7	4	5,8	5	4,7
<i>Candida parapsilosis</i>	1	2,7	3	4,3	4	3,8
<i>Candida kefyr</i>	1	2,7	1	1,4	2	1,9
<i>Candida guilliermondii</i>	0	0,0	1	1,4	1	0,9
<i>Candida lusitanae</i>	0	0,0	1	1,4	1	0,9

Teste Qui Quadrado : a X b  $p = 0,026$ ; a X c  $p=0,039$ ; a X d  $p=0,083$ ; c X d  $p = 0,480$

Foi constatado que 83,3% dos pacientes com *C.glabrata* foram provenientes do PAM/CTI e apenas 16,7% foram de outros setores do hospital. (Tabela 6).

**Tabela 6** - Casos de candidúria por *Candida glabrata* em adultos internados segundo as variáveis estudadas. Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Maio 2011 a Abril 2012 (n=106).

Variáveis	<i>Candida glabrata</i>				p
	Não n	%	Sim n	%	
Setor					
PAM/CTI	51	58,0	15	83,3	<b>0,043</b>
Outros	37	42,0	3	16,7	
Idade>60					
Não	32	36,4	5	27,8	<b>0,486</b>
Sim	56	63,6	13	72,2	
Sexo					
Feminino	49	55,7	9	50,0	<b>0,659</b>
Masculino	39	44,3	9	50,0	
UFC/ml					
>100.000	75	85,2	17	94,4	<b>0,456*</b>
≤ 100.000	13	14,8	1	5,6	
Leucócitos>5					
Não	13	14,9	2	11,1	<b>1,000*</b>
Sim	74	85,1	16	88,9	

Teste Qui Quadrado e \* Teste Exato de Fisher. UFC/ml = Unidades formadoras de colônias/ml. PAM = Pronto Atendimento Médico. CTI = Centro de Terapia Intensiva.

As espécies de *Candida* foram classificadas como S (Sensível), SDD (Sensível Dose Dependente) e R (Resistente) em relação aos três antifúngicos (Anfotericina B, fluconazol e voriconazol). As amostras de *C. albicans*, *Candida tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr*, *Candida guilliermondii* e *C. lusitaniae* apresentaram MIC  $\leq 2\mu\text{g/mL}$  para fluconazol (100% sensíveis). Todos os isolados apresentaram MIC  $\leq 1\ \mu\text{g/ml}$  para Anfotericina B, sendo considerados sensíveis, assim como para o voriconazol, todos com MIC  $\leq 0,012$ .

Foi isolada uma espécie de *C. glabrata* classificada como R (1/18; 5,6%), que apresentou MIC  $> 64\mu\text{g/mL}$ . As demais espécies de *C. glabrata* foram classificadas como SDD (17/18, 94,4%), sendo que quatro delas (22,2%) apresentaram MIC=4, onze (61,1%) MIC=8 e duas (11,1%) com MIC=16. Nenhuma *C. glabrata* foi totalmente sensível ao Fluconazol. Por outro lado, todos os isolados (100%) foram sensíveis à Anfotericina B e ao Voriconazol (Tabela 7).

**Tabela 7** – Susceptibilidade de espécies de *Candida spp* aos antifúngicos (CLSI-M27-A3-S4) de isolados de urina de adultos internados. Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Maio 2011 a Abril 2012 (n=106)

Espécies de <i>Candida</i> (n)	Anfotericina B (%)			Fluconazol (%)			Voriconazol (%)		
	R	SDD	S*	R	SDD	S**	R	SDD	S***
<i>Candida albicans</i> (42)	0	0	100	0	0	100	0	0	100
<i>Candida tropicalis</i> (33)	0	0	100	0	0	100	0	0	100
<i>Candida glabrata</i> (18)	0	0	100	5,6 <sup>(a)</sup>	94,4 <sup>(b)</sup>	0	0	0	100
<i>Candida krusei</i> (5)	0	0	100	100	0	0	0	0	100
<i>Candida parapsilosis</i> (4)	0	0	100	0	0	100	0	0	100
<i>Candida kefyr</i> (2)	0	0	100	0	0	100	0	0	100
<i>Candida guilliermondii</i> (1)	0	0	100	0	0	100	0	0	100
<i>Candida lusitaniae</i> (1)	0	0	100	0	0	100	0	0	100

R= resistente; SDD= sensível dose dependente; S= sensível. \* (MIC  $\leq 1$ ); \*\* (MIC  $\leq 2$ ), \*\*\* (MIC  $\leq 0,12$ ); <sup>(a)</sup> (MIC  $> 64$ ); <sup>(b)</sup> (MIC  $\leq 32$ ).

A análise estatística em relação a sensibilidade ao Fluconazol, revelou que, dos episódios Resistente/SDD, 78,3% das amostras foram de *C. glabrata* e 21,7% foram de *C. krusei* ( $p < 0,001$ ). De todas as variáveis analisadas, apenas as 3 espécies

(*C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*) tiveram associação significativa com a sensibilidade ao Fluconazol ( $p < 0,01$ ), através do Teste Qui-quadrado e Teste Exato de Fisher - (Tabela 8).

**Tabela 8** - Casos de candidúria em adultos internados segundo as variáveis estudadas e a sensibilidade ao Fluconazol. Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Maio 2011 a Abril 2012 (n=106).

Variáveis		Grupo Resistente/SDD		Sensível		p
		n=23		n=83		
		n	%	n	%	
Setor	PAM/CTI	18	78,3	48	57,8	<b>0,074</b>
	Outros	5	21,7	35	42,2	
Idade > 60	Não	6	26,1	31	37,3	<b>0,316</b>
	Sim	17	73,9	52	62,7	
Sexo	Feminino	14	60,9	44	53,0	<b>0,503</b>
	Masculino	9	39,1	39	47,0	
<i>C.albicans</i>	Não	23	100,0	41	49,4	<b>&lt; 0,001</b>
	Sim	0	0,0	42	50,6	
<i>C.tropicalis</i>	Não	23	100,0	50	60,2	<b>&lt; 0,001</b>
	Sim	0	0,0	33	39,8	
<i>C.glabrata</i>	Não	5	21,7	83	100,0	<b>&lt; 0,001*</b>
	Sim	18	78,3	0	0,0	
UFC/ml	> 100	22	95,7	70	84,3	<b>0,294*</b>
	≤ 100	1	4,3	13	15,7	
Leucócitos > 5	Não	2	9,1	13	15,7	<b>0,732</b>
	Sim	20	90,9	70	84,3	

Teste Qui Quadrado e \* Teste Exato de Fisher PAM = Pronto Atendimento Médico; CTI = Centro de Terapia Intensiva; UFC/ml = Unidades formadoras de colônias/ml.

## 6 DISCUSSÃO

Candidúria pode significar contaminação do material biológico, colonização do trato urinário, doença invasiva localizada ou disseminada por *Candida spp* ou, a formação de bola fúngica no trato urinário. Esse achado, não raras vezes, é o único indicativo de infecção localizada ou sistêmica entre pacientes graves, tendo em vista a dificuldade do diagnóstico de candidemia no sangue. A detecção precoce promove o tratamento em tempo hábil, especialmente entre recém-nascidos, pacientes críticos e idosos (BINELLI *et al.*, 2006; CHARLES *et al.*, 2005; COLOMBO *et al.*, 2013; ERDEM *et al.*, 2012; MAGIL *et al.*, 2006; PELZ *et al.*, 2001; PITTET *et al.*, 1994; SINGLA *et al.*, 2012; SOBEL *et al.*, 2011).

Binelli *et al.* (2006), realizaram estudo em hospital terciário de São Paulo, Brasil e demonstraram por meio de métodos moleculares, que os isolados de *Candida spp* do sangue e da urina eram idênticos, sendo significativa a associação entre candidemia e candidúria. Huang e Kugathasan (2013) também verificaram associação biológica estatisticamente significativa entre *C. albicans* proveniente de candidemia e de candidúria pela correlação do genótipo molecular de 33 pares de *C. albicans* isolados do sangue e da urina dos pacientes. Essa associação implica que outras espécies de *Candida* podem ter resultados similares. Os achados sugerem que pacientes com candidúria têm risco elevado de apresentar candidemia.

O presente estudo, com base nesses achados, corroborou a importância da investigação da candidúria, especialmente em pacientes críticos (62,2% PAM/CTI). Tanto o PAM quanto o CTI são locais de internação de pacientes graves, que devem ser rigorosamente monitorados, inclusive com cateter vesical para controle de diurese. A longa permanência hospitalar estende proporcionalmente os riscos de colonização, infecção localizada e/ou disseminada, e conseqüentemente, de mortalidade. A urocultura para fungos, visando à detecção de espécies de *Candida*, reduz o tempo de diagnóstico e colabora com as chances terapêuticas do paciente, principalmente os críticos e/ou em uso de suportes que favoreçam a contaminação por contato (CHARLES *et al.*, 2005; COLOMBO e GUIMARAES, 2007; KLOTZ *et al.*, 2007; MAGILL *et al.*, 2006; PITTET *et al.*, 1994; SOBEL, 2001; ZAOUTIS *et al.*, 2005).

Durante o período estudado, o quadro de candidúria foi mais frequente em pacientes com mais de 60 anos (65,1%). Idosos apresentam maior predisposição à candidúria em decorrência de fatores imunológicos, maior propensão a longas internações em setores críticos e necessidade de fazer uso de cateter urinário e outros procedimentos de risco (COLODNER *et al.*, 2008; COLOMBO *et al.*, 2013; FRAISSE *et al.*, 2011; KAUFFMAN, 2014; VALENZA *et al.*, 2008).

Sabe-se que a ITU por *Candida* em pacientes hospitalizados é mais frequente em idosos e mulheres e este estudo também verificou um número maior de mulheres com quadro de candidúria (54,7%), porém sem diferença estatística. Até 30% das mulheres sadias podem apresentar colonização vulvovaginal persistente por *Candida sp.*, que facilitada pela anatomia feminina, estas leveduras podem ascender para a bexiga e rins, ocasionando a candidúria (ACHKAR e FRIES, 2010; COLODNER *et al.*, 2008; KAUFFMAN, 2014; MAGIL *et al.*, 2006; MORACE; BORGHI, 2010; SOBEL *et al.*, 2000). O homem idoso também apresenta predisposição a candidúria em decorrência da alta prevalência de hipertrofia prostática benigna, que, por dificultar o esvaziamento vesical, favorece a colonização por bactérias e leveduras (HEILBERG *et al.*, 2003; NISHIURA *et al.*, 1995).

Em 85% das amostras, observou-se leucocitúria (>6 leucócitos/campo) no sedimento e em 98,1%, as leveduras puderam ser visualizadas à microscopia. Na presença de ITU por *Candida*, o sedimento urinário usualmente apresenta leucócitos, leveduras, pseudo-hifas e debris necróticos, entretanto, a ausência de alteração do material não elimina a possibilidade de infecção fúngica, sendo frequente nos casos em que a candidúria é secundária à infecção sistêmica (ANG *et al.*, 1993; COLOMBO *et al.*, 2013).

No presente estudo, 98,1% das colônias apresentaram índice maior que 30.000 UFC/ml e 86,8% resultaram em número de colônias maior ou igual a 100.000 UFC/ml. Para efeito de vigilância das comissões de controle de infecção hospitalar (CCIH), a definição operacional de infecção urinária por *Candida* mais utilizada é a mesma aplicada à infecção bacteriana, ou seja, a presença de mais de 100.000 UFC/mL de *Candida sp* em pacientes sintomáticos. Porém, há ausência de consenso, já que valores inferiores podem indicar tanto contaminação, colonização ou infecção, dependendo das condições clínicas do paciente (COLOMBO e GUIMARÃES, 2007; FISHER, 2011; GARNER *et al.*, 1998; SOBEL, 2002).

O aumento da prevalência de CNA como causa de infecção em ambiente hospitalar vem sendo observado no mundo todo e este fenômeno não se mostrou diferente na região investigada, sendo que a soma das espécies CNA (60,4%) foi predominante em relação as CA (39,6%) (CHANG *et al.*, 2008; COLOMBO; GUIMARÃES, 2007; KLOTZ *et al.*, 2007; NUCCI *et al.*, 2010).

Não foi realizada a biologia molecular para diferenciação entre *C. albicans* e *C. dubliniensis*, tendo em vista que esta última responde por menos de 2% das candidíases, possui pequena capacidade de produzir hifas e pequeno potencial de colonização e invasão de tecidos. *C. albicans* é considerada, por alguns autores, mais patogênica que a *C. dubliniensis*. Esta diferenciação caberá a outro trabalho específico em biologia molecular, pois é o único método capaz de diferenciá-las definitivamente, devido a suas semelhanças genéticas (KRCMERY *et al.*, 2002; MCMANUS *et al.*, 2008; SULLIVAN *et al.*, 2005).

A linha de investigação do estudo mostrou que as três espécies predominantes foram *C. albicans* (39,6%), *C. tropicalis* (31,1%) e *C. glabrata* (17%), confirmando os achados nacionais, que revelam que essas são as três espécies mais prevalentes isoladas de urina em pacientes hospitalizados. As prevalências encontradas de *C. albicans* têm variado de 35,5 a 70%; de *C. tropicalis* de 4,6 a 52,5%; e, de *C. glabrata* de 7,0 a 8,8%. Esta última, no presente estudo, ultrapassou em dobro os percentuais encontrados em pesquisas realizadas no Brasil. Há necessidade de mais estudos referentes a esta espécie, tendo em vista o aumento da prevalência e diminuição de sua sensibilidade frente ao Fluconazol, observados em âmbito mundial (COLOMBO e GUIMARÃES, 2007; KAUFFMAN, 2014; KOBAYASHI *et al.*, 2004; NUCCI, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2001; PASSOS *et al.*, 2005).

A espécie *C. albicans* predominou entre pacientes com idade até 60 anos (54,1%). Neste grupo de pacientes a *C. tropicalis* ficou em segundo lugar (24,3%) e *C. glabrata* (13,5 %) em terceiro. Somadas CNA nestes pacientes foram 45,9%. Dos pacientes com mais de 60 anos, predominaram *C. tropicalis* (34,8%), *C. albicans* (31,9%) e *C. glabrata* (18,8%). Em pacientes com mais de 60 anos, houve predomínio significativo das CNA. É provável que esta condição se deva ao aumento da prevalência de casos de CNA de um modo geral no cenário hospitalar e a maior probabilidade dos pacientes com mais de 60 anos a apresentarem internações mais frequentes ou duradouras, sendo mais predispostos a procedimentos invasivos e de



manutenção, facilitando assim, o ingresso destas espécies ao organismo (DIEKEMA *et al.*, 2002; MALANI *et al.*, 2005; PFALLER *et al.*, 2010).

Estudos anteriores apontam *C. tropicalis* como a espécie de CNA mais prevalente e emergente no mundo atual. (KOTHAVADE *et al.*, 2010; MALANI *et al.*, 2005). Foi demonstrado, na Índia que *C. tropicalis* predominou em relação às demais *Candida spp.* em isolados de amostras clínicas em pacientes críticos de trauma. Trata-se de uma espécie que se mostra prevalente em pacientes críticos traumatizados e com doenças crônicas degenerativas (JAIN *et al.*, 2012). Outro estudo, também na Índia, a *C. tropicalis* foi a mais isolada (57,33%) em amostras de urinas de pacientes de CTI (SINGLA *et al.*, 2012). Essa espécie predominou (34%) nas análises de urinas de pacientes diabéticos, também na Índia (PANDEY e PANDEY, 2013).

A *C. glabrata* é outra espécie CNA que vem despontando mundialmente como a espécie que causa maior mortalidade. Constitui a segunda ou terceira espécie mais isolada de hemoculturas na América do Norte e ocorre mais frequentemente em idosos. Sua variação geográfica pelo mundo pode ter ligação com fatores predisponentes como o uso de azólicos, idade avançada e doenças de base. Estudos mostraram que a fungemia por *C. glabrata* foi alta em pacientes com mais de 60 anos e a taxa de mortalidade aumentou proporcionalmente com o avanço da idade. (AQUINO *et al.*, 2005; DIEKEMA *et al.*, 2007; DIEKEMA *et al.*, 2002; MALANI *et al.*, 2005; SLAVIN *et al.*, 2010).

Foi significativa a relação entre *C. glabrata* e a não sensibilidade ao fluconazol, ou seja, 100% dos isolados dessa espécie foram SDD ou resistentes a droga e 83,3% foram provenientes dos setores de emergência – Pronto Atendimento Médico (PAM) e Centro de Terapia Intensiva (CTI). Estudos de susceptibilidade a antifúngicos devem ser realizados quando *C. glabrata* for isolada. Na minoria dos casos, pode ser susceptível fluconazol e este poderá ser utilizado, mas quando resistente, outras opções de antifúngicos serão necessários ao tratamento (KAUFFMAN, 2014).

Em nosso estudo, verificamos que as MICs do Fluconazol que inibiram *C. glabrata in vitro* variaram de 4ug/ml a  $\geq 64$ ug/ml, sendo que a MIC que inibiu 90% dos isolados dessa espécie foi a 16ug/ml. Nos últimos anos, observa-se significativo aumento da MIC do Fluconazol em relação a *C. glabrata*. O primeiro estudo que documentou a emergência de *C. glabrata* como importante causa de fungemia na

América Latina, apontou que a MIC do Fluconazol era de 4ug/ml em 2005 e passou para 8ug/ml em 2007 (PASQUALOTTO *et al.*, 2008). Estudo realizado em 3 hospitais da Universidade da Pensilvânia, avaliou a MIC do fluconazol para *C.glabrata* e demonstrou que o uso prévio deste medicamento é um significativo fator de risco para que esta espécie se torne resistente ao mesmo (LEE *et al.*, 2009).

Como o fluconazol é a droga de escolha para a profilaxia e tratamento na maioria dos casos, por sua boa farmacocinética e baixa toxicidade se comparado aos demais antifúngicos disponíveis, o uso recorrente da droga sugere provável indução de resistência em isolados previamente sensíveis (AKINS, 2005; AQUINO *et al.*, 2005; FISHER *et al.*, 2011; KRIENGKAUYKIAT *et al.*, 2011; PELZ *et al.*, 2001; PFALLER *et al.*, 2004).

Nesta pesquisa, a *C. krusei* foi totalmente resistente (100%) ao Fluconazol e isso se deve a resistência intrínseca desta espécie a este antifúngico, que dificulta o tratamento de pacientes imunocomprometidos ou idosos. Nestes casos sugere-se o uso de Voriconazol e Equinocandinas, que tendem a apresentar efeito positivo no tratamento. Dos episódios R/SDD, 21,7% foram *C. krusei*, que, do ponto de vista clínico é significativo, pois estudos indicam que quanto maior a resistência das espécies aos antifúngicos, maior será a taxa de mortalidade associada. Outro ponto a ser observado é que pacientes que recebem tratamento com Fluconazol apresentam chances mais elevadas de infecção pela *C. krusei*. (HORN *et al.*, 2009; MEZZARI, 2004; PFALLER *et al.*, 2008; SLAVIN *et al.*, 2010).

A *C.parapsilosis*, não é causa frequente de infecção urinária, sendo demonstrado por um estudo na Itália, que apenas 0,9% dos isolados de urina de pacientes de um hospital da Brescia foram do Complexo *parapsilosis* (DE FRANCESCO *et al.*, 2007). No espaço brasileiro, pode incidir em praticamente todas as idades. Atinge especialmente neonatos, transplantados, pessoas em alimentação artificial parenteral e que receberam previamente terapias antifúngicas. Também a natureza do hospital não parece ser determinante, muito embora seja mais comum em hospitais públicos (COLOMBO *et al.*, 2013; COLOMBO *et al.*, 2006; COLOMBO *et al.*, 2007; COSTA *et al.*, 2000; GODOY *et al.*, 2003). *C.parapsilosis* tem excelente produção de biofilmes, mas é sensível à Anfotericina B e a derivados azólicos (KOC SUBÉ *et al.*, 2007; LEVIN *et al.*, 1998).

A *C.parapsilosis* é classificada em três grupos de acordo com estudos genéticos: *C. parapsilosis stricto sensu*, *C. orthopsilosis* e *C. metapsilosis* (KOCSUBÉ *et al.*, 2007; TAVANTI *et al.*, 2005). Estudo realizado na Universidade do Iowa revelou que dos isolados analisados, 91,3% foram de *C. parapsilosis stricto sensu*, 1,8% foram *C. orthopsilosis* e 0,8 % de *C. metapsilosis* (LOCKHART *et al*, 2008). Em nosso estudo, encontramos apenas 4 isolados de *C. parapsilosis* (3,8%), todas foram identificadas por biologia molecular, como *C. parapsilosis stricto sensu*, confirmando estudos anteriores.

Quanto a sua susceptibilidade, todos os isolados deste complexo foram sensíveis a anfotericina B, fluconazol e voriconazol. Estudos confirmam que a maioria delas é realmente sensível, não identificando *C. parapsilosis* como resistente (KAUFFMAN, 2014; KAUFMAN *et al*, 2001; PFALLER *et al.*, 2003). Entretanto, alguns estudos revelam a ocorrência de amostras resistentes. Estudo na Finlândia revelou curiosamente, que o uso a longo prazo, de fluconazol para controlar infecções por *C. parapsilosis*, eventualmente, conduziu ao surgimento de cepa resistente, que foi responsável por infecções cruzadas ao longo de um período de 12 anos (SARVIKIVI *et al.*, 2005).

A identificação das espécies é fundamental, pois muitos isolados de *C.glabrata* e todos os isolados de *C.krusei* são resistentes ao fluconazol. A maioria dos isolados de *C. albicans* , *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis* são sensíveis ao fluconazol, mas a resistência tem sido relatada em muitos estudos e testes de susceptibilidade a antifúngicos deveriam ser realizados rotineiramente para todas as espécies de *Candida* (KAUFFMAN, 2014).

## 7 CONCLUSÕES

O presente estudo, primeiro realizado no campo de pesquisa (NHU/UFMS) para análise dos casos de candidúria, teve resultados similares aos observados em outras pesquisas no Brasil, onde o agente mais frequente das candidúrias, no local e período estudado, foi a *C. albicans* (39,6%).

Houve predomínio de *Candida* não *albicans* (60,4%), considerando a soma das espécies. Dentre elas, por ordem de frequência foram encontradas *C.tropicalis*, *C.glabrata*, *C.krusei*, *C.parapsilosis*, *C.kefyr*, *C.guilliermondii* e *C.lusitaniae*.

As espécies *C. não albicans* foram significativamente mais comuns em idosos e a *C. glabrata* foi mais frequente em pacientes internados no PAM e CTI.

Observou-se elevado percentual de espécies *C. glabrata* SDD em relação ao fluconazol, fenômeno que vem sendo observado no mundo todo.

Todas as espécies apresentaram alto grau de sensibilidade frente a anfotericina B e voriconazol.

Enfim, o presente estudo, em âmbito local, deverá auxiliar no direcionamento da terapêutica dos pacientes do hospital estudado. Ajudará, mais amplamente, a compor o panorama nacional e mundial das espécies de *Candida spp* envolvidas nas candidúrias de pacientes internados, bem como de seu perfil de resistência.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS<sup>1</sup>

Abelha FJ, Castro MA, Landeiro NM, Neves AM, Santos CC. Mortalidade eo tempo de internação em uma unidade de terapia intensiva cirúrgica. *Rev Bras Anesthesiol.* 2006; 56(1):34-45.

Achkar JM, Fries BC. Candida infections of the genitourinary tract. *Clinical microbiology reviews.* 2010; 23(2):253-73.

Akins RA. An update on antifungal targets and mechanisms of resistance in *Candida albicans*. *Medical Mycology.* 2005; 43(4):285-318.

Alp S, Sancak B, Hascelik G, Arikan S. Influence of different susceptibility testing methods and media on determination of the relevant fluconazole minimum inhibitory concentrations for heavy trailing *Candida* isolates with low-high phenotype. *Mycoses.* 2010; 53(6):475-80.

Álvarez-Lerma F, Nolla-Salas J, León C, Palomar M, Jordá R, Carrasco N, et al. Candiduria in critically ill patients admitted to intensive care medical units. *Intensive care medicine.* 2003; 29(7):1069-76.

Ang B, Telenti A, King B, Steckelberg J, Wilson W. Candidemia from a urinary tract source: microbiological aspects and clinical significance. *Clinical infectious diseases.* 1993; 17(4):662-6.

Antunes AGV, Pasqualotto AC, Diaz MC, d'Azevedo PA, Severo LC. Candidemia in a Brazilian tertiary care hospital: species distribution and antifungal susceptibility patterns. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.* 2004; 46(5):239-41.

Aquino VR, Lunardi LW, Goldani LZ, Barth AL. Prevalência, perfil de suscetibilidade ao fluconazol e fatores de risco para candidemia em hospital terciário no sul do Brasil. *Revista HCPA Porto Alegre.* 2005.

Baddley JW, Moser SA. Emerging fungal resistance. *Clinics in laboratory medicine.* 2004; 24(3):721-35.

Barbedo L, Sgarbi D. Candidíase. *J Bras Doenças Sex Transm.* 2010;22(1):22-38.

Bernardes I, Rodrigues F, Poliana M, Bacelli GK, Munin E, Alves LP, et al. Aloe vera extract reduces both growth and germ tube formation by *Candida albicans*. *Mycoses.* 2012; 55(3):257-61.

---

<sup>1</sup> International Committee of Medical Journals Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals: writing and editing for biomedical publication, 2007. Disponível em: <http://www.icmje.org/index.html>. Acesso em 20 fev 2014.

Berrouane YF, Herwaldt LA, Pfaller MA. Trends in antifungal use and epidemiology of nosocomial yeast infections in a university hospital. *Journal of clinical microbiology*. 1999;37(3):531-7.

Binelli C, Moretti M, Assis R, Sauaia N, Menezes P, Ribeiro E, et al. Investigation of the possible association between nosocomial candiduria and candidaemia. *Clinical microbiology and infection*. 2006; 12(6):538-43.

Bobade O, Waghmare M, Chhabrani P, Kaur I. Species distribution and antifungal susceptibility profile of *Candida* isolated from urine samples. *International Journal of Medical Science and Public Health*. 2013; 2(4).

Bonfietti L, Szeszs M, Chang M, Martins M, Pukinskas S, Nunes M, et al. Ten-year study of species distribution and antifungal susceptibilities of *Candida* bloodstream isolates at a Brazilian tertiary hospital. *Mycopathologia*. 2012; 174(5-6):389-96.

Borst A, Fluit AC. High levels of hydrolytic enzymes secreted by *Candida albicans* isolates involved in respiratory infections. *Journal of medical microbiology*. 2003; 52(11):971-4.

Bougnoux M-E, Kac G, Aegerter P, d'Enfert C, Fagon J-Y. Candidemia and candiduria in critically ill patients admitted to intensive care units in France: incidence, molecular diversity, management and outcome. *Intensive care medicine*. 2008; 34(2):292-9.

Chang MR, Correia FP, Costa LC, Xavier PCN, Palhares DB, Taira DL, et al. *Candida* bloodstream infection: data from a teaching hospital in Mato Grosso do Sul, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 2008; 50(5):265-8.

Charles PE, Dalle F, Aube H, Doise JM, Quenot JP, Aho LS, et al. *Candida* spp. colonization significance in critically ill medical patients: a prospective study. *Intensive care medicine*. 2005; 31(3):393-400.

Cheng G, Yeater KM, Hoyer LL. Cellular and molecular biology of *Candida albicans* estrogen response. *Eukaryotic cell*. 2006; 5(1):180-91.

Chenoweth CE, Gould CV, Saint S. Diagnosis, Management, and Prevention of Catheter-Associated Urinary Tract Infections. *Infectious Disease Clinics of North America*. *Infec Dis Clin North America*. 2014, 28(1):105-119.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Approved standard-M27-A3-S3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008 .

Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Approved standard-M27-A3-S4. Wayne PA: Clinical and Laboratory Standards Institute 2012.

- Colodner R, Samra Z, Keller N, Sprecher H, Block C, Peled N, et al. First national surveillance of susceptibility of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. to antimicrobials in Israel. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2007; 57(2):201-5.
- Colodner R, Nuri Y, Chazan B, Raz R. Community-acquired and hospital-acquired candiduria: comparison of prevalence and clinical characteristics. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2008;27(4):301-5.
- Colombo AL, Nucci M, Salomão R, Branchini MLM, Richtmann R, Derossi A, et al. High rate of non- albicans candidemia in Brazilian tertiary care hospitals. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 1999; 34(4):281-6.
- Colombo AL, Guimarães T. Epidemiology of hematogenous infections due to *Candida* spp. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2003; 36(5):599-607.
- Colombo AL, Nucci M, Park BJ, Nouér SA, Arthington-Skaggs B, da Matta DA, et al. Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. *Journal of clinical microbiology*. 2006; 44(8):2816-23.
- Colombo AL, Guimarães T. Candiduria: a clinical and therapeutic approach. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2007; 40(3):332-7.
- Colombo AL, Guimarães T, Silva LR, Leila Paula de Almeida Monfardini M, Anna Karenine B Cunha M, Rady P, et al. Prospective observational study of candidemia in Sao Paulo, Brazil: incidence rate, epidemiology, and predictors of mortality. *Infection control and hospital epidemiology*. 2007; 28(5):570-6.
- Colombo AL, Guimaraes T, Carmargo LFA, Richtmann R, Queiroz-Terlles F, Salles MJC, Cunha CA, Yasuda MAS, Moretti ML, Nucci M. Tratamento das principais infecções causadas por *Candida* spp: relato de reunião conjunta de três sociedades médicas. *Braz J Infect Dis*. 2012; 16 (Supl.1): 1-43.
- Colombo AL, Garnica M, Aranha Camargo LF, Da Cunha CA, Bandeira AC, Borghi D, et al. *Candida glabrata*: an emerging pathogen in Brazilian tertiary care hospitals. *Medical Mycology*. 2013; 51(1):38-44.
- Costa S, Marinho I, Araujo E, Manrique A, Levin E. Nosocomial fungaemia: a 2-year prospective study. *Journal of Hospital Infection*. 2000; 45(1):69-72.
- Cotter G, Kavanagh K. Adherence mechanisms of *Candida albicans*. *British journal of biomedical science*. 1999; 57(3):241-9.
- Da Silva Castro, N., Barbosa, M. S., Maia, Z. A., Bão, S. N., Felipe, M. S. S., Santana, J. M., & de Almeida Soares, C. M.. "Characterization of *Paracoccidioides brasiliensis* PbDfg5p, a cell-wall protein implicated in filamentous growth." *Yeast*. 2008; 25.2: 141-154.

Da Silva ICO, Carvalho ATD, da Silva LBO. Leucoplasia: uma revisão de literatura. RGO. 2007; 55(3): 287-9.

De Francesco MA, Ravizzola G, Peroni L, Negrini R, Manca N. Urinary tract infections in Brescia, Italy: etiology of uropathogens and antimicrobial resistance of common uropathogens. Medical science monitor. 2007; 13(6).

Diekema D, Messer S, Brueggemann A, Coffman S, Doern G, Herwaldt L, et al. Epidemiology of candidemia: 3-year results from the emerging infections and the epidemiology of Iowa organisms study. Journal of clinical microbiology. 2002; 40(4):1298-302.

Diekema DJ, Messer SA, Hollis RJ, Boyken LB, Tendolkar S, Kroeger J, et al. Evaluation of Etest and disk diffusion methods compared with broth microdilution antifungal susceptibility testing of clinical isolates of *Candida* spp. against posaconazole. Journal of clinical microbiology. 2007; 45(6):1974-7.

Dignani M, Solomkin J, Anaissie E, McGINNIS M, Pfaller M. Medical Mycology. Medical Mycology. 2003.

Drasar B, Shiner M. Studies on the intestinal flora: Part II Bacterial flora of the small intestine in patients with gastrointestinal disorders. Gut. 1969; 10(10):812.

Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Management of candidiasis Management of *Candida* species infections in critically ill patients. The Lancet infectious diseases. 2003; 3(12):772-85.

Erdem F, Oral B, Karakoç E, Demiröz A, Tülek N. [Epidemiological and microbiological evaluation of nosocomial infections caused by *Candida* species]. Mikrobiyoloji bulteni. 2012; 46(4):637-48.

Favel A, Michel-Nguyen A, Datry A, Challier S, Leclerc F, Chastin C et al. Suscetibility of clinical isolates of *Candida lusitanae* to five systemic antifungal agents. J Antimicrob Chemoth 2004; 53: 526-529.

Fisher JF. Candiduria: when and how to treat it. Current infectious disease reports. 2000; 2(6):523-30.

Fisher JF, Kavanagh K, Sobel JD, Kauffman CA, Newman CA. *Candida* urinary tract infection: pathogenesis. Clinical infectious diseases. 2011; 52(suppl 6):S437-S51.

Fraisse T, Lachaud L, Sotto A, Lavigne J, Cariou G, Boiteux J, et al. Recommendations of the Infectious Disease Committee of the French Association of Urology. Diagnosis, treatment and monitoring candiduria. Progrès en urologie: Journal de l'Association française d'urologie et de la Société française d'urologie. 2011; 21(5):314.



Frattarelli DA, Reed MD, Giacoia GP, Aranda JV. Antifungals in systemic neonatal candidiasis. *Drugs*. 2004; 64(9):949-68.

Garey KW, Rege M, Pai MP, Mingo DE, Suda KJ, Turpin RS, et al. Time to initiation of fluconazole therapy impacts mortality in patients with candidemia: a multi-institutional study. *Clinical infectious diseases*. 2006; 43(1):25-31.

Garner B, Roberg K, Brunk UT. Endogenous ferritin protects cells with iron-laden lysosomes against oxidative stress. *Free radical research*. 1998; 29(2):103-14.

Gaúna TT, Oshiro E, Luzio YC, Paniago AMM, Pontes ERJC, Chang MR. Bloodstream infection in patients with end-stage renal disease in a teaching hospital in central-western Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2013(AHEAD):00-.

Giannini MJSM, Melhem MSC. Infecções fúngicas. In: Ferreira AW, Ávila SLM (Ed). *Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e autoimunes*. 2ª Ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2000:334-403.

Goldman M, Cloud GA, Wade KD, Reboli AC, Fichtenbaum CJ, Hafner R, et al. A randomized study of the use of fluconazole in continuous versus episodic therapy in patients with advanced HIV infection and a history of oropharyngeal candidiasis: AIDS Clinical Trials Group Study 323/Mycoses Study Group Study 40. *Clinical infectious diseases*. 2005; 41(10):1473-80.

Gorbach SL, Nahas L, Lerner P, Weinstein L. Studies of intestinal microflora. *Gastroenterology*. 1967; 53:845-55.

Graf B, Adam T, Zill E, Gobel UB. Evaluation of the Vitek 2 system for rapid identification of yeasts and yeasts-like organisms. *J. Clin. Microbiol*. 38:1782-1785.

Grossi PA. Clinical aspects of invasive candidiasis in solid organ transplant recipients. *Drugs*. 2009; 69(1): 15-20.

Heilberg, Ita Pfeferman, and Nestor Schor. "Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário-ITU." *Rev Assoc Med Bras*. 2003; 49(1): 109-16.

Hiller E, Zavrel M, Hauser N, Sohn K, Burger-Kentischer A, Lemuth K, et al. Adaptation, adhesion and invasion during interaction of *Candida albicans* with the host Focus on the function of cell wall proteins. *International Journal of Medical Microbiology*. 2011; 301(5):384-9.

Hobson R. The global epidemiology of invasive *Candida* infections—is the tide turning? *Journal of Hospital Infection*. 2003; 55(3): 159-68.

Hollenbach E. Invasive candidiasis in the ICU: evidence based and on the edge of evidence. *Mycoses*. 2008; 51(s2):25-45.

Huang A, Huang C, Kugathasan S. Vertebral Osteomyelitis Due to *Candida parapsilosis* in a Child With Crohn Disease While Receiving Anti-TNF Therapy. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2013; 56(4): e23-e6.

Huang M-Y, Wang J-H. Impact of antibiotic use on fungus colonization in patients hospitalized due to fever. *Journal of microbiology, immunology, and infection= Wei mian yu gan ran za zhi*. 2003; 36(2):123.

Hurley R. Acute disseminated (septicaemic) moniliasis in adults and children. *Postgraduate medical journal*. 1964; 40(469):644.

Hurley R, Winner H. Pathogenicity in the genus *Candida*. *International Journal of Dermatology*. 1966; 5(3):151-3.

Jain N, Mathur P, Misra MC, Behera B, Xess I, Sharma SP. Rapid identification of yeast isolates from clinical specimens in critically ill trauma ICU patients. *Journal of laboratory physicians*. 2012; 4(1):30.

Kaufman D, Boyle R, Hazen KC, Patrie JT, Robinson M, Donowitz LG. Fluconazole prophylaxis against fungal colonization and infection in preterm infants. *New England Journal of Medicine*. 2001; 345(23):1660-6.

Kauffman CA. Candiduria. *Clinical infectious diseases*. 2005; 41(Supplement 6):S371-S6.

Kauffman CA, Fisher JF, Sobel JD, Newman CA. *Candida* Urinary Tract Infections—Diagnosis. *Clinical infectious diseases*. 2011; 52(suppl 6):S452-S6.

Kauffman CA. Diagnosis and management of fungal urinary tract infection. *Infect Dis Clin N. Am*. 2014; 28:61-74.

Kaur R, Domergue R, Zupancic ML, Cormack BP. A yeast by any other name: *Candida glabrata* and its interaction with the host. *Current opinion in microbiology*. 2005; 8(4):378-84.

Klotz SA, Chasin BS, Powell B, Gaur NK, Lipke PN. Polymicrobial bloodstream infections involving *Candida* species: analysis of patients and review of the literature. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2007; 59(4):401-6.

Kobayashi CCBA, Fernandes OdFL, Miranda KC, de Sousa ED, Silva MdRR. Candiduria in hospital patients: a study prospective. *Mycopathologia*. 2004; 158(1):49-52.

Kocsubé S, Tóth M, Vágvölgyi C, Dóczy L, Pesti M, Pócsi I et al. Occurrence and genetic variability of *Candida parapsilosis sensu lato* in Hungary. *J Med Microbiol* 2007; 56: 190-195.

Koneman E, Winn Jr W, Allen S, Janda W, Procop G, Schreckenberber P, et al. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido: Guanabara Koogan; 2012.

Kothavade RJ, Kura MM, Valand AG, Panthaki MH. *Candida tropicalis*: its prevalence, pathogenicity and increasing resistance to fluconazole. *Journal of Med Microb.* 2010, 59:873-880.

Kriengkauykiat J, Ito JI, Dadwal SS. Epidemiology and treatment approaches in management of invasive fungal infections. *Clinical epidemiology.* 2011; 3:175.

Krcmery V, Barnes AJ. Non-albicans *Candida* spp. Causing fungemia: pathogenicity and antifungal resistance. *Journal of Hospital Infection* 50: 243-260, 2002.

Lacaz CdS, Porto E, Martins JC, Heins-Vaccari E, Takahashi de Melo N. Tratado de micologia médica. SciELO Brasil; 2002.

Larone DH. A guide to identification. Medically important fungi. 5ª Ed. Washington, USA, 2011.

Lee I, Fishman NO, Zaoutis TE, Morales KH, Weiner MG, Synnestvedt M, et al. Risk factors for fluconazole-resistant *Candida glabrata* bloodstream infections. *Archives of internal medicine.* 2009; 169(4):379.

Levy I, Rubin LG, Vasishtha S, Tucci V, Sood SK. Emergence of *Candida parapsilosis* as the predominant species causing candidemia in children. *Clinical infectious diseases.* 1998; 26(5):1086-8.

Lockhart SR, Messer SA, Pfaller MA, Diekema DJ. Geographic distribution and antifungal susceptibility of the newly described species *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* in comparison to the closely related species *Candida parapsilosis*. *Journal of clinical microbiology.* 2008; 46(8):2659-64.

Magill SS, Swoboda SM, Johnson EA, Merz WG, Pelz RK, Lipsett PA, et al. The association between anatomic site of *Candida* colonization, invasive candidiasis, and mortality in critically ill surgical patients. *Diagnostic microbiology and infectious disease.* 2006; 55(4):293-301.

Majoros L, Kardos G, Szabó B, Sipiczki M. Caspofungin susceptibility testing of *Candida inconspicua*: correlation of different methods with minimal fungicidal concentration. *Antimicrob Agents Ch* 2005; 49(8): 3486-3488.

Malani A, Hmoud J, Chiu L, Carver PL, Bielaczyc A, Kauffman CA. *Candida glabrata* fungemia: experience in a tertiary care center. *Clinical infectious diseases.* 2005; 41(7):975-81.

Malani AN, Kauffman CA. *Candida* urinary tract infections: treatment options. *Expert review of anti-infective therapy.* 2007; 5(2):277-84.

Manual VITEK 2® System, BioMérieux®, Marcy L'Etoile, França, 2010.

McManus BA, Coleman DC, Moran G, Pinjon E, Diogo D, Bougnoux M-E et al. Multilocus sequence typing reveals that the population structure of *Candida dubliniensis* is significantly less divergent than that of *Candida albicans*. *J Clin Microbiol* 2008; 46(2): 652-664.

Medeiros EAS, Lott TJ, Colombo AL, Godoy P, Coutinho AP, Braga MS et al. Evidence for pseudo-outbreak of *Candida guilliermondii* fungemia in a university hospital in Brazil. *J Clin Microbiol* 2007; 45(3): 942-947.

Mímica LMJ, Ueda SMY, Martino MDV, Navarini A, Martini IJ. Diagnóstico de infecção por *Candida*: avaliação de testes de identificação de espécies e caracterização do perfil de suscetibilidade. *J Bras Patol Med Lab*. 2009; 45(1):17-23.

Morace G, Borghi E. Fungal infections in ICU patients: epidemiology and the role of diagnostics. *Minerva anesthesiologica*. 2010; 76(11):950.

Morrell M, Fraser VJ, Kollef MH. Delaying the empiric treatment of *Candida* bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: a potential risk factor for hospital mortality. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2005; 49(9): 3640-5.

Nassoura Z, Ivatury RR, Simon RJ, Jabbour N, Stahl WM. Candiduria as an early marker of disseminated infection in critically ill surgical patients: the role of fluconazole therapy. *The Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 1993; 35(2):290-5.

Nguyen MH , Clancy CJ , Yu VL , *et al* . Do *in vitro* susceptibility data predict the microbiologic response to amphotericin B? Results of a prospective study of patients with *Candida* fungemia . *J Infect Dis* 1998 ; 177 : 425 – 430 .

Nishiura JL, Heilberg IP, Perrone HC, Laranja SMR, Gandolpho L, Martini LA, et al. Infecção urinária no idoso. *Rev Bras Med* 1995; 52:951-62.

Nucci M. Candiduria in hospitalized patients: a review. *The Brazilian journal of infectious diseases: an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases*. 2000; 4(4):168.

Nucci M, Queiroz-Telles F, Tobón AM, Restrepo A, Colombo AL. Epidemiology of opportunistic fungal infections in Latin America. *Clinical infectious diseases*. 2010;51(5):561-70.

Nunes MO. Epidemiologia de Candidemias e perfil de suscetibilidade das leveduras do gênero *Candida* em Hospital Universitário de Mato Grosso do Sul. Dissertação de Mestrado, 2009.

Oliveira O, Oliveira A, Pontes E, Oliveira S, Cunha R. Epidemiologia da infecção hospitalar em unidade de terapia intensiva. *Rev Pan Infect*. 2008; 11(2):32-7.

Oliveira R, Maffei C, Martinez R. Infecção urinária hospitalar por leveduras do gênero *Candida*. *Rev Ass Med Brasil*. 2001; 47(3):231-5.

Orsi GB, Raponi M, Franchi C, Rocco M, Mancini C, Venditti M. Surveillance and infection control in an intensive care unit. *Infection control and hospital epidemiology*. 2005; 26(3):321-5.

Pai MP, Pendland SL. Antifungal susceptibility testing in teaching hospitals. *The Annals of pharmacotherapy*. 2003; 37(2):192-6.

Pandey M, Pandey A. Emergence of Non-albicans *Candida* in urine of diabetic patients at Gwalior (MP), India. *Journal of Dental and Medical Sciences*, 2013; 4(5): 11-14.

Pappas PG, Rex JH, Lee J, Hamill RJ, Larsen RA, Powderly W, et al. A prospective observational study of candidemia: epidemiology, therapy, and influences on mortality in hospitalized adult and pediatric patients. *Clinical infectious diseases*. 2003; 37(5):634-43.

Pappas PG, Kauffman C, Andes D. Clinical practice guidelines for the management of Candidiasis: 2009 update by the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis*. 2009; 48(5):503-35.

Pasqualotto AC, Zimmerman RA, Alves SH, Aquino VR, Branco D, Wiltgen D, et al. Take control over your fluconazole prescriptions: the growing importance of *Candida glabrata* as an agent of candidemia in Brazil. *Infection control and hospital epidemiology*. 2008; 29(9):898-9.

Passos XS, Sales WS, Maciel PJ, Costa CR, Miranda KC, Lemos JdA, et al. *Candida* colonization in intensive care unit patients' urine. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2005;100(8):925-8.

Passos XS, Costa CR, Araujo CR, Nascimento ES, e Souza LKH, Fernandes OdFL, et al. Species distribution and antifungal susceptibility patterns of *Candida* spp. bloodstream isolates from a Brazilian tertiary care hospital. *Mycopathologia*. 2007; 163(3):145-51.

Patel R. Biofilms and antimicrobial resistance. *Clinical orthopaedics and related research*. 2005; 437:41-7.

Paula CR, Montelli AC, Ruiz L, Batista G, Matsumoto FE, Volpearnoni M. Infecção hospitalar fúngica: experiência em hospitais públicos de São Paulo. *Prática hospitalar*. 2007; 52:63-6.

Peixoto ITA, Sardi JdCO, Aníbal PC, Gonçalves RB, Höfling JF. Scientific evidence of *Candida* spp. colonization in periodontal pockets. *RFO UPF*. 2010; 15(2):177-82

Pelz RK, Hendrix CW, Swoboda SM, Diener-West M, Merz WG, Hammond J, et al. Double-blind placebo-controlled trial of fluconazole to prevent candidal infections in critically ill surgical patients. *Annals of surgery*. 2001; 233(4):542.

Pfaller M, Messer S, Hollis R, Jones R. In Vitro Activities of Posaconazole (Sch 56592) Compared with Those of Itraconazole and Fluconazole against 3,685 Clinical Isolates of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2001; 45(10):2862-4.

Pfaller M, Diekema D, Jones R, Messer S, Hollis R. Trends in antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from pediatric and adult patients with bloodstream infections: SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997 to 2000. *Journal of clinical microbiology*. 2002; 40(3):852-6.

Pfaller M, Diekema D, Messer S, Hollis R, Jones R. In vitro activities of caspofungin compared with those of fluconazole and itraconazole against 3,959 clinical isolates of *Candida* spp., including 157 fluconazole-resistant isolates. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2003; 47(3):1068-71.

Pfaller M, Messer S, Boyken L, Hollis R, Rice C, Tendolkar S, et al. In vitro activities of voriconazole, posaconazole, and fluconazole against 4,169 clinical isolates of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans* collected during 2001 and 2002 in the ARTEMIS global antifungal surveillance program. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2004; 48(3):201-5.

Pfaller M, Diekema D, Procop G, Rinaldi M. Multicenter comparison of the VITEK 2 antifungal susceptibility test with the CLSI broth microdilution reference method for testing amphotericin B, flucytosine, and voriconazole against *Candida* spp. *Journal of clinical microbiology*. 2007; 45(11):3522-8.

Pfaller M, Boyken L, Hollis R, Kroeger J, Messer S, Tendolkar S, et al. In vitro susceptibility of invasive isolates of *Candida* spp. to anidulafungin, caspofungin, and micafungin: six years of global surveillance. *Journal of clinical microbiology*. 2008; 46(1):150-6.

Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Nagy E, Dobiasova S et al. *Candida krusei*, a multidrug-resistant opportunistic fungal pathogen: geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK antifungal surveillance program, 2001 to 2005. *J Clin Microbiol* 2008; 46(2): 515-521.

Pfaller MA, Diekema D, Gibbs D, Newell V, Ellis D, Tullio V, et al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. *Journal of clinical microbiology*. 2010; 48(4):1366-77.

- Pittet D, Monod M, Suter PM, Frenk E, Auckenthaler R. Candida colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. *Annals of surgery*. 1994;220(6):751.
- Platt R, Polk BF, Murdock B, Rosner B. Risk factors for nosocomial urinary tract infection. *American journal of epidemiology*. 1986; 124(6):977-85.
- Rex JH, Rinaldi M, Pfaller M. Resistance of Candida species to fluconazole. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1995; 39(1):1.
- Rex JH, Pfaller MA. Has antifungal susceptibility testing come of age? *Clinical infectious diseases*. 2002; 35(8):982-9.
- Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States. *Infection control and hospital epidemiology*. 2000; 21(8):510-5.
- Robinson J, Davies HD, Barton M, O'Brien K, Simpson K, Asztalos E, et al. Characteristics and outcome of infants with candiduria in neonatal intensive care—a Paediatric Investigators Collaborative Network on Infections in Canada (PICNIC) study. *BMC infectious diseases*. 2009; 9(1):183.
- Sanguinetti M, Porta R, Sali M, La Sorda M, Pecorini G, Fadda G, et al. Evaluation of VITEK 2 and RapID yeast plus systems for yeast species identification: experience at a large clinical microbiology laboratory. *Journal of clinical microbiology*. 2007; 45(4):1343-6.
- Saravolatz LD, Johnson LB, Kauffman CA. Voriconazole: a new triazole antifungal agent. *Clinical infectious diseases*. 2003; 36(5):630-7.
- Sarvikivi E, Lyytikäinen O, Soll DR, Pujol C, Pfaller MA, Richardson M, et al. Emergence of fluconazole resistance in a Candida parapsilosis strain that caused infections in a neonatal intensive care unit. *Journal of clinical microbiology*. 2005; 43(6):2729-35.
- Schmid J, Hunter PR, White GC, Nand AK, Cannon RD. Physiological traits associated with success of Candida albicans strains as commensal colonizers and pathogens. *Journal of clinical microbiology*. 1995; 33(11):2920-6.
- Sendid B, Cotteau A, François N, D'Haveloose A, Standaert A, Camus D, et al. Candidaemia and antifungal therapy in a French University Hospital: rough trends over a decade and possible links. *BMC infectious diseases*. 2006; 6(1):80.
- Sendid B, Lacroix C, Bougnoux M-E. Is Candida kefyr an emerging pathogen in patients with oncohematological diseases? *Clin Infect Dis* 2006; 43: 666-667.

Shay AC, Miller LG. An estimate of the incidence of candiduria among hospitalized patients in the United States. *Infection control and hospital epidemiology*. 2004; 25(11):894-5.

Sidrim JJC, Rocha MFG. *Micologia médica à luz de autores contemporâneos*: Guanabara koogan; 2004.

Silva EH, Ruiz LS, Matsumoto FE, Auler MA, Giudice MC, Moreira D, Sveszs W, Paula CR. Candiduria in a publica hospital of São Paulo (1999-2004): characteristics of the yeasts isolates. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 2007, 49: 349-353.

Singla N, Gulati N, Kaistha N, Chander J. Candida colonization in urine samples of ICU patients: determination of etiology, antifungal susceptibility testing and evaluation of associated risk factors. *Mycopathologia*. 2012; 174(2):149-55.

Slavin MA, Sorrel TC, Marriot D; Thrusky KA, Nguyen Q, Ellis DH, Chen SC. Candidaemia in adult cancer patients: risks for fluconazole resistente isolates and detah. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2010; 65(5): 1042-1051.

Sobel J, Kauffman C, McKinsey D, Zervos M, Vazquez J, Karchmer A, et al. Candiduria: a randomized, double-blind study of treatment with fluconazole and placebo. *Clinical infectious diseases*. 2000; 30(1):19-24.

Sobel J, Lundstrom T. Management of candiduria. *Current urology reports*. 2001; 2:321-5.

Sobel JD. Vaginal mucormycosis: a case report. *Infectious diseases in obstetrics and gynecology*. 2001; 9(2):117-8.

Sobel JD. Controversies in the diagnosis of candiduria: what is the critical colony count. *Infect Dis*. 2002; 4:81-3.

Sobel JD. The emergence of non-albicans Candida species as causes of invasive candidiasis and candidemia. *Current infectious disease reports*. 2006; 8(6):427-33.

Sobel JD, Fisher JF, Kauffman CA, Newman CA. Candida urinary tract infections—epidemiology. *Clinical infectious diseases*. 2011; 52(suppl 6):S433-S6.

Spellberg B, Johnston D, Phan QT, Edwards JE, French SW, Ibrahim AS, et al. Parenchymal organ, and not splenic, immunity correlates with host survival during disseminated candidiasis. *Infection and immunity*. 2003; 71(10):5756-64.

Strabelli TMV. Infecção urinária hospitalar por leveduras do gênero Candida. *Revista da Associação Médica Brasileira*. 2001; 47(3):191-2.

Sullivan DJ, Moran G, Donnelly S, Gee S, Pinjon E, McCartan B et al. Candida dubliniensis: an apdate. *Rev Iberoam Micol* 1999; 16: 72-76.



Sullivan, D.J., G. P. Moran, and D. C. Coleman. 2005. *Candida dubliniensis*: ten years on. *FEM Microbiol. Lett.* 253: 9–17.

Szweda P, Gucwa K, Naumiuk L, Romanowska E, Dzierzanowska-Fangrat K. Evaluation of possibilities of genotyping of *Candida glabrata* clinical isolates with RAPD-PCR method and microsatellite analysis. *Scientific Journal of Microbiology.* 2013; 2(10):194-200.

Tashjian J, Coulam C, Washington 2nd J, editors. *Vaginal flora in asymptomatic women.* Mayo Clinic proceedings Mayo Clinic; 1976.

Tavanti A, Davidson AD, Gow NA, Maiden MC, Odds FC. *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* spp. nov. to replace *Candida parapsilosis* groups II and III. *Journal of clinical microbiology.* 2005; 43(1):284-92.

Tomashefski Jr J, Abramowsky C. *Candida-associated renal papillary necrosis.* *American journal of clinical pathology.* 1981; 75(2):190-4.

Valenza G, Strasen J, Schäfer F, Frosch M, Kurzai O, Abele-Horn M. Evaluation of new colorimetric Vitek 2 yeast identification card by use of different source media. *Journal of clinical microbiology.* 2008; 46(11):3784-7.

Vidigal PG, Svidzinski TIE. Leveduras nos tratos urinário e respiratório: infecção fúngica ou não. *J Bras Patol Med Lab.* 2009;45(1):55-64.

Williams D, Lewis M. *Oral Microbiology: Isolation and identification of candida from the oral cavity.* *Oral diseases.* 2000; 6(1):3-11.

Zaoutis TE, Foraker E, McGowan KL, Mortensen J, Campos J, Walsh TJ, et al. Antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from pediatric patients: A survey of 4 children's hospitals. *Diagnostic microbiology and infectious disease.* 2005; 52(4):295-8.

Zardo V, Mezzari A. Os antifúngicos nas infecções por *Candida* sp. *News Lab.* 2004; 63:136-6.

Zaugg C, Borg-von Zepelin M, Reichard U, Sanglard D, Monod M. Secreted Aspartic Proteinase Family of *Candida tropicalis*. *Infection and immunity.* 2001; 69(1):405-12.

## ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

UFMS



### PROJETO DE PESQUISA

**Título:** Identificação e Perfil de Susceptibilidade a Antifúngicos In Vitro de Leveduras do Gênero Candida em Isolados de Urinas de Pacientes do Hospital Universitário - UFMS, 2011 - 2012.

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 05875312.2.0000.0021

**Pesquisador:** Gláucia Moreira Espíndola Lima

**Instituição:** Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

**Número do Parecer:** 86663

**Data da Relatoria:** 30/08/2012

#### Apresentação do Projeto:

A progressão mundial das infecções fúngicas hospitalares é uma temática emergente nos últimos anos, pelo aumento das taxas de mortalidade dos pacientes. Dentre as infecções fúngicas mais comuns do espaço hospitalar, as do gênero Candida se destacam. Conforme inúmeros levantamentos a respeito, durante o período de internação, um dos sítios anatómicos de maior prevalência de infecções por leveduras do gênero Candida é o trato urinário. Há alguns antecedentes que provam a importância de estudos dessa natureza. Oliveira et al. (2008) estudaram a epidemiologia da infecção hospitalar no Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian, UFMS, em Unidade de Terapia Intensiva e evidenciaram que a Infecção do Trato Urinário foi a principal patologia encontrada. Candida e outras leveduras foram os agentes mais isolados, sendo responsáveis por 48,1% da casuística total. Esse estudo abriu um precedente, para investigação mais detalhada sobre o perfil destas leveduras neste hospital, bem como a identificação e susceptibilidade a antifúngicos das espécies de Candida spp de isolados provenientes de uroculturas de pacientes internados de maio- 2011 a maio- 2012 congelados a - 20°C. O Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian de Campo Grande-MS presta amplo atendimento médico-hospitalar multidisciplinar a pacientes de todo o Estado, nas mais diversas especialidades, compondo o corpo de referência do atendimento regional. O estudo regional das candidúrias adquiridas em espaço hospitalar, proposto nesta pesquisa, ajudará a compor o panorama nacional dos aspectos relevantes dessa infecção, colaborando com os médicos assistentes, pesquisadores brasileiros e internacionais, auxiliando a Comissão de Controle de Infecção Hospitalar na vigilância epidemiológica de candidúria.

#### Objetivo da Pesquisa:

**Objetivo Primário:** Identificar as espécies de Candida envolvidas em ocorrências de candidúrias em amostras de urina de pacientes internados no Núcleo de Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian - UFMS de Campo Grande / MS, entre maio de 2011 e maio de 2012, determinando o perfil de susceptibilidade in vitro da Candida aos principais antifúngicos.

**Objetivo Secundário:**

- Identificar as espécies de Candida envolvidas em episódios de candidúria;- Averiguar o perfil de susceptibilidade in vitro dos isolados de Candida aos antifúngicos convencionais: Anfotericina B, Fluconazol e Voriconazol.
- Comparar métodos automatizados e manuais no levantamento das espécies de Candida e perfil de sensibilidade das mesmas aos antifúngicos citados anteriormente.

**Endereço:** Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS

**Bairro:** Caixa Postal 549 **CEP:** 79.070-110

**UF:** MS **Município:** CAMPO GRANDE

**Telefone:** ((67) 33)45-7-187 **Fax:** ((67) 33)45-7-187 **E-mail:** bioetica@propp.ufms.br

UFMS

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos: Não existem riscos a serem considerados na pesquisa.

Benefícios: O Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian de Campo Grande-MS presta amplo atendimento médico-hospitalar multidisciplinar a pacientes de todo o Estado, nas mais diversas especialidades, compondo o corpo de referência do atendimento regional. O estudo regional das candidúrias adquiridas em espaço hospitalar, proposto nesta pesquisa, ajudará a compor o panorama nacional dos aspectos relevantes dessa infecção, colaborando com os médicos assistentes, pesquisadores brasileiros e internacionais, auxiliando a Comissão de Controle de Infecção Hospitalar na vigilância epidemiológica de candidúria.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Pesquisa de relevância social.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Preenche todos os termos.

**Recomendações:**

Nenhuma.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Preenche todos os termos.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

CAMPO GRANDE, 31 de Agosto de 2012

---

Assinado por:  
Edilson dos Reis