FÁBIO SANTOS FERREIRA

Caracterização de leveduras isoladas da corrente sanguínea em pacientes atendidos em hospitais públicos do município de Salvador, Bahia, Brasil

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração:
Pesquisas Laboratoriais em Saúde Pública

Orientador:
Profa. Dra. Marcia de S. Carvalho Melhem

São Paulo
2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pelo Centro de Documentação – Coordenadoria de Controle de Doenças/SES-SP

©reprodução autorizada pelo autor, desde que citada a fonte

Ferreira, Fábio Santos.

Caracterização de leveduras isoladas da corrente sanguínea em pacientes atendidos em hospitais públicos do município de Salvador, Bahia, Brasil / Fábio Santos Ferreira. – 2016.

Dissertação (Mestrado em Ciências) - Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças, São Paulo, 2016.

Área de concentração: Pesquisas Laboratoriais em Saúde Pública.

Orientação: Profa. Dra. Marcia de S. Carvalho Melhem.

1. Candidemia. 2. Antifúngicos. 3. Teste de Sensibilidade Microbiana. 4. Salvador

SES/CCD/CD-338/2016

Dedico este trabalho a minha esposa e filhos, que sempre acreditaram que mesmo com toda a dificuldade seria possível realizar;

A minha família que sempre esteve ao meu lado me apoiando em todos os momentos de minha vida;

AGRADECIMENTOS

A Deus por permitir que eu pudesse concluir mais este trabalho

A então diretora do LACEN-BA, Rosane Maria Magalhães Martins Will, pelo apoio incondicional e por acreditar e apostar na qualificação profissional dos seus colaboradores como forma de melhoria do Sistema Único de Saúde;

A minha orientadora Dra. Márcia de Souza Carvalho Melhem por ter me recebido como seu orientando;

A minhas amigas Maria das Graças Araújo (Gracita), Lêda Sanches, Eliene Lopes, Zelita Valécio e Glaucia Queiroz pela força e companheirismo neste difícil caminhar da micologia médica no Estado da Bahia;

A toda a equipe do Núcleo de Micologia do Instituto Adolfo Lutz por terem me recebido e compartilhado a sabedoria de vocês comigo;

A Lucas X. Bonfietti pelo apoio;

Ao Programa de Pós-graduação da Coordenadoria de Controle de Doenças (PPGCCD), pelo apoio e paciência durante esta fase.

Ao Instituto de Salud Carlos III (Argentina), que por meio da Organização Pan-americana de Saúde (OPAS) do Brasil, financiou parte dos insumos utilizados para o estudo no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo.

A vocês meu muito obrigado!

RESUMO

Infecções de corrente sanguínea (ICS) por leveduras são um grave problema de saúde pública. O conhecimento sobre as ICS deve ser regionalizado e este estudo descreve essas características quanto a ocorrência das espécies e o perfil de sensibilidade ao fluconazol pelo método de Disco Difusão como também, utilizando Vitek2 para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) em isolados obtidos de pacientes atendidos em hospitais públicos de Salvador/BA. Computou-se 250 episódios sendo *C. parapsilosis* (35%), *C. tropicalis* (30%), *C. albicans* (25%), *C. glabrata* (5%), *C. krusei* (2%) e *outras* (3%), diferente do perfil nacional esperado. Resistência ao fluconazol foi de 4% e anfotericina B de 1%. *C. albicans* foi sensível aos quatro fármacos testados, entretanto *C. parapsilosis* (SDD=5,8% e R=2,3%) e *C. tropicalis* (SDD=1,6%) apresentaram redução da sensibilidade ao fluconazol. Isolados de *C. glabrata* (n=13) são SDD para o fluconazol, com CIM_{90}=8µg/mL. A CIM_{90} global para anfotericina B foi de 1µg/mL, com exceção de *C. tropicalis* que foi 0,5µg/mL. Não foram detectados isolados resistentes a voriconazol e 5-FC. Resultados da Disco Difusão, para *C. albicans, C. trolpicalis* e *C. krusei,* concordaram em 100% com o Vitek2, já *C. parapsilosis* foi de 96%, mostrando-se como alternativa para os laboratórios que não realizam testes para determinação da CIM. Para *C. glabrata* o método de disco difusão (M44-S4) não deve ser aplicado, pois encontra-se desatualizado. Esse foi o trabalho pioneiro em vigilância de base laboratorial de ICS por leveduras no estado da Bahia descrevendo as espécies e seus perfis de sensibilidade.

Palavras chaves: Candidemia; Antifúngicos, Teste de sensibilidade microbiana; Salvador

ABSTRACT

Bloodstream infections (BSI) yeast are a major public health problem. Knowledge about the ICS should be regionalized and this study describes these characteristics and the occurrence of species and the sensitivity profile to fluconazole by disk diffusion method but also using Vitek2 to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) in isolates from patients treated in public hospitals in Salvador / BA. It is computed 250 episodes with *Candida parapsilosis* (35%), *C. tropicalis* (30%) *C. albicans* (25%), *C. glabrata* (5%), *C. krusei* (2%) and others (3%), different from the expected national profile. Fluconazole resistance was 4% and 1% amphotericin B. *C. albicans* was sensitive to the four tested drugs, however *C. parapsilosis* (SDD = 5.8% and R = 2.3%) and *C. tropicalis* (SDD = 1.6%) showed reduced sensitivity to fluconazole. Isolates of *C. glabrata* (n = 13) are SDD for fluconazole, with MIC90 = 8μg / ml. The overall MIC90 for amphotericin B was 1μg / ml, except for *C. tropicalis* which was 0,5μg / ml. They were not detected voriconazole and isolates resistant to 5-FC. Results of Disk Diffusion to *C. albicans*, *C. trolpicalis* and *C. krusei*, agreed 100% with Vitek2 since *C. parapsilosis* was 96%, showing up as an alternative for laboratories that do not perform tests to determine the MIC. To C. glabrata the disk diffusion method (M44-S4) should not be applied because it is outdated. That was the pioneering work in laboratory-based surveillance ICS yeast in the state of Bahia describing the species and their sensitivity profiles.

Key words: candidemia; antifungals, microbial sensitivity test; Salvador

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

℃ - Graus centígrados

5FC – 5 fluorocitosina

AFST-EUCAST - *Antifungal Susceptibility Testing - European Committee for*

AmB - Anfotericina B

AMHAmG – Agar Müeller Hinton com Azul de Metileno e Glicose 2%

Antimicrobial Susceptibility Testing

ARTEMIS DISK - Programa Internacional de Vigilância Antimicrobiana

ATCC - *American Type Culture Collection*

CIM - concentração inibitória mínima

CLSI - *Clinical Laboratory Standards Institute*

CNCA – *Candida* não *Candida albicans*

DNA - Ácido desoxirribonucleico

FCZ - Fluconazol

IAL - Instituto Adolfo Lutz

ICS - Infecção de corrente sanguínea

K^+ - Íon potássio

L - Litro

LACEN – Laboratório Central de Saúde Pública

mg- Miligrama

mm - Milímetro

PCR - Reação da polimerase em cadeia

RN – Recém-nascido

RNA - Ácido ribonucleico

SDD - Sensível dependendo da dose

SIDA - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

UTI - Unidade de Tratamento Intensivo

UTI-neo - Unidade de tratamento intensivo neonatal

VCZ - Voriconazol

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação da estrutura química da molécula de anfotericina B 19
Figura 2- Representação esquemática da ação da Anfotericina B (AmB) . 21
Figura 3 - Representação da estrutura química da citosina (a); 5-Fluorocitosina; 5-FC (b) e; 5-Fluoruracila (c). 22
Figura 4 – Esquema mostrando as duas rotas intracelulares que sofrem a interferência da ação da 5-FC. 23
Figura 5. - Representação das estruturas moleculares dos antifúngicos da classe dos azólicos. 24
Figura 6 - Rota de síntese do ergosterol. 25
Figura 7 - Representação esquemática do resultado da ação dos azóis e outras moléculas importantes do mecanismo de reparo da membrana celular. 26
Figura 8. Representação da estrutura básica das equinocandinas e as possíveis alterações de radicais na síntese de fármacos empregados na terapêutica. 27
Figura 9. Mecanismo de ação dos principais antifúngicos usados para candidemias 29
Figura 10. Principais mecanismos de resistência aos antifúngico 30
Figura 11 – Representação do fluxograma de trabalho 33
Figura 12.– Frequência relativa de leveduras, isoladas de corrente sanguínea de pacientes atendidos na rede pública no município de Salvador-BA de 2009 a 2012. 37
Figura 13- Percentual de *Candida albicans* e CNCA isoladas de corrente sanguínea de pacientes atendidos na rede pública no município de Salvador-BA e que foram analisadas no LACEN-BA de 2009 a 2012. 38
Figura 14.- Perfil de leveduras isoladas de corrente sanguínea de pacientes atendidos na rede pública no município de Salvador-BA de 2009 a 2012. .. 39
Figura 15 - Distribuição dos halos de inibição referentes ao fluconazol frente a isolados das cinco principais espécies de *Candida* 40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Frequência absoluta e relativa de leveduras, isoladas de corrente sanguínea de pacientes atendidos na rede pública no município de Salvador-BA no período de 2009 a 2012. 37
Tabela 2 – Frequência anual do isolamento de *C. albicans* e CNCA durante o período do estudo de 2009 a 2012. 38
Tabela 3 – Variação dos halos de inibição em milímetros (mm) e a classificação proposta pelo documento M44-A2 de 242 isolados de candidemia de pacientes atendidos na rede pública no município de Salvador-BA no período de 2009 a 2012. 39
Tabela 4 – Sensibilidade ao fluconazol de 228 isolados de *Candida* spp. por método de disco difusão e microdiluição em caldo por método automatizado VITEK2, interpretada segundo CLSI e EUCAST..... 41
Tabela 5.– Sensibilidade ao voriconazol de 228 isolados de *Candida* spp. microdiluição em caldo por método automatizado VITEK2, interpretada segundo CLSI e EUCAST. 41
Tabela 6 – Sensibilidade a anfotericina B de 228 isolados de *Candida* spp. microdiluição em caldo por método automatizado VITEK2, interpretada segundo CLSI e EUCAST. 42
Tabela 7 – Sensibilidade a 5-fluorcitosina de 228 isolados de *Candida* spp. microdiluição em caldo por método automatizado VITEK2, interpretada segundo CLSI. 42
Tabela 8 – Distribuição do total dos isolados de acordo ao resultado de CIM emitido pelo VITEK 2 para os quatro fármacos testados no AST-YS01. 43
Tabela 9 – Resistência global a 4 fármacos antifúngicos avaliada por sistema VITEK2 segundo critérios disponíveis em métodos de referência CLSI e EUCAST 43

ÍNDICE

1 Introdução 9
1.1 Etiologia das Infecções de Corrente Sanguínea (ICS) provocadas por levedura 14
1.2 Antifúngicos em ICS por leveduras 19
2 Objetivo geral 31
2.1 Objetivos específicos 31
3 Material e Métodos 32
3.1 Amostras 32
3.1.1 Total de amostras 32
3.1.2 Critério de Inclusão/Exclusão de amostras 32
3.1.3 Processamento das amostras 33
3.2 Controle Interno de Qualidade 34
3.2.1 Meio de cultura cromogênico 34
3.2.2 Meio de cultura ágar Mueller-Hinton azul de metileno com suplemento deglicose (AMHAmG) 34
3.2.3 Identificação dos isolados 34
3.2.4 Teste de sensibilidade 35
3.3 Testes de Sensibilidade a Antifúngicos 35
3.3.1 Disco Difusão 35
3.3.2 CIM Automatizada 35
3.4 Análise dos dados 36
3.5 Validação do comitê de ética 36
4 Resultados 37
5 Discussão 44
6 Conclusões 58
Referências 60
Apêndice1– Tabela de identificação das leveduras utilizadas no estudo 75
Anexo 1 - Carta de aprovação do comitê de ética 79

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a crescente ocorrência entre infecções fúngicas invasivas causadas por leveduras do gênero *Candida* e outros gêneros gerou mudanças nas políticas de saúde em todo o mundo, a fim de encontrar os mecanismos para controlar essas doenças. A preocupação está relacionada a alta morbidade e mortalidade dessas infecções e o impacto direto que esses quadros têm nos custos dos cuidados à saúde (Tortorano et al. 2004; Chavasco et al. 2006; Colombo et al. 2006; Falagas et al. 2006; Horn et al. 2009). Apesar da evolução científica, da melhoria das condições de trabalho e aperfeiçoamento dos profissionais de saúde, as taxas de mortalidade atribuídas à candidemias permanecem elevadas e constantes ao longo das últimas duas décadas. A este respeito, um estudo multicêntrico (Rodero et al. 2005), envolvendo 36 hospitais de 9 províncias da Argentina, além de Buenos Aires, relatou que a candidemia estava associada à mortalidade em 30% dos casos. No Brasil a taxa de mortalidade apresenta-se em torno de 50% (Nucci e Colombo 2007).

Entre os agentes etiológicos envolvidos nas infecções de corrente sanguíneas (ICS), os fungos ocupam o quarto lugar, à frente de outros microrganismos tão comuns como *Escherichia coli* (Abi-Said et al. 1997; Gudlaugsson et al. 2003). Segundo o estudo realizado em 2003 (Martin et al. 2003), a taxa de sepse devido à infecção fúngica nos EUA aumentou 207%, durante o período 1979-2000. Os fungos do gênero *Candida*, pelas elevadas prevalência e incidência, além de certas peculiaridades de sua patogenicidade, são os agentes mais isolados em pesquisas sobre vigilância epidemiológica em infecções nosocomiais (Clark et al. 2004; Fridkin et al. 2006). O aumento progressivo na frequência de ICS por leveduras do gênero *Candida* foi observado em muitos países que monitoram esse evento. O fato ocorre, particularmente, entre pacientes que estão em antibioticoterapia prolongada, terapia imunossupressiva, nutrição parenteral e exposição a procedimentos médicos invasivos (da Matta et al. 2007). Dados do Sistema Nacional de Controle de Infecções Nocosomiais do *Centers for Disease*

Control and Prevention (CDC) dos Estados Unidos mostraram que, durante a década de 90, os fungos foram agentes de 7,9% do total de infecções nosocomiais, em hospitais de grande e pequeno porte, e a incidência desses quadros aumentou para 9% de 1990 a 1996, emergindo como o quinto patógeno nosocomial. A incidência da candidíase invasiva, também denominada candidemia, tem aumentado nos últimos anos acentuadamente. *Candida* spp. é considerada o quarto patógeno mais comumente isolado de hemoculturas nos Estados Unidos da América do Norte (Downey et al. 2010). Nos países da Europa o gênero está entre os dez patógenos mais frequentemente isolados (Mikulska et al. 2011). As espécies do gênero *Candida* causaram 78% das infecções fúngicas em pacientes imunocomprometidos, ou gravemente enfermos, com taxa de mortalidade ao redor de 50% (Abi-Said et al. 1997; Gudlaugsson et al. 2003).

Candida spp. englobam microrganismos comensais que colonizam regiões do corpo humano, como: trato gastrintestinal, pele, vagina e uretra. Apesar destes microrganismos comporem a microbiota normal do ser humano e outros animais, eles podem se tornar patogênicos sob certas condições. As situações que permitem leveduras comensais apresentarem seu caráter oportunista e causar infecção inclui: desequilíbrio no sistema imunológico do hospedeiro ou quando há rompimento das barreiras anatômicas, como em casos de queimaduras, procedimentos médicos invasivos, uso de cateter venoso central ou sonda vesical (Chaffin et al. 1998; Giolo et al. 2010). Leveduras do gênero *Candida* apresentam fatores de virulência, como: produção de enzimas extracelulares, adesão, dimorfismo, produção de biofilmes, entre outros, que as tornam patógenos oportunistas, extremamente, relevantes a depender da condição do hospedeiro. Deste modo, as candidemias são infecções fúngicas predominantemente endógenas e de caráter oportunista e o desenvolvimento da infecção é desencadeado por distúrbios na defesa imune celular, alterações fisiológicas, quebra de barreiras naturais ou, ainda na ocorrência de desequilíbrio na microbiota normal do hospedeiro. A gravidade da doença, por sua vez, depende mais diretamente

do grau de alteração do hospedeiro do que do potencial patogênico das leveduras (Dias 2007).

Acredita-se que a maioria dos casos de candidemia seja adquirida por via endógena, pela translocação de *Candida* do trato gastrintestinal (Juyal et al. 2013). Entretanto, infecções hematogênicas por *Candida* spp. também podem ser adquiridas por via exógena, por meio do contato das mãos de profissionais de saúde com pacientes portadores de cateteres vasculares centrais, implante de próteses contaminadas, bem como pela administração parenteral de soluções contaminadas (Hinrichsen et al. 2008).

O principal agente das infecções fúngicas invasivas é *Candida albicans,* prevalente em mais de 50% dos casos. Ainda que *C. albicans* seja o principal agente etiológico de candidemia, é importante notar que a distribuição de espécies difere segundo país e população de estudo (Silva et al. 2004; Tortorano et al. 2004; Chavasco et al. 2006; Bishop et al. 2008; Cuenca-Estrella et al. 2008; Colombo et al. 2013; Nucci et al. 2013). Diversos fatores podem influenciar na incidência e etiologia da candidemia, tais como: diferenças geográficas, características e tamanho da população estudada, unidade de internação, distribuição e prevalência de resistência a antifúngicos das espécies da levedura, instalações hospitalares, tipo de hospital, política de profilaxia pré-cirurgica (Mokaddas et al. 2007; Falagas et al. 2010).

Resultados encontrados nos estudos multicêntricos e estudos longitudinais de longa duração permitem afirmar que os dados, cada vez mais, estão se individualizando, ou seja, a extrapolação dos dados referentes às ICS entre as diferentes regiões estão se tornando mais difíceis. Isto se deve ao fato de que a epidemiologia das ICS depende de uma série de fatores que tornam essa doença um problema, de caráter regional. É preciso atentar para uma série de fatores determinantes antes de extrapolar, de uma realidade para outra, as conclusões desses estudos que, em sua grande maioria, se concentram no hemisfério norte, principalmente, nos EUA e países europeus. Além das distintas distribuições de espécies, os perfis de sensibilidade aos antifúngicos alteram-se, sendo maior o percentual de resistência ao fluconazol em isolados dos Estados Unidos, quando comparados aos provenientes de

países da América Latina (Pfaller et al. 2001; Colombo et al. 2006; Córdoba et al. 2011; Doi et al. 2016).

A necessidade de se compreender melhor o comportamento dessas leveduras frente aos fármacos utilizados na terapia e com o número crescente de estudos envolvendo avaliação da sensibilidade aos antifúngicos em todo o mundo, surge o documento *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standar - M27-A em 1997, proposto peloNational Committee for Clinical Laboratory Standards* – NCCLS (NCCLS, 2002), que a partir de 01 de janeiro de 2005 passou a chamar *Clinical and Laboratory Standards Institute* – CLSI. O documento propunha uma padronização na execução do ensáio para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM), o que tornaria comparável os novos resultados de trabalhos em todo o mundo. Atualmente este documento encontra-se na versão M27-A3 que foi publicada em 2012 (CLSI, 2012).

Na Europa surge também, em 2008, um documento proposto pelo European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing – EUCAST, com o título: “Definitive document EDef 7.1: method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts”. Este documento é baseado nos documentos M27 do CLSI, mas com algumas modificações na formulação do meio de cultura, concentração do inoculo e método para a leitura dos resultados (EUCAST, 2008).

Atualmente, tanto os documentos CLSI e EUCAST são válidos e de aplicabilidade para pesquisa científica, entretanto, os laboratórios de rotina diagnóstica ainda apresentam dificuldades na implantação e implementação do método de microdiluição em meio líquido que é, até então, considerado como o método padrão ouro.

Uma alternativa ao método de determinação da CIM em meio líquido era a padronização de um teste rápido e reprodutivo e de fácil execução. Em 2004 o NCCLS publica o *Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Guideline*-M44-A (NCCLS 2004) como tentativa de difundir ainda mais a realização dos testes de sensibilidade a antifúngicos. Este documento normatizava apenas o teste de sensibilidade ao fluconazol.

Atualmente, este documento está na versão M44-A2 (CLSI, 2009) e já é possível se testar, além do fluconazol, o voriconazol e caspofungina (CLSI, 2009a).

Testes comerciais foram surgindo a fim de atender ao público ligado ao diagnóstico laboratorial. Testes baseados em difusão em ágar com tiras plásticas impregnadas com antifúngicos (Teste Epsilométrico), determinação de CIM em meio líquido baseado em pontos de corte o Candifast (Elitech group), o Fungitest (Sanofi – Pasteur) e o ATB Fungus 3 (Biomerieux-Fr). Outros são baseados em diluições seriadas completas e com visualização colorimétrica do resultado podendo esta ser automatizada como *Sensititre Yeast One* (Thermo Scientific) e os baseados em curva de crescimento como é o caso do sistema Vitek 2 desenvolvido pela Biomerieux.

A corrida das multinacionais em desenvolver métodos de identificação bacteriana e testes de sensibilidade cada vez mais precisos seguirem no sentido da automatização total, o desenvolvimento de testes para a determinação da sensibilidade a antifúngicos não acompanhou o mesmo desenvolvimento. No Brasil apenas o *Sensititre Yeast One* e o sistema Vitek 2 possuem testes de sensibilidade a antifúngicos de modo automatizado. Ambos sistemas são considerados como comparáveis ao método de referência proposto pelo CLSI M27-A3 (CLSI, 2008a). Publicações mostram alta correlação dos resultados entre os dados gerados (92 a 100%) tanto pelo *Sensititre Yeast One* e Vitek 2 em relação as principais leveduras envolvidas em ICS e os fármacos que constituem os testes (Pfaller et al. 2016a, 2016b).

Observando os resultados do projeto Candidemia Brasil (Colombo et al. 2006) já era possível constatar diferenças na distribuição das espécies de leveduras no Brasil em relação ao que se encontra na América do Norte e Europa. Além disto, a taxa de incidência de candidemia no Brasil mostrou ser entorno de duas vezes maiore que o encontrado nos EUA (Colombo et al. 2006). Mesmo no Brasil, com tanta diversidade, diferenças culturais e sociais que há no território, há uma necessidade eminente de se conhecer, em caráter mais local, esta realidade. As regiões sul e sudeste são as que mais contribuem com publicações voltadas ao estudo da candidemia,

principalmente em hospitais terciários e universitários. No nordeste brasileiro são poucos os trabalhos que podem ser encontrados na literatura que tenham a mesma abordagem (Medrano et al. 2006; Hinrichsen et al. 2008, 2009; Parahym et al. 2009; Chermont et al. 2015), além de descrever seus principais fatores de risco, agentes e suas sensibilidades às drogas. Na Bahia em particular, destaca-se apenas o trabalho de Barberino et al. (2006), onde se avaliou os fatores de risco e distribuição de espécies, mas não a sensibilidade, em três hospitais terciários pertencente à rede de assistência hospitalar privada. Dentro do serviço público, no Estado da Bahia, não há relatos na literatura sobre a candidemia, sua incidência e sua etiologia, dentre outros aspectos.

1.1 ETIOLOGIA DAS INFECÇÕES DE CORRENTE SANGUÍNEA (ICS) POR LEVEDURA

Segundo os dados do estudo multicêntrico latino-americano mais recente (Nucci et al. 2013), a sobrevida pós trinta dias de um paciente com candidemia, é de aproximadamente 59%, sendo que o grupo dos idosos tem a menor taxa de sobrevivência pós 30 dias (37,7%), seguido por recém-nascidos (59,7%), adultos (61,9%), crianças (73,3%) e crianças mais velhas, 7 a 12 anos, (73,7%). Revela também que entre os indivíduos tratados a sobrevida é de aproximadamente 65% independente do antifúngico administrado na terapia primária. A manutenção da terapia antifúngica por tempo prolongado acaba por elevar os custos socioeconômicos (Giolo et al. 2010).

Outro fato também relevante que deve ser observado no manejo das ICS é que pacientes com candidemia apresentam uma, ou mais, doenças coexistentes que influenciam o desfecho clínico, sendo difícil isolar a variável mais significativa para a má evolução dos casos (Pfaller e Diekema 2007). Outro fato que corrobora para a evolução clínica são as unidades laboratoriais, muitas vezes, não equipadas e treinadas para realizar

identificação correta do agente fúngico envolvido na ICS, causando um atraso no início da terapia correta e reduzindo ainda mais a sobrevida do paciente.

As leveduroses invasivas são causadas, principalmente, por leveduras do gênero *Candida* em todo o mundo, mas outros gêneros, como: *Cryptococcus, Trichosporon, Malassezia*, *Rhodotorula,* entre outros, já foram relacionados como causa de ICS (Taj-Aldeen et al. 2006; Tuon e Costa 2008).

O gênero *Candida* pertence ao reino *Fungi*, grupo *Eumycota*, filo *Deuteromycota*, classe *Blastomycetes,* família *Cryptococcacea*. Sem dúvida, a espécie de maior importância clínica, por sua grande frequência é *C. albicans,* que engloba mais duas espécies crípticas (*C. dubliniensis, C. africana*), fenotipicamente, semelhantes. Entretanto, outras quatro espécies do gênero contribuem para a etiologia de mais de 95% dos casos: *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* (complexo de 3 espécies) e *C. tropicalis* (Dalazen e Zanrosso 2011).

C. albicans pode ser encontrada nos mais variados locais, desde fômites, superfícies inanimadas e em diversos sítios da microbiota humana e isso pode explicar sua maior ocorrência como agente etiológico das infecções por leveduras. Sua distribuição relativa a outras espécies pode variar de acordo com os fatores de riscos associados ao ambiente, região geográfica, idade, história de intervenções cirúrgicas, imunodepressão, antibioticoterapia prévia com fármacos antibacterianos de amplo espectro, associados ou não, a antifúngicos e utilização, ou não, de cateteres intravasculares (Colombo et al. 2013).

As outras espécies descritas como agentes menos frequentes de ICS são: *C. lusitaniae, C. famata, C. guilliermondii, C. kefyr, C. rugosa, C. dubliniensis, C. inconspicua, C. novergensis, C. lipolytica, C. zeylanoides, Pichia anomala (C. pelliculosa), C. sake, C. lambica* e *C. haemulonii* (Rex e Pfaller 2002; Pappas et al. 2004; Pfaller e Diekema 2004; Spellberg et al. 2006; Pfaller et al. 2007).

A depender da epidemiologia da unidade hospitalar a suspeita clínica de septicemia por fungos é tardia. Aliado a isso a sensibilidade diagnóstica das hemoculturas na recuperação do agente fúngico é baixa,

aproximadamente 50% dos pacientes com candidemia terão resultados de hemocultura negativa (BRASIL, 2013), o que complica ainda mais a configuração do quadro de fungemia. Durante anos a identificação laboratorial das espécies de leveduras ficou relegada ao simples ato da determinação de: *C. albicans* ou outra espécie de *Candida* não *C. albicans* (CNCA). Devido à urgência do diagnóstico e da gravidade da infecção que, já era diagnosticada em muitos casos tardiamente, os laboratórios acabaram por marginalizar esta tarefa, mas que hoje é reconhecida como de fundamental importância para melhor direcionamento do tratamento.

A evolução de métodos para a identificação de leveduras permitiu que diversos laboratórios, em todo o mundo, realizassem tais procedimentos de modo mais seguro e rápido, seja por meio de testes manuais, que levam de 24 a 72 horas para a identificação, seja, os automatizados que levam até 24hs ou por método baseado no estudo de proteínas ribossomais, o que permite a identificação de espécies em minutos, como por exemplo o *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization* (MALDI-TOF)(Buchan e Ledeboer 2013), em contraponto aos métodos clássicos, que necessitam longos períodos de tempo para sua realização, como auxanograma e zimograma.

Durante anos *C. dubliniensis* foi identificada pelos laboratórios como sendo *C. albicans* até ser descrita em 1995 (Sullivan et al. 1995). Na década passada, *C. africana* foi descrita como a terceira espécie do complexo *C. albicans* (Tietz et al. 2001). Isto se deve ao fato das três espécies serem, fenotipicamente muito semelhantes. Somente os avanços em biologia molecular a partir da década de 80 com o surgimento e disseminação dos métodos de amplificação e detecção de ácidos nucleicos, a taxonomia, incorporando esta nova tecnologia, foi capaz de diferenciar as três espécies por meio de análises moleculares. Menos frequente que *C. albicans,* as duas espécies também estão relacionadas a quadros de ICS e, por isso, recomenda-se que em estudos epidemiológicos a população de leveduras identificadas como *C. albicans* seja reavaliada por métodos moleculares, para verificar se há a presença de espécies crípticas entre os isolados (Sancak et al. 2003).

C. parapsilosis que, até a década de 90, era tida como uma única espécie, a partir de estudos do material genético, passou a ser classificada em três grupos (I, II e III) que, posteriormente, foram denominados de complexo *Psilosis* (*C.ortopsilosis*, *C. metapsilosis* e *C. parapsilosis "stricto sensu*") (Tavanti et al. 2005). *Lodderomyces elongisporus* foi reconhecida como outra espécie relacionada a *C. parapsilosis*. Sua importância clínica como agente de candidemia foi observada na Ásia e México (Lockhart et al. 2008) e enfatizaram que as infecções de corrente sanguínea causadas por este complexo possuem taxas de mortalidade, significantemente, menores do que outras espécies de *Candida*. No entanto, trata-se de leveduras com alta capacidade de colonizar e aderir-se a materiais plásticos podendo causar sepse, principalmente, em pacientes com utilização de acessos por cateteres venosos. Além disto, por fazer parte da microbiota da pele, este complexo de espécies está associado a surtos em unidades hospitalares fechadas como UTI e, principalmente, em serviços de Neonatologia (Lavalle-Villalobos 2010).

Outra espécie importante dentro da epidemiologia das ICS é *C. tropicalis*. No Brasil, essa espécie assume segundo ou terceiro lugar entre as CNCA e é frequentemente isolada de pacientes internados em unidades de terapia intensiva (UTI's) (Wingard 1995), de pacientes com doenças oncológicas (Kontoyiannis et al. 2001) ou hematológicas que cursam com neutropenia (Colombo e Guimarães 2003; Garey et al. 2007; Nucci e Colombo 2007). Do grupo de espécies CNCA, *C. tropicalis* é um patógeno emergente, em particular, em países da América Latina, como Brasil, acometendo também pacientes não-portadores de doenças oncológicas (Godoy et al. 2003; Goldani e Mário 2003). Dados de estudos de base populacional realizados em países europeus e nos EUA, no entanto, mostram baixas de frequência variando entre 2,5%, na Escócia, até 13% registrados na Islandia (Odds et al. 2007; Leroy et al. 2009; Guinea 2014).

Outra levedura do gênero que apresenta distribuição bastante diferente entre os hemisférios norte e sul é *C. glabrata*. Um importante patógeno humano, oportunista, capaz de causar infecções sistêmica sem indivíduos imunocomprometidos e em vários outros grupos de pacientes. *C.*

glabrata representa, segundo estudos brasileiros, a quarta ou quinta causa causa de candidemia (Colombo et al. 2006; Hinrichsen et al. 2008, 2009; Nucci et al. 2013). Em contraste a maioria das leveduras do gênero que apresentam a capacidade de filamentação, considerada uma característica importante na virulência, *C. glabrata* tem um genoma haplóide e não possui a capacidade para exibir crescimento filamentoso (Rodrigues et al. 2014). Entretanto *C. glabrata* abriga um grande repertório de moléculas envolvidas na adesão aos epitélios. Curiosamente, a plasticidade do genoma, mudança fenotípica ou a notável capacidade de persistir e sobreviver dentro de células do sistema imunológico do hospedeiro contribuem para patogenicidade de *C. glabrata* tornando-a um microrganismo altamente perigoso (Tscherner et al. 2011). Um dos principais obstáculos para a terapia clínica de infecções por *C. glabrata* é a sua alta resistência a vários antifúngicos, especialmente azóis (Rodrigues et al. 2014). Além disso, o desenvolvimento da resistência antifúngica nesta espécie e durante as terapias prolongadas e medidas profiláticas diminui as eficácias de intervenções terapêuticas em candidemias por *C. glabrata* (Colombo et al. 2006; Nucci et al. 2013).

Duas espécies crípticas foram relacionadas a *C. glabrata* - *C. bracarensis e C. nivariensis* (Alcoba-Flórez et al. 2005; Correia et al. 2006). Estudos têm mostrado tanto a habilidade compartilhada em promover ICS, quanto às diferentes características de sensibilidade aos azólicos dentre essas três espécies do complexo (Bishop et al. 2008; Borman et al. 2008; Rodrigues et al. 2014).

Outras gêneros de leveduras menos frequentemente envolvidos em ICS são *Kodamea e* que podem levar o paciente ao quadro de fungemia pela associação da infecção de válvulas cardíacas e catéteres (Chakrabarti et al. 2001; Taj-Aldeen et al. 2006). O gênero *Trichosporon* está associado a pacientes oncológicos e/ou hemoterápicos (Suzuki et al. 2010; Hosokawa et al. 2012). Relatos de fungemia por *Malassezia sp* na literatura mostram a associação forte com a presença de cateter venoso central e administrações lipídicas no paciente (Dankner et al. 1987; Barber et al. 1993). *Rhodotorula sp,* uma levedura encapsulada, também está associada a pacientes

imunocomprometidos podendo levar a graves casos de sepse (Tuon e Costa 2008). Todas essas infecções são muito menos frequentes que as ICS provocadas pelo gênero *Candida*.

1.2 ANTIFÚNGICOS EM ICS POR LEVEDURAS

Diferente do leque de moléculas, e associações terapêuticas de caráter sinérgico, que podem ser utilizadas no tratamento de ICS provocadas por bactérias, o arsenal terapêutico de antifúngicos sistêmicos é bastante limitado.

Um dos mais antigos e, talvez, o antifúngico mais eficiente no tratamento de infecções sistêmicas fúngicas graves, é a anfotericina B (Figura 1). Pertencente à classe dos poliênicos, a anfotericina B apresenta estrutura molecular que lhe confere a característica físico-química de molécula anfótera, ou seja, é capaz de interagir tanto em meios hidrofílicos quanto hidrofóbicos.

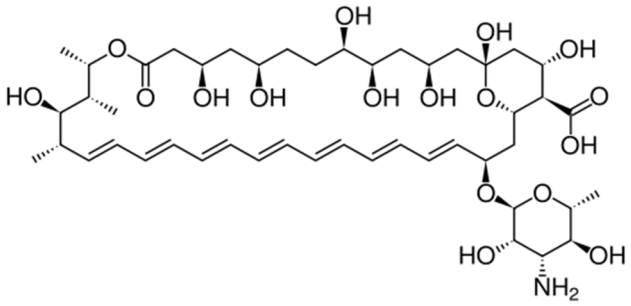


Figura 1.Representação da estrutura química da molécula de anfotericina B

O contato da anfotericina B (AmB) com os fosfolipídios da membrana celular, em especial o ergosterol, promove o surgimento de um monômero que, polimerizado, formará poros permeáveis ao Na^+, K^+ e Mg^{2+} (Figura 2).

Pelos gradientes de concentração, a entrada de Na^+ e saída de K^+ e Mg^{2+} ocorre em grande quantidade, o que provoca a ativação da bomba Na^+/K^+ ATPase. Para manter os níveis de ATP intracelulares, intensifica-se a respiração mitocondrial e o consequente consumo de oxigênio. Quando a

demanda supera a capacidade de produção de ATP, ocorre depleção energética, formação de radicais livres e acúmulo de cálcio intracelular. Todos estes processos podem culminar em lesões letais para as células via apoptose e necrose. Outro aspecto relevante na atividade da AmB é a integração da lesão direta e a redução da perfusão renal. A hipocalemia frequentemente associada ao tratamento com anfotericina B é resultante do fenômeno de lesão direta. No entanto a própria hipocalemia é apontada como fator importante em algumas nefropatias agudas (Goodman e Gilman 2006). Formulações lipossomais de AmB, que diminuem esses efeitos tóxicos, têm espaço nos tratamentos das candidemias em todo o mundo (Espinel-Ingroff 2009; Pappas et al. 2009).

Novas formulações de anfotericina B foram desenvolvidas com o objetivo de diminuir a nefrotoxicidade, enquanto se mantém a melhor eficácia. A primeira destas formulações lipídicas foi a anfotericina B em dispersão coloidal (ABCD, Amphotec). A segunda formulação foi a anfotericina lipossomal B (L-AmB, Ambisome). A terceira formulação foi o complexo lipídico de anfotericina B (ABLC, Abelcet). A bicamada lipídica pode proteger os fármacos de serem destruídos por degradação enzimática. A anfotericina lipídica apresenta vantagens sobre a anfotericina B convencional, principalmente, porque se pode aumentar em 10 vezes a dose diária, permite alta concentração tecidual com diminuição dos efeitos relacionados à infusão e diminuição da toxicidade renal (Goodman e Gilman 2006).

O custo final da formulação lipídica é muito maior quando comparado com a anfotericina B original e no, sistema público de saúde, a formulação convencional é a que está disponível para o tratamento na grande maioria dos casos. No entanto, as consequências da utilização da formulação convencional podem levar o paciente a desenvolver outras complicações em decorrência da toxicidade do medicamento como é o caso da insuficiência renal, que além de promover uma maior morbidade para o paciente, aumenta também os custos hospitalares.

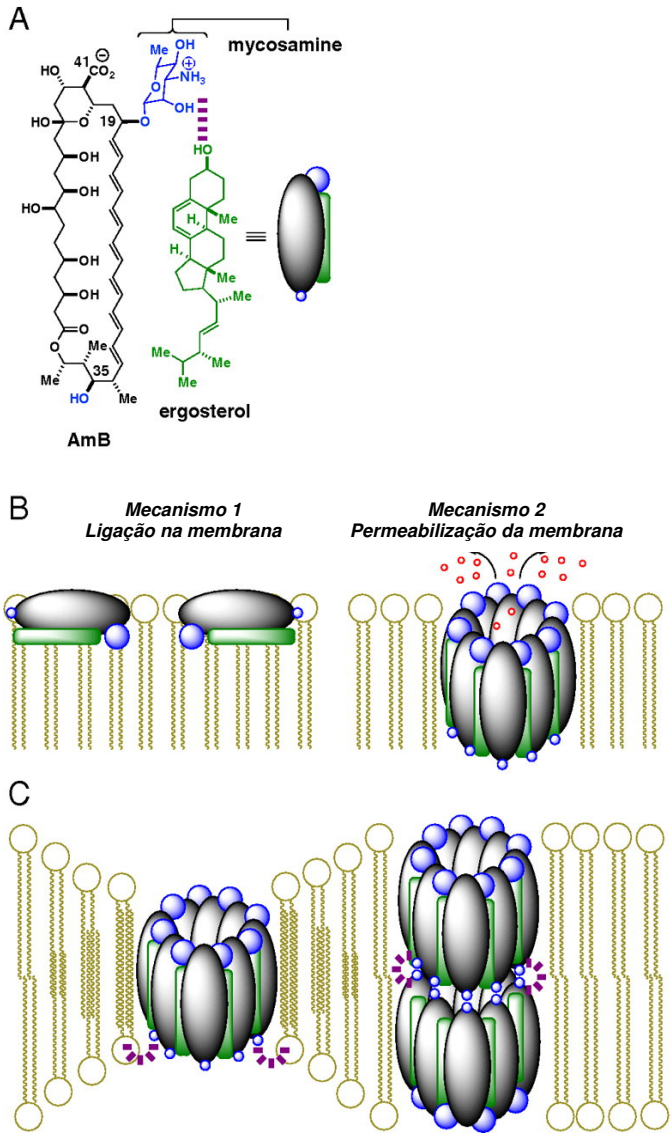


Figura 2- Representação esquemática da ação da Anfotericina B (AmB). (A) estrutura molecular da AmB. (B) ligação AmB-ergosterol e permeabilização da membrana. (C) estruturas de canal de íons, em que o grupo hidroxila em C35 é crítico para automontagem dos canais (Gray et al. 2012).

A atividade antifúngica destes preparados lipídicos da anfotericina B é comparável à da anfotericina B original. Elas podem ser usadas no tratamento empírico de infecções fúngicas presumíveis refratárias a anfotericina B original. Nos pacientes com insuficiência renal ou recebendo outros agentes tóxicos aos rins, o uso destas formulações lipídicas é preferível em relação à anfotericina B original. Assim a indicação dos preparados lipídicos de anfotericina deve ser reservada para os pacientes refratários ao tratamento com anfotericina B original, nos pacientes com insuficiência renal

prévia e naqueles que apresentam alterações renais (aumento da creatinina) durante o tratamento com a anfotericina convencional (Filippin e Souza 2006; Goodman e Gilman 2006).

Quatro anos após a descoberta da anfotericina B surge, em 1957, outro fármaco que apresentava um mecanismo de ação completamente diferente. A fluorcitosina ou 5-fluorocitosina (5-FC). Produto sintético análogo da citosina (Figura 3), desenvolvido primeiramente como fármaco para o tratamento antitumoral, mas não obtendo êxito para este fim. A 5-FC foi testada, em caráter experimental, contra infecções disseminadas por *Candida* e *Cryptococcus* em ratos de laboratório onde apresentou atividades contra os dois gêneros de levedura. Em 1968 a 5-FC já era administrada para tratamento em humanos contra infecções sistêmicas por *Candida* e *Cryptococcus* (Vermes et al. 2000).

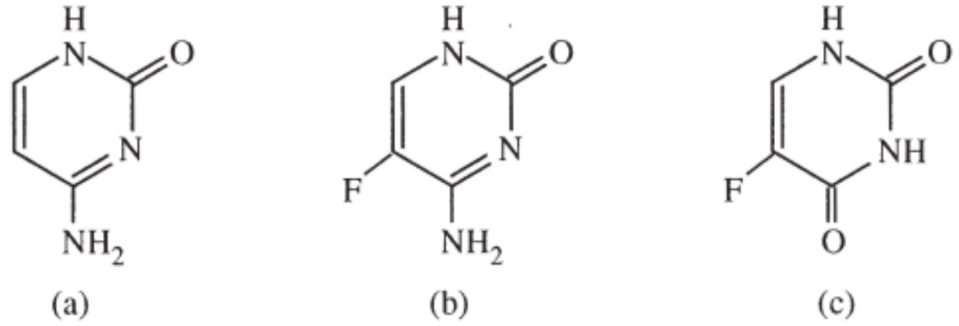


Figura 3 - Representação da estrutura química da citosina (a); 5-Fluorocitosina/5-FC (b) e; 5-Fluoruracila (c).

O fato da 5-FC ser um análogo de uma base pirimídica, o seu mecanismo de reação está ligado ao metabolismo dos ácidos nucleicos. A 5-FC é um pró fármaco que necessita de uma desaminação que ocorre no interior das celulares gerando metabólito ativo, a 5-fluorouracil que pode seguir para a síntese do RNAm com erros impedindo a sua tradução ou também pode ser fosforilado até a formação da fluorodesoxiuridina monofosfato que servirá de base para a formação do análogo do nucleotídeo desoxiuridina trifosfato (dUTP) quanto inibidor da enzima Timidilato síntese causando a depleção do nucleotídeo desoxitimidina trifosfato (dTTP) (Vermes et al. 2000; Tamatani et al. 2012) (Figura 4).

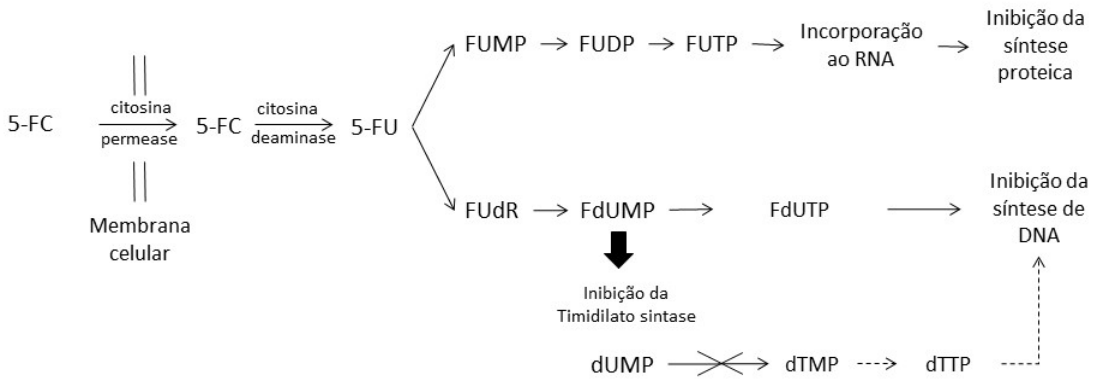


Figura 4 – Esquema mostrando as duas rotas intracelulares que sofrem a interferência da ação da 5-FC.
5-FC, 5-fluorocitosina; 5-FU, 5-fluorouracil; FUMP, 5-fluorouridina monofosfato; FUDP, 5-fluorouridina difosfato; FUTP, 5-fluorouridina trifosfato; FUdR, 5-fluorodesoxiuridina; FdUMP, 5-fluorodesoxiuridina monofosfato; FdUTP, 5-fluorodesoxiuridina trifosfosfato; dUMP, deoxiuridina monofosfato; dTMP, deoxythymidine monofosfato; dTTP desoxitimidina trifosfato (Vermes et al. 2000; Tamatani et al. 2012).

Diante da limitação do uso da anfotericina B, novos fármacos mais toleráveis pelo organismo humano foram surgindo ao longo dos anos. Os triazois surgiram como promessa de menos efeitos tóxicos aos pacientes e não desenvolvimento de nefropatias. Os triazóis de primeira geração são: fluconazol e itraconazol, os de segunda geração são: voriconazol, ravuconazol e posaconazol (Goodman e Gilman 2006) (Figura 5).

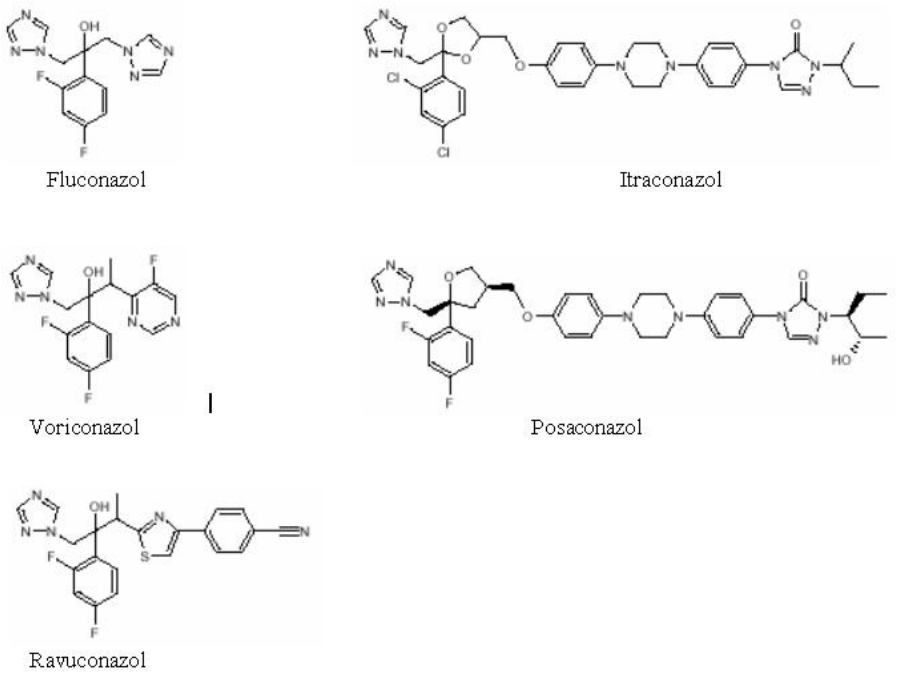


Figura 5. - Representação das estruturas moleculares dos antifúngicos da classe dos azólicos.

Os triazóis são compostos totalmente sintéticos. O mecanismo de ação destes fármacos baseia-se na inibição da esterol-14-α-demetilase, um sistema enzimático microssomal dependente do citocromo P450, prejudicando a síntese do ergosterol na membrana citoplasmática (Figura 6) e levando ao acúmulo de 14-α-metilesteróis (Goodman e Gilman 2006). Esses metilesteróis não possuem a mesma forma e propriedades físicas que o ergosterol e levam à formação da membrana com propriedades alteradas, que não desempenha as funções básicas necessárias ao desenvolvimento do fungo, além de serem tóxicos para a célula fúngica em altas concentrações (Goodman e Gilman 2006; El-Garhy 2015) (Figura7).

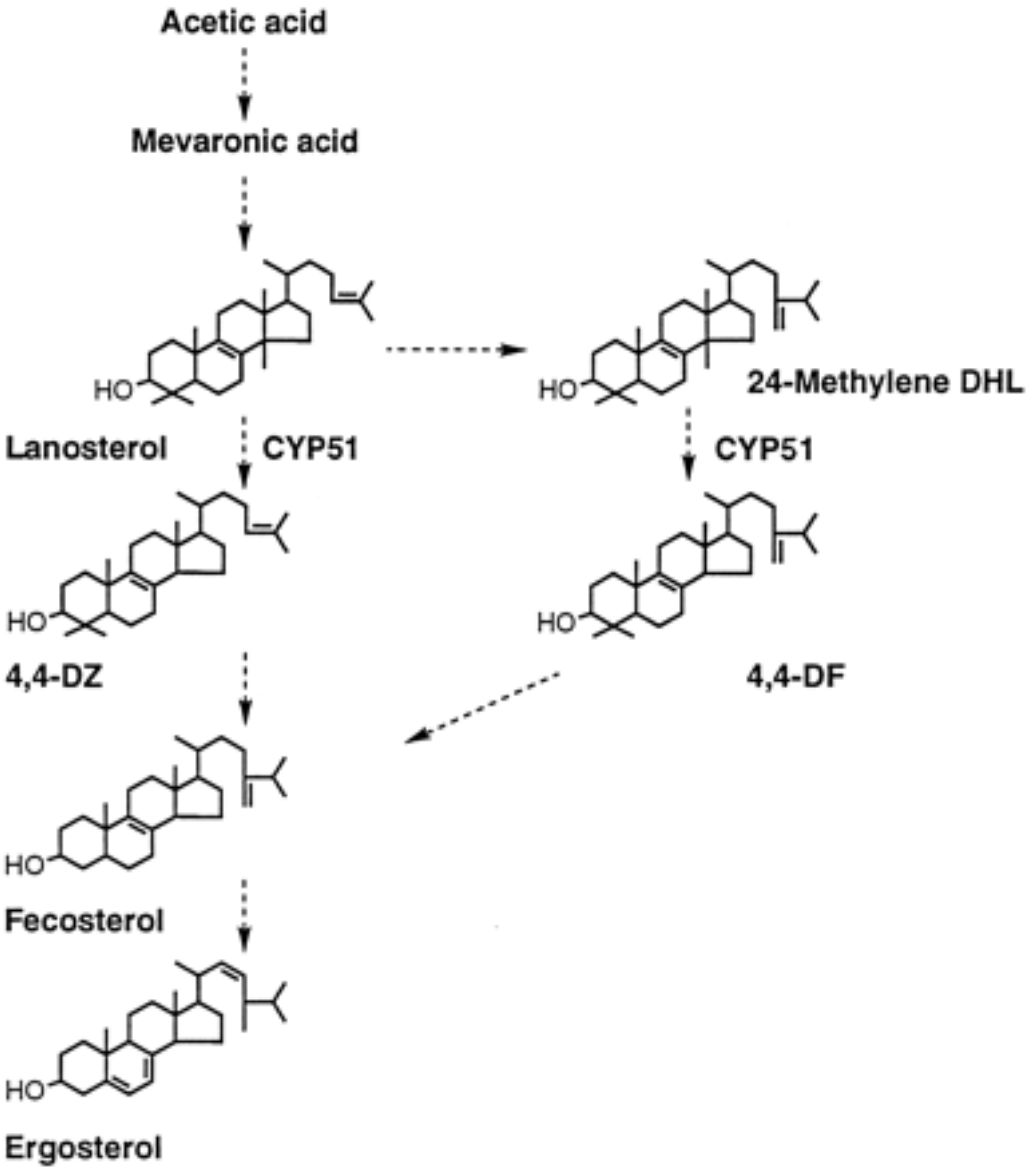


Figura 6 - Rota de síntese do ergosterol (Asai et al. 1999).

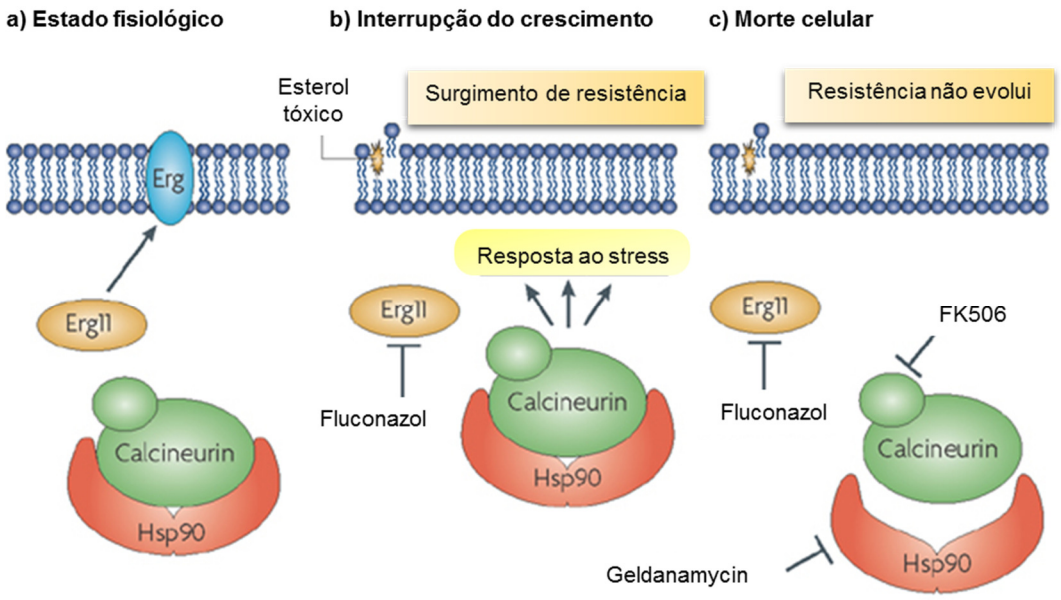


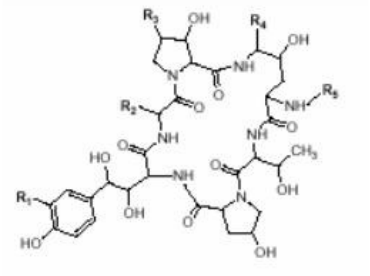
Figura 7 - Representação esquemática do resultado da ação dos azóis e outras moléculas importantes do mecanismo de reparo da membrana celular.**(a)** Sob condições fisiológicas normais, as células fúngicas contem ergosterol na membrana celular e respostas de stress-dependente da calcineurina não são necessárias para a maioria das espécies, incluindo *Saccharomyces cerevisiae* e a *Candida albicans*;**(b)** antifúngicos (por exemplo, o fluconazol) que inibem o produto do gene ERG11, a enzima14α-demetilase, bloqueiam a síntese de ergosterol, o que resulta na acumulação de um esterol tóxico intermediário que perturba a integridade da membrana. A proteína de choque térmico 90 (Hsp90) acompanhada da calcineurina, ativam as redes de transdução de sinais que são necessários para o surgimento e manutenção da resistência às drogas. **(c)** inibidores de Hsp90 (por exemplo, geldanamicina) ou inibidores de calcineurina (por exemplo, FK506) bloqueiam estas redes de sinalização e, por conseguinte, evitam a evolução de resistência e/ou a anulam, uma vez que o mecanismo já esteja estabelecido na célula (Cowen 2008).

Os azóis causam menos reações adversas que a anfotericina B, mas são menos potentes que a mesma. Podem ter ação fungistática ou fungicida a depender da dose e do microrganismo. O uso excessivo dos azóis levou ao aparecimento de resistência em espécies suscetíveis. Além disso, os azóis ainda apresentam a desvantagem da resistência cruzada, desde que compartilham o mesmo mecanismo de ação (Goodman e Gilman 2006; Foye et al. 2008).

Outra classe que surgiu, mais recentemente, é a das equinocandinas. São antifúngicos semissintéticos derivados de antibióticos hexapeptídeos cíclicos acilados, descobertos nos anos 70. Estas substâncias inibem a enzima β-1,3-glucano sintase, resultando na interrupção da formação da

parede celular. A cilofungina foi a primeira equinocandina a alcançar a fase II de ensaios clínicos, por sua atividade contra espécies de *Candida*, mas seu desenvolvimento foi interrompido em função da nefrotoxicidade e da acidose metabólica, relacionadas ao veículo polietilenoglicol contido na preparação para injeção intravenosa (Graybill JR, Najvar LK 1998; González et al. 2001).

A segunda equinocandina com ação antifúngica, a caspofungina (MK-0991, L-743,872), foi estudada em humanos e se tornou o primeiro componente desta classe a receber aprovação comercial do *Food and Drug Administration* (FDA). Outras drogas que alcançaram ensaios clínicos e que já estão disponíveis no mercado são a anidulafungina (LY303366) e a micafungina (FK463) (Figura 8).



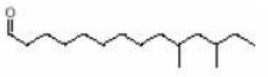
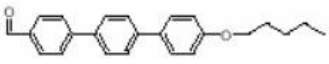
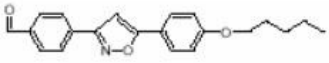
	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
Pneumocandina B_0	H	$NH_2(CO)CH_2CHOH$	H	OH	
Caspofungina	H	$NH_2(CH_2)_2CHOH$	H	$NH(CH_2)_2NH_2$	
Equinocandina B	H	CH_3CHOH	CH_3	OH	
Anidulafungina	H	CH_3CHOH	CH_3	OH	
FR901379	$HOSO_3$	$NH_2(CO)CH_2CHOH$	CH_3	OH	
Micafungina	$HOSO_3$	$NH_2(CO)CH_2CHOH$	CH_3	OH	

Figura 8. Representação da estrutura básica das equinocandinas e as possíveis alterações de radicais na síntese de fármacos empregados na terapêutica (BERGOLD e GEORGIADIS 2004).

A comunidade científica enfrenta um grande desafio na busca por novas estruturas químicas que sejam capazes de agir de forma mais rápida, segura e eficaz no tratamento de doenças microbianas. Seja pelo melhoramento das estruturas moleculares já existentes, ou novas bases químicas ou ainda por outros mecanismos que interfiram em outras rotas bioquímicas ainda não exploradas (Figura 9).

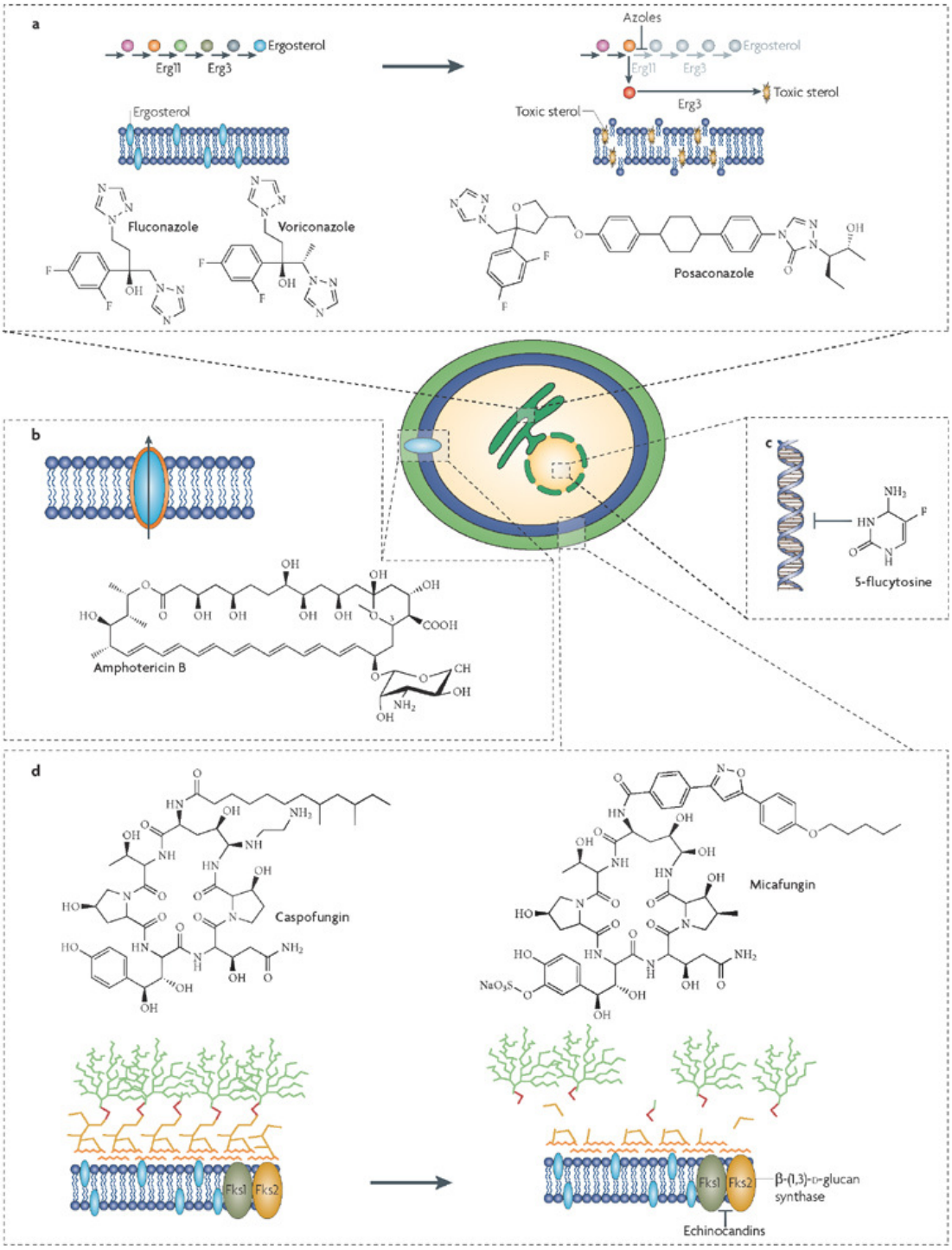


Figura 9. Mecanismo de ação dos principais antifúngicos usados para candidemias A) Azóis inibem o gene ERG11, bloqueiam a produção de ergosterol e provocam acúmulo de esterol tóxico intermediário. B) Polienosse ligam a ergosterol, formando assim os poros nas membranas celulares. C) Equinocandinas inibem a (1,3)-D-glucano-sintase (subunidade catalítica, codificada pelos genes FKS1 FKS2) alterando a integridade da parede celular (Cowen 2008).

Por outro lado, a intensa pressão seletiva que é feita sobre estes microrganismos ao longo dos anos, tem os tornados capazes de escapar das investidas contra eles. Uma série de mecanismos e genes de resistência e mutações já foram descritos e estão bem sedimentados na literatura (Figura 10).

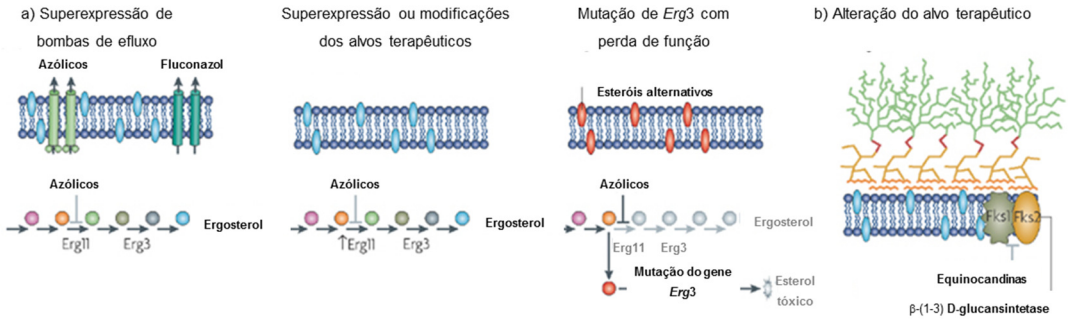


Figura 10. Principais mecanismos de resistência aos antifúngico. A) Resistência à azólicos podem resultar do aumento da expressão de duas classes de bomba de efluxo CDR1/CDR2 e MDR1/FLU1; através da mutação ou super expressão de *Erg*11; ou alterações na biossíntese do ergosterol, tais como a mutação de perda de função de *Erg*3, que bloqueia a acumulação de um esterol tóxico intermediário que é produzido quando *Erg*11 é inibida por azólicos. B) Resistência à equinocandinas pode resultar de mutações no *Fks*1 que minimizem os efeitos da droga sobre o alvo. (Morschhäuser 2002; Cowen 2008).

Frente a essas informações, conclui-se que é necessário não só o conhecimento da epidemiologia, mas também, o monitoramento contínuo laboratorial das infecções fúngicas invasivas, para verificar a incidência, caracterização de espécies emergentes e detecção de resistência a antifúngicos. A emergência crescente de resistência é, em parte, devido a falhas no controle de infecção fúngica nosocomial, geralmente ineficazes e, além disso, ao uso indiscriminado de antifúngicos (Branchini et al. 1994; Morgan et al. 2005; Pfaller e Diekema 2007).

2 OBJETIVO GERAL

Obter dados epidemiológicos sobre os agentes de infecções fúngicas invasivas por leveduras em pacientes hospitalizados em unidades públicas do município de Salvador, Bahia, Brasil.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1 - Descrever a distribuição dos agentes fúngicos responsáveis por ICS em hospitais públicos de Salvador.

2 - Descrever o perfil de sensibilidade desses isolados ao fluconazol segundo método de referência para disco difusão CLSI M44-A2.

3 - Descrever o perfil de sensibilidade desses isolados segundo método automatizado VITEK2 (BioMérieux - Fr).

4 - Comparar as metodologias e as interpretações de susceptibilidade adotadas pelos documentos propostos pelo CLSI e EUCAST.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 AMOSTRAS

3.1.1 Total de amostras

Para o período do estudo foram estimados pelo sistema de gestão laboratorial do LACEN/BA (Sistema SMART) 250 ocorrências de ICS por leveduras. Os isolados foram obtidos do banco de culturas do Laboratório de Micologia Médica, do Laboratório Central de Saúde Pública Prof. Gonçalo Moniz - LACEN/BA, pertencente a Secretaria de Saúde do Estado da Bahia – SESAB. As leveduras foram isoladas de hemoculturas oriundas de seis hospitais públicos na área do município de Salvador, para os quais o LACEN/BA é referência. As amostras da micoteca encontravam-se armazenadas em freezer à temperatura de -80°C, em criotubos plásticos contendo caldo *brain heart infusion* (BHI) com glicerol a 8%.

3.1.2 Critério de Inclusão/Exclusão de amostras

Para efeito de inclusão foi considerado, apenas um isolado de hemocultura positiva para levedura, previamente identificada como sendo do gênero *Candida* e proveniente de paciente internado no período de janeiro de 2009 a dezembro de 2012.

Para exclusão considerou-se que, para o mesmo paciente, resultados de hemocultura positiva para levedura, obtidos em intervalo inferior a 30 dias, seriam considerados como de um único episódio e, nesse caso, o segundo isolado foi descartado, para efeito deste estudo.

3.1.3 Processamento das amostras

Os ensaios de identificação e testes de sensibilidade foram realizados no Laboratório de Micologia Médica, do Laboratório Central de Saúde Pública Prof. Gonçalo Moniz - LACEN/BA.

Dos isolados, previamente, identificados e conservados em meio BHI com glicerol 8% a -80ºC, foram realizados repiques em ágar Sabouraud (ASD) e posterior em ChromAgar *Candida®* (Difco), distribuído em placa de Petri de 60mm, para confirmação de sua viabilidade e pureza, a partir do aspecto colonial e coloração indicativas de sua espécie. As amostras foram, então, submetidas à identificação pelo sistema VITEK2 (BioMérieux, Fr) e ou API 20C AUX (BioMérieux, Fr), além de testes de sensibilidade por método de disco-difusão (BioRad-EUA) e determinação automatizada da concentração inibitória mínima (CIM) de antifúngico pelo sistema VITEK2 (BioMérieux, Fr) com o cartão AST-YS01.

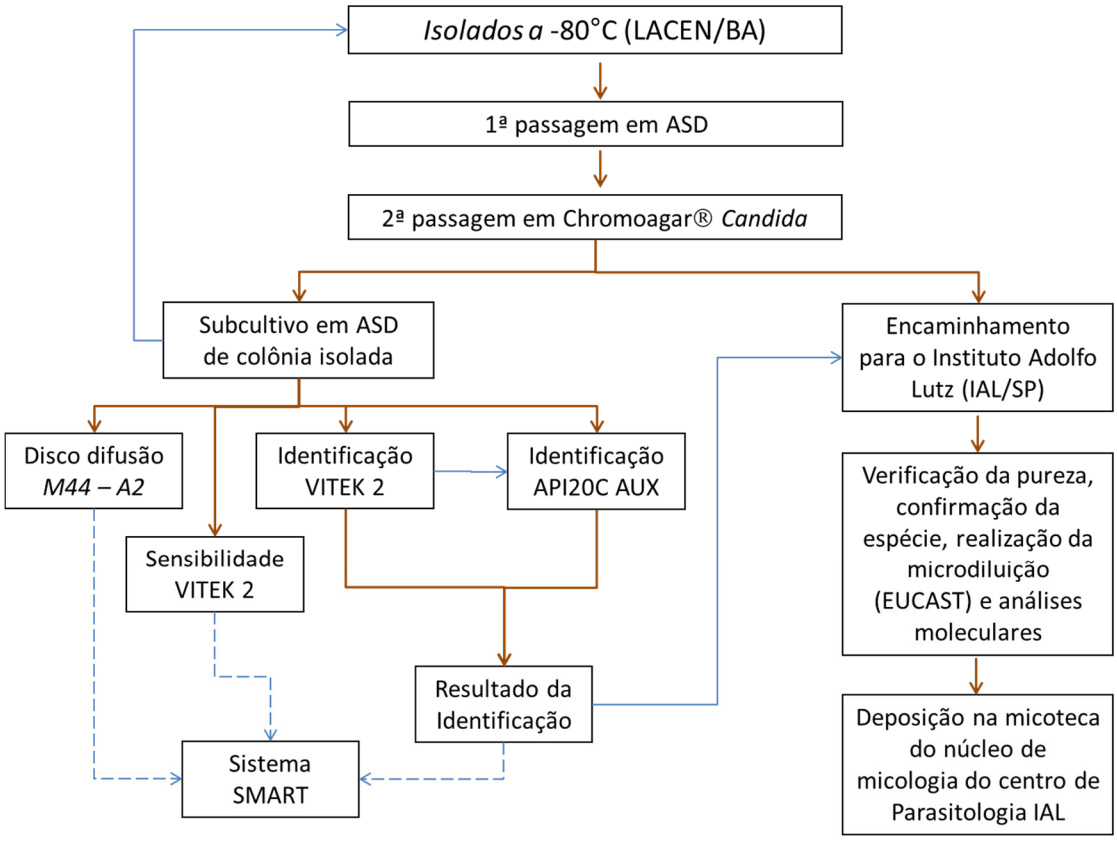


Figura 11 – Representação do fluxograma de trabalho

3.2 CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

3.2.1 Meio de cultura cromogênico

A performance dos meios preparados foi verificada, seguindo as orientações do fabricante utilizando as cepas *Candida albicans* ATCC 14053, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida tropicalis* ATCC 750 e *Candida parapsilosis* ATCC 22019.

3.2.2 Meio de cultura ágar Mueller-Hinton azul de metileno com suplemento de glicose (AMHAmG)

A performance dos meios preparados foi verificada, observando a altura do meio ágar recomendada para destes baseados em Kirby-Bauer (4mm) e observação do resultado de halo de inibição de crescimento pelo fluconazol para as cepas *Candida krusei* ATCC 6258 (≤14mm) e *Candida parapsilosis* ATCC 22019 (27 – 33mm) (CLSI, 2009b).

3.2.3 Identificação dos isolados

O controle de qualidade do sistema de identificação automatizado VITEK 2 Compact (BioMérieux-Fr) e do sistema API 20C AUX (BioMérieux - Fr) foi realizado, em cada nova abertura de lote do *kit*, por meio de cepa controle *C. albicans* ATCC 14053.

3.2.4 Teste de sensibilidade

A validação dos ensaios foram realizadas mediante a performance das cepas *C. parapsilosis* ATCC 22019 e *Candida krusei* ATCC 6258 para o sistema VITEK2 (BioMérieux - instruções do fabricante), disco difusão (CLSI, 2009b).

3.3 TESTES DE SENSIBILIDADE A ANTIFÚNGICOS

3.3.1 Disco Difusão

Os ensaios de disco difusão foram realizados com a aplicação de discos de papel de filtro impregnados com fluconazol 25mcg (BioRad) em meio AMHAmG inoculado com suspensão de cada isolado de ICS, em turvação equivalente a escala 0,5 de MacFarland, preparada com auxílio de turbidímetro (BioMérieux, Fr) e seguindo o protocolo proposto pelo documento CLSI M44-A2 (CLSI, 2009). A sensibilidade ao fluconazol foi classificada segundo o mesmo documento, onde: halo $\leq$14 mm indica isolado resistente, halo entre 15mm e 18mm indica isolado com sensibilidade dependente da dose (SDD) e halo ≥19 indica isolado sensível.

3.3.2 CIM Automatizada

A CIM automatizada para anfotericina B, fluconazol, voriconazol e 5-fluorcitosina foi obtida por meio do sistema VITEK2 Compact (BioMérieux, Fr), utilizando-se o cartão AST-YS01, fornecendo as informações acerca dos quatro fármacos.

3.3.2.1 Critérios de interpretação cruzada CLSI X EUCAST

Os dados brutos de CIM fornecidos pelo sistema VITEK2 foram analisadas segundo os critérios descritos nos documentos CLSI M27-S3 (CLSI, 2008b), apenas para a 5-fluorocitosina, M27-S4 (CLSI, 2012), EUCAST-AFST E.DEF 7.2 (Arendrup et al. 2012) e suas notas técnicas (Rodriguez-Tudela 2008; Lass-Flörl et al. 2011; Arendrup et al. 2014)

3.4 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram avaliados segundo os parâmetros aplicados à estatística descritiva. E os resultados apresentados de forma gráfica utilizando o software Excel 2010.

3.5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O trabalho foi apresentado ao Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Adolfo Lutz, com nº de registro 030/2011 e com 1º parecer com nº de protocolo 076/2011 (anexo 1).

4 RESULTADOS

Foram encontrados no período do estudo, 250 isolados do gênero *Candida* (Apêndice 1), sendo que a distribuição pode ser visualizada na Tabela 1 e na Figura 12. Os isolados encaminhados para controle de qualidade no IAL tiveram suas identificações e CIM confirmadas (100% de concordância). Os dados mostram que CNCA são responsáveis por 75% das infecções de corrente sanguínea (Tabela 2). *C. albicans* foi a terceira mais frequente (25%). *C. parapsilosis* assume este papel de destaque (35%), seguida da *C. tropicalis* (30%). Não foram relatados surtos durante o período analisado.

Tabela 1 – Frequência absoluta e relativa de leveduras, isoladas de corrente sanguínea de pacientes atendidos na rede pública no município de Salvador-BA no período de 2009 a 2012.

	2009		2010		2011		2012		**Total**	
Espécie	**n**	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**
C. albicans	23	32%	23	21%	9	20%	8	30%	***63***	***25%***
C. parapsilosis	24	33%	45	42%	12	27%	6	22%	***87***	***35%***
C. tropicalis	23	32%	29	27%	17	39%	5	19%	***74***	***30%***
C. guilliermondii	0	0%	2	2%	1	2%	0	0%	***3***	***1%***
C. krusei	0	0%	2	2%	4	9%	0	0%	***6***	***2%***
C. glabrata	2	3%	3	3%	1	2%	7	26%	***13***	***5%***
Candida spp	0	0%	3	3%	0	0%	1	4%	***4***	***2%***
Total	72	100%	107	100%	44	100%	27	100%	***250***	***100%***

***Candida* spp**; - *C. haemulonnii* (1), *C. lusitaniae*. (1); *Pichia angusta* (1), não identificada (1)

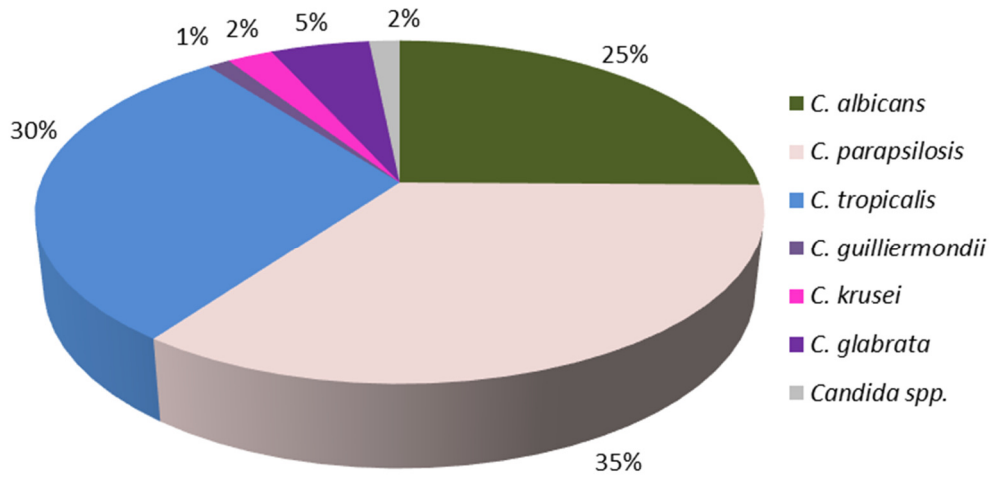


Figura 12.– Frequência relativa de leveduras, isoladas de corrente sanguínea de pacientes atendidos na rede pública no município de Salvador-BA no período de 2009 a 2012.

Tabela 2 – Frequência anual do isolamento de *C. albicans* e CNCA durante o período do estudo de 2009 a 2012.

	Geral		2009		2010		2011		2012	
Espécie	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
C. albicans	63	25%	23	32%	23	21%	9	20%	8	30%
Não *C. albicans*	187	75%	49	68%	84	79%	35	80%	19	70%
Total	250	100%	72	100%	107	100%	44	100%	27	100%

A Figura 13 mostra a distribuição de *C. albicans* e CNCA ao longo dos anos compreendidos no estudo.

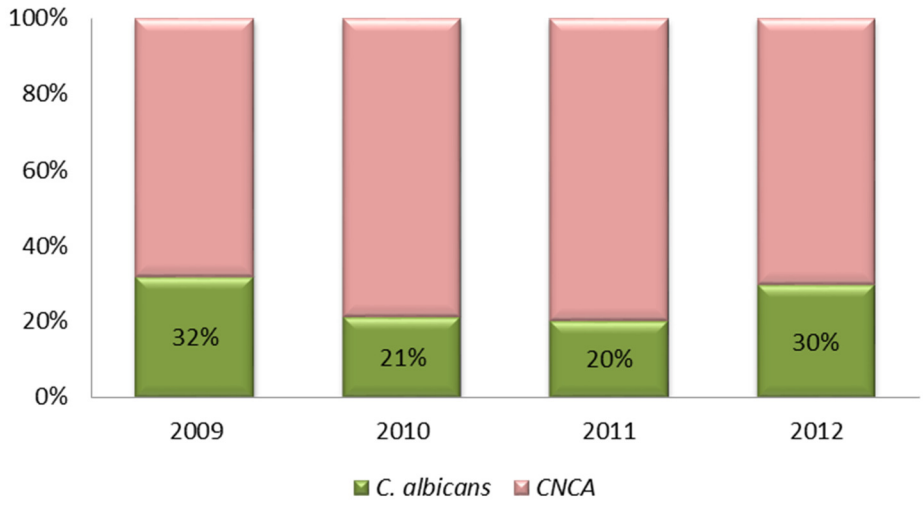


Figura 13- Percentual de *Candida albicans* e CNCA isoladas da corrente sanguínea de pacientes atendidos na rede pública no município de Salvador-BA e que foram analisadas no LACEN-BA de 2009 a 2012.

Dentre as espécies de *CNCA*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* foram as mais frequentes no período, como pode ser visto na Figura 14, que mostra a distribuição anual das leveduras isoladas de corrente sanguínea.

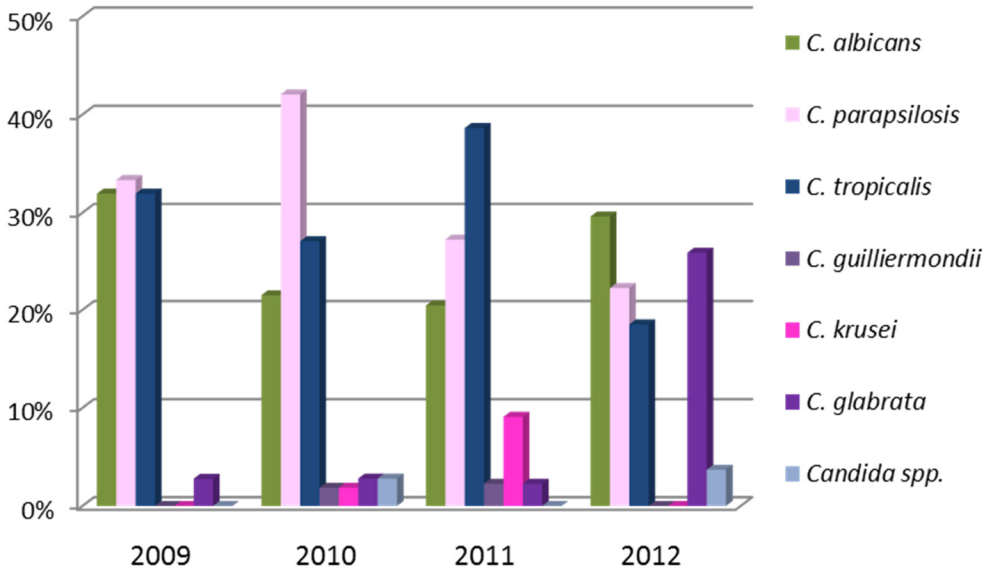


Figura 14.- Perfil de leveduras isoladas de corrente sanguínea de pacientes atendidos na rede pública no município de Salvador-BA no período de 2009 a 2012.

Em relação à sensibilidade aos antifúngicos, um total de 249 leveduras do gênero *Candida* foram avaliadas, em relação ao fluconazol, pelo método de disco difusão. O isolado nº 15 não foi recuperado, ficando apenas o registro de sua identificação. A Tabela 3 mostra a variação de halo de inibição (em milímetros, mm) referente à sensibilidade das cinco principais espécies e a Figura 15 mostra os resultados para isolados.

Tabela 3 – Variação dos halos de inibição em milímetros (mm) e a classificação proposta pelo documento M44-A2 de 242 isolados de candidemia de pacientes atendidos na rede pública no município de Salvador-BA no período de 2009 a 2012.

	Variação de halos na DD			Intervalo (mm)		Mediana	Moda
Espécies	≤14	15-18	≥19	Max	Min		
C. albicans (63)	0	0	63	45	25	38	40
C. tropicalis (73)	0	1	72	40	18	30	30
C. glabrata (13)	0	0	13	32	20	22	20
C. krusei (6)	6	0	0	12	10	12	12
C. parapsilosis (87)	1	3	83	55	14	32	35

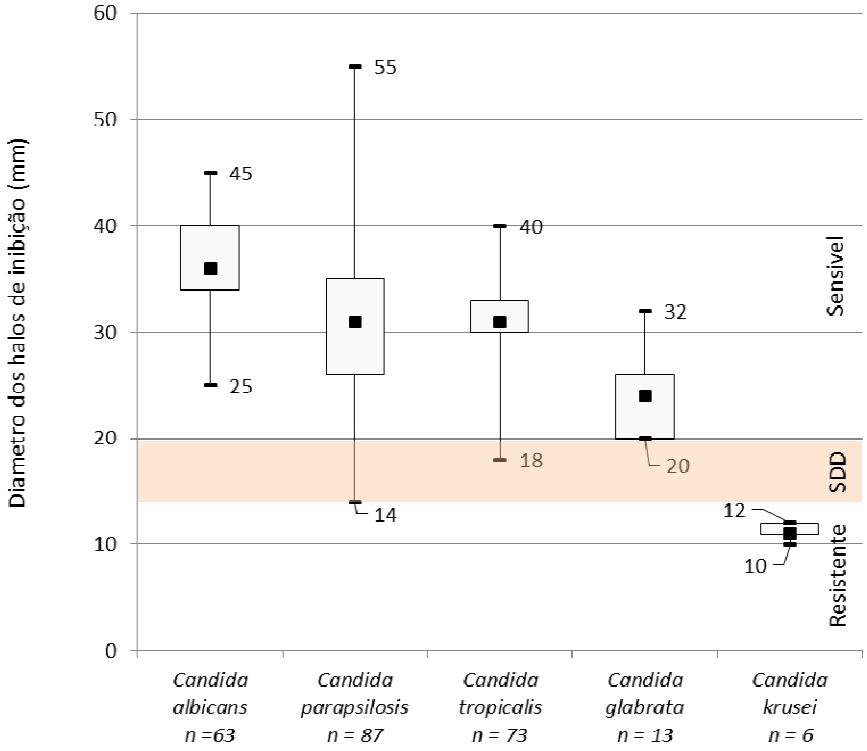


Figura 15 – Distribuição dos halos de inibição referentes ao fluconazol frente a isolados das cinco principais espécies de *Candida*. A faixa em destaque representa a zona considerada como Sensibilidade Dose Dependente (SDD).

Dentre as cinco principais espécies, em quatro é possível observar uma grande variabilidade intra-espécies no que diz respeito a sensibilidade ao fluconazol quando realizado o teste de disco difusão. Isto não é observado apenas para a *C. krusei* pelo fato da mesma possuir resistência intrínseca a este fármaco.

Para a determinação da CIM dos isolados de levedura, dos 250 espécimes, apenas 233 foram realizados. Os isolados de *C. tropicalis* (nº 3, 15, 28, 32, 41, 49, 75, 80, 105, 110, 123, 180 e 184); de *C. albicans* (n° 115); e *C. parapsilosis* (nº 61) não foram recuperados durante o descongelamento. A determinação da CIM do isolado de nº 232, *Pichia angusta*, não foi realizada por não haver *breakpoints* para a espécie nos documentos utilizados neste estudo.

Com relação aos resultados da determinação da CIM pelo método automatizado VITEK2, os mesmos estão dispostos nas Tabelas 4,5,6,7e 8. Para fluconazol, os dados de inibição (disco-difusão e CIM) são apresentados na Tabela 4, para efeito de comparação.

Os resultados das CIM aferidos pelo sistema automatizado para voriconazol (Tabela 5) e anfotericina B (Tabela 6) foram interpretados segundo os dois principais documentos de referência que são os CLSI M27-S4 (CLSI, 2012) e o E.DEF 7.2 (Arendrup et al. 2012) e suas notas técnicas (Rodriguez-Tudela 2008; Lass-Flörl et al. 2011). Para a 5-fluorcitosina apenas foi comparado o documento CLSI M27-S3 (CLSI, 2008b). Os dados de anfotericina B e 5-fluorcitosina constam das Tabela 6 e 7, respectivamente.

Tabela 4 – Sensibilidade ao fluconazol de 228 isolados de *Candida* spp. por método de disco difusão e microdiluição em caldo por método automatizado VITEK2, interpretada segundo CLSI e EUCAST.

Espécies	n	FLUCONAZOL									CIM 50 µg/mL	CIM 90 µg/mL	Intervalo µg/mL
		M44-a2 (S4)			**VITEK2 (M27-s4)**			**VITEK2 (E.DEF 7.2)**					
		S	SDD	R	S	SDD	R/NS	S	SDD	R/NS			
C. albicans	62	62	0	0	62	0	0	62	0	0	≤1	≤1	≤1 – 2
C. parapsilosis	86	82	3	1	79	5	2	79	5	2	≤1	≤1	≤1 – 8
C. tropicalis	61	60	1	0	60	1	0	60	1	0	≤1	≤1	≤1 – 4
C. krusei	6	0	0	6	0	0	6	0	0	6	8	16	8 – 16
C. glabrata	13	13	0	0	0	13	0	0	13	0	2	8	2 – 16

S – Sensível; **SDD** – Sensível dose dependente; **R** – Resistente; **NS** – Não sensível; **CIM** – Concentração inibitória mínima; **CIM 50 –** Concentração inibitória mínima para 50% das amostras**; CIM 90-** Concentração inibitória mínima para 90% das amostras**;**

Tabela 5.– Sensibilidade ao voriconazol de 228 isolados de *Candida* spp. microdiluição em caldo por método automatizado VITEK2, interpretada segundo CLSI e EUCAST.

Espécies	N	VORICONAZOL						CIM 50 µg/mL	CIM 90 µg/mL	Intervalo µg/mL
		VITEK2 (M27-s4)			**VITEK2 (E.DEF 7.2)**					
		S	SDD	R/NS	S	SDD	R/NS			
C. albicans	62	62	0	0	62	0	0	≤0,12	≤0,12	≤0,12
C. parapsilosis	86	86	0	0	86	0	0	≤0,12	≤0,12	≤0,12
C. tropicalis	61	61	0	0	61	0	0	≤0,12	≤0,12	≤0,12
C. krusei	6	6	0	0	-	-	-	≤0,12	≤0,12	≤0,12 – 0,25
C. glabrata	13	-	-	-	-	-	-	≤0,12	≤0,12	≤0,12 – 0,5

S – Sensível; **SDD** – Sensível dose dependente; **R** – Resistente; **NS** – Não sensível; **CIM** – Concentração inibitória mínima; **CIM 50 –** Concentração inibitória mínima para 50% das amostras**; CIM 90-** Concentração inibitória mínima para 90% das amostras**; "-"** – Não há dados para a interpretação

Tabela 6 – Sensibilidade a anfotericina B de 228 isolados de *Candida* spp. microdiluição em caldo por método automatizado VITEK2, interpretada segundo CLSI e EUCAST.

Espécies	N	ANFOTERICINA B						CIM 50 µg/mL	CIM 90 µg/mL	Intervalo µg/mL
		VITEK2 (M27-s4)			**VITEK2 (E.DEF 7.2)**					
		S	SDD	R/NS	S	SDD	R/NS			
C. albicans	62	62	0	0	64	0	0	1	1	0,5 – 1
C. parapsilosis	86	86	0	0	86	0	0	0,5	1	≤0,25 – 1
C. tropicalis	61	61	0	0	61	0	0	0,5	0,5	≤0,25 – 1
C. krusei	6	6	0	0	6	0	0	1	1	≤0,25 – 1
C. glabrata	13	13	0	0	13	0	0	1	1	0,5 – 1

S – Sensível; **SDD** – Sensível dose dependente; **R** – Resistente; **NS** – Não sensível; **CIM** – Concentração inibitória mínima; **CIM 50 –** Concentração inibitória mínima para 50% das amostras**; CIM 90-** Concentração inibitória mínima para 90% das amostras**;**

.

Tabela 7 – Sensibilidade a 5-fluorcitosina de 228 isolados de *Candida* spp. microdiluição em caldo por método automatizado VITEK2, interpretada segundo CLSI.

Espécies	n	5F			CIM 50 µg/mL	CIM 90 µg/mL	Intervalo µg/mL
		VITEK2 (M27-s3)					
		S	SDD	R			
C. albicans	62	62	0	0	≤1	≤1	≤1 – 2
C. parapsilosis	86	86	0	0	≤1	≤1	≤1 – 4
C. tropicalis	61	61	0	0	≤1	≤1	≤1 - ≤1
C. krusei	6	2	4	0	8	16	4 – 16
C. glabrata	13	13	0	0	≤1	≤1	≤1 - ≤1

S – Sensível; **SDD** – Sensível dose dependente; **R** – Resistente; **NS** – Não sensível; **CIM** – Concentração inibitória mínima**; CIM 50 – Concentração inibitória mínima para 50% das amostras; CIM 90-** Concentração inibitória mínima para 90% das amostras**;**

As tabelas 8 e 9 sumarizam, respectivamente, os resultados da distribuição dos isolados e suas respectivas CIM referente a cada fármaco testado com o cartão AST-YS01 e a resistência global do estudo.

Tabela 8 – Distribuição do total dos isolados de acordo ao resultado de CIM emitido pelo VITEK 2 para os quatro fármacos testados no AST-YS01.

Antifúngico	**Espécie**	**n**	**CIM_{90}**	**CIM (µg/mL)**									
				(≤)0,12	0,25	0,5	(≤)1	2	4	8	16	32	64
Fluconazol	*C. albicans*	62	≤1				61	1	0	0	0	0	0
	C. parapsilosis	86	≤1				69	10	5	2	0	0	0
	C. tropicalis	61	≤1				60	0	1	0	0	0	0
	C. glabrata	13	8				0	7	2	3	1	0	0
	C. krusei	6	16				0	0	0	3	3	0	0
Voriconazol	*C. albicans*	62	≤0,12	62	0	0	0	0	0	0			
	C. parapsilosis	86	≤0,12	85	1	0	0	0	0	0			
	C. tropicalis	61	≤0,12	61	0	0	0	0	0	0			
	C. glabrata	13	≤0,12	12	0	1	0	0	0	0			
	C. krusei	6	≤0,12	5	1	0	0	0	0	0			
Anfotericina B	*C. albicans*	62	1		0	19	43	0	0	0	0		
	C. parapsilosis	86	1		5	70	11	0	0	0	0		
	C. tropicalis	61	0,5		24	35	2	0	0	0	0		
	C. glabrata	13	1		1	4	8	0	0	0	0		
	C. krusei	6	1		0	2	4	0	0	0	0		
5-fluorcitosina	*C. albicans*	62	≤1				61	1	0	0	0	0	0
	C. parapsilosis	86	≤1				85	1	0	0	0	0	0
	C. tropicalis	61	≤1				61	0	0	0	0	0	0
	C. glabrata	13	≤1				13	0	0	0	0	0	0
	C. krusei	6	16				0	0	2	1	3	0	0

CIM_{90}, concentração (µg/mL) necessária de fármaco para inibir 90% do conjunto de isolados.

Tabela 9 – Resistência global a 4 fármacos antifúngicos avaliada por sistema VITEK2 segundo critérios disponíveis em métodos de referência CLSI e EUCAST

Antifúngico	Critério	N	S		SDD		R	
			n	%	n	%	n	%
Fluconazol	CLSI / EUCAST	233	204	88	19	8	10	4
Voriconazol	CLSI	220	220	100	0	0	0	0
Anfotericina B	CLSI / EUCAST	233	231	99	N/A	N/A	2	1
5-fluorcitosina	CLSI	233	229	98	4	2	0	0

.N/A – Não se aplica; CLSI – M27-S4 (CLSI 2012); Eucast – E.DEF 7.2 (Arendrup et al.)

5 DISCUSSÃO

O gênero *Candida*, de maneira geral, é responsável por grande parcela das ICS por fungos. As taxas de candidemia encontradas em estudos brasileiros, variam, mas podem chegar a 2,4 por 1000 admissões hospitalares (Colombo et al. 2006; Pereira et al. 2010).

A distribuição de espécies de *Candida* varia, sendo que na América Latina, estudos mostraram *C. albicans* com a maior frequência, cerca de 50% (Godoy et al. 2003; Goldani e Mário 2003; Silva et al. 2004; Ruiz et al. 2005; Medrano et al. 2006) corroborando com dados de literatura internacional, nos quais mais da metade dos casos de candidemia tem essa espécie como agente prevalente (Donelli 2006; Sandven 2006; Córdoba et al. 2011).

No estudo multicêntrico mais recente publicado sobre candidemia na América Latina, algumas características sobre a epidemiologia da candidemia no Brasil foram reafirmadas. *C. albicans* ainda representa o principal patógeno envolvido nos casos de candidemia, entretanto as leveduras CNCA juntas já ultrapassam o número de casos de candidemia provocados pela *C. albicans* (Nucci et al. 2013). No Brasil Colombo e colaboradores já descreviam altas taxas de candidemia por CNCA (Colombo et al. 1999) e este perfil vem se afirmando ao longo dos anos. A obtenção de dados com representatividade nacional é fundamental para que se tenha uma visão geral da situação epidemiológica do pais. Neste sentido o estudo intitulado *Brazilian Surveillance and Control of Pathogens of Epidemiologic Importance (BrSCOPE*) (Doi et al. 2016) com participação das cinco regiões do pais, afirma que *C. albicans* (34,3%), *C. parapsilosis* (24,1%), *C. tropicalis* (15,3%) e *C. glabrata* (10,2%) foram os principais agentes de ICS por fungos, representando 84% de todos os casos. A teoria de que a distribuição das espécies de *Candida* é regionalizada torna-se mais forte quando observamos que, para dados gerados pelo estudo multicêntrico referido, as unidades colaboradoras estão localizadas nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná, não havendo representatividade de outras regiões do país.

O estudo com maior número de isolados de candidemia, também representa mais as regiões sul e sudeste do Brasil, conduzido por Da Matta et al. (2007), indicou que em 1000 cepas, provenientes de hemoculturas de quatro hospitais terciários no Estado de São Paulo (1995- 2003), *C. albicans* foi responsável por 40 % das infecções, seguida de *C. tropicalis* (24,3%), *C. parapsilosis* (23,8%), *C. glabrata* (4,4%) e *C. guilliermondii* (3%).

RUIZ et al.(2005) mostraram com base em 75 amostras de leveduras agentes de infecção da corrente sanguínea em pacientes internados em hospital público de Botucatu, estado de São Paulo, *C. albicans* como prevalente (38,7%) seguida por *C. parapsilosis* (30,7%).

Neste estudo com dados de Salvador-Bahia, em 75% dos casos foram isoladas CNCA acompanhando o perfil da América Latina, antes apontado por Godoy e colaboradores (Godoy et al. 2003), que obtiveram esse dado em quase 60% dos casos, fato ratificado por Nucci et al. (2013) que encontraram 62,4%. Em relação aos trabalhos do nordeste brasileiro (Medrano et al. 2006; Hinrichsen et al. 2009) os dados deste estudo se aproximam ainda mais, pois os do Ceará relatam 72% e os de Recife 81% de CNCA como causa de candidemia. Comparando este dado em relação aos apresentados para a região sul, sudeste e centro oeste, suscita que nestas regiões do pais haja prevalência maior de ICS por *C. albicans* (Nucci e Colombo 2007), apesar de se constatar perfis destoantes na região (Furlaneto et al. 2011).

Segundo os dados encontrados neste estudo, as prevalências das leveduras mostram-se diferentes e não acompanha o panorama brasileiro descrito nos estudos multicêntricos, pois *C. parapsilosis* foi a espécie que causou maior número de casos (35%), seguida de *C. tropicalis* (30%). Os percentuais deste estudo encontrados para *C. parapsilosis* corroboram mais com os dos trabalhos realizados na região nordeste, como pôde ser visto no realizado no Ceará (36%) (Medrano et al. 2006) e com 44% no realizado em Recife (Hinrichsen et al. 2009), além do fato de, em ambas publicações, *C. parapsilosis* ter sido responsável pelo maior número dos casos de candidemia.

A frequência global de *C. albicans* está diminuindo, enquanto as de *C. glabrata* e *C. krusei* estão estáveis e a de *C. parapsilosis,* bem como, *C. tropicalis* estão aumentando (Guinea 2014). Dados do norte europeu e Estados Unidos (Pfaller et al. 2005, 2010, 2011ª; Asmundsdottir et al. 2013) contrapõem-se a de estudos espanhóis e brasileiros que mostram maior incidência de *C. parapsilosis* em candidemia (Almirante et al. 2005; Nucci et al. 2013). As causas para este "*switch*" não estão bem esclarecidas, mas a introdução de novos materiais médico-hospitalares, novas metodologias no cuidado ao paciente, exposição prolongada a antibióticos, doenças de base e o compromisso com a biossegurança podem ter contribuído para tal fato (Guinea 2014).

Além disso, a alta capacidade de produzir biofilmes faz de *C. parapsilosis* um agente perene ligado a dispositivos intravasculares e outros biomateriais (Ramage et al. 2006). *C. parapsilosis* é um patógeno de via exógena, encontrado em pele, superfícies mucosas, sendo isolado, frequentemente, de população infantil de Unidade de Terapia Intensiva (UTI) neonatal (UTI-neo) e berçários (Pfaller et al. 2008). A relação deste microrganismo com cateteres venosos centrais, muito utilizados nessas unidades de tratamento está bem estabelecida (Levin et al. 1998; Levy et al. 1998).

Alguns estudos brasileiros mostram *C. parapsilosis* sendo segundo, ou terceiro, agente mais comum em candidemias, como o de Da Matta et al., (2007) com taxa de 23,8% e o estudo de Colombo et al., (2006) em que 20,5% dos isolados foram dessa espécie. A taxa verificada neste estudo é um pouco superior as relatadas por esses outros autores. Talvez a maior frequência de população pediátrica na amostragem tenha relação com o incremento dos casos de *C. parapsilosis*; a espécie está associada à contaminação exógena relacionada ao uso de cateter e ao contato intenso pelos profissionais de saúde aos pacientes neonatos e infantis (Lupetti et al. 2002; Ruiz et al. 2005; Medrano et al. 2006; Matsumoto et al. 2007). De modo interessante, Pereira et al., (2010) estudaram 52 casos de candidemia, com

maioria dos casos (26%) apresentando *C. parapsilosis* como agente infectante, mas sem relação com faixa etária da população.

Os resultados deste estudo enfatizam a importância de *C. tropicalis* como agente de candidemia no Brasil, assim como já descrito por diversos estudos, como em Pereira et al., (2010) (26%), Da Matta et al., (2007) (24,3%) e Colombo et al., (2006) (20,9%). *C. tropicalis* situou-se em segundo lugar como agente de candidemia no estudo. De fato, *C. tropicalis* é descrita como o segundo, após *C. albicans,* ou terceiro patógeno, depois de *C. albicans* e *C. parapsilosis* (Cantón et al. 2001). Seu comportamento de virulência e invasão de tecidos é comprovado em casos de candidemia, previamente, colonizados por esta espécie; cerca de 50% a 60% estavam colonizados antes do quadro infeccioso. A sua associação com pacientes cirúrgicos e hematológicos levou ao interesse grande na determinação de sua presença como agente de candidemia (Wingard 1995; Godoy et al. 2003; Goldani e Mário 2003). *P*acientes com neoplasias, principalmente, leucemia apresentam infecção por esta espécie e, portanto, recomenda-se profilaxia antifúngica nos primeiros dias de internação, para diminuir o risco de infecção (Diekema et al. 2002; Horn et al. 2009).

C. krusei ficou em quinta posição, em percentagem semelhante à descrita, mundialmente. É descrita a associação desta espécie com pacientes neoplasias hematológicas e receptores de transplantes (Horn et al. 2009; McCarty e Pappas 2016). Alguns autores relatam aumento na ocorrência de fungemias causadas por *C. krusei* em pacientes neutropênicos, expostos ao fluconazol (Colombo e Guimarães 2003). Horn et al. (2009) observaram maior mortalidade entre os casos de infecção por *C. krusei* (52,9%) e menor naqueles com *C. parapsilosis* (23,7%). A relevância da identificação correta desta espécie e monitoramento de sua frequência relativa é pelo seu caráter de resistência intrínseca ao fluconazol, que levou à introdução das equinocandinas, como fármacos de escolha nestas infecções (Pappas et al. 2016).

Pfaller et al. (2011) com base no programa internacional de monitoramento de agentes ICS (SENTRY), especificamente, candidemia do

biênio 2008-2009, mostraram prevalência global de 18,2% para *C. grabrata.* Em estudo de 12 meses sobre candidemia realizado na Escócia, Reino Unido, Odds et al. (2007) identificaram 21% de *C. glabrata,* ocupando o segundo lugar como agente causador de candidemia. Leroy et al. (2009) descreveram em seu estudo prevalência de 16,7% para esta espécie de *Candida*. *C. glabrata* está associada a candidemia em pacientes idosos (acima de 65 anos); a maior sobrevida de pacientes e os frequentes cuidados intensivos em população idosa tem sido fatores relacionados ao acréscimo de casos em algumas partes do mundo.

Publicações do norte da Europa (Arendrup et al. 2011; Asmundsdottir et al. 2013) e dos EUA (Pfaller et al. 2005, 2010) reportam elevado número de casos de candidemia provocados por *C. glabrata*, enquanto que estudos de Espanha e Brasil demonstraram menor número de casos (Almirante et al. 2005; Nucci et al. 2013). No Brasil, diferente do continente norte-americano e europeu, *C. glabrata* apresenta-se em taxas menores (1,3% e 4%) (Ruiz et al. 2005; Pereira et al. 2010). Apenas em um estudo brasileiro aponta-se para incremento de *C. glabrata* em hospital universitário do estado de São Paulo, durante período de 2006 a 2010. (Moretti et al. 2013). Estes dados corroboram com os dados encontrados neste estudo em relação a *C. glabrata,* ainda que tenha havido um aumento de casos por essa espécie em um ano do período, por causas não determinadas. A frequência média desta espécie, neste estudo, foi baixa (1%) mas, esta espécie, cada vez mais, toma lugar de destaque na epidemiologia mundial da candidemia, não pela forte presença mas pelo característica de resistência a antifúngicos que pode implicar na clínica em falha terapêutica (Glockner e Cornely 2015).

*C. glabrata, a*inda que classificada como pouco virulenta, é a espécie que está associada com a segunda maior taxa de mortalidade em pacientes com candidemia, devido à forte resistência adquirida ao fluconazol (Cantón et al. 2001; Rodrigues et al. 2014) e redução da sensibilidade as equinocandinas (Vallabhaneni et al. 2015). *C. glabrata,* assim como *C. krusei* é agente de infecção em pacientes com antecedentes de profilaxia antifúngica com fluconazol.

Sabe-se que apenas estas 5 espécies (*C. albicans, C. glabrata, C. tropicalis, C. parapsilosis* e *C. krusei*) respondem pela grande maioria (> 92%) dos casos de candidemia no mundo todo; no entanto, a sua distribuição varia em estudos de base populacional realizados em diferentes áreas geográficas (Guinea 2014). Nos casos atendidos nos hospitais da região de Salvador, Bahia, esse grupo de espécies estava envolvido em 97% dos episódios de candidemia.

Uma espécie não incluída nesse conjunto de agentes é *C. guilliermondii*. *C. guilliermondii* no maior estudo brasileiro (Da Matta et al., 2007) também teve frequência insignificante (3%). *C. guilliermondii* teve a mesma 49requência (3%) em pacientes com candidemias na América Latina (Pfaller e Diekema 2007). O maior aglomerado de casos acometidos por *C. Guilliermondii* (n=1029) relatado por Pfaller et al. (2006), ressaltando a variação de frequencia segundo a região geográfica estudada. Poucos isolados (0,6%) foram procedentes da América do Norte, 1,1% da Ásia, 1% da Europa e 3,7% da América Latina. Segundo Pfaller et al. (2006) é uma espécie mais frequentemente associada com onicomicose sendo, raramente, encontrada como causa de infecção fúngica invasiva. Savini et al. (2011) enfatizam que a literatura já descreve esta espécie como agente de fungemia em pacientes com câncer. Girmenia et al. (2006), em estudo italiano retrospectivo longo (22 anos) descreveram aumento da frequência de candidemia devido à *C. guilliermondii,* com 11,7% de 230 pacientes com neoplasias hematológicas.

Além da C. *guilliermondii,* outra espécie não frequentemente encontrada em casos de ICS é *C. haemulonii*. Trata-se de uma levedura multidroga resistente e que teve sua primeira identificação no Brasil em 2010 em um hospital de São Paulo (Almeida-Jr et al. 2012). Trata-se, atualmente, de um complexo de cinco espécies: *C. haemulonii*, *C. haemulonii var vulnera*, *C. duobushaemulonii*, *C. auris* e *C. pseudohaemulonii* (Cendejas-Bueno et al. 2012). Apesar do número de casos envolvendo essa levedura ser pequeno em todo o mundo (Pfaller et al. 2010), suas características de multidroga resistência chamam a atenção. São leveduras que apresentam CIM elevadas,

principalmente, para fluconazol e anfotericina B levando a falhas terapêuticas (Kim et al. 2011; Almeida-Jr et al. 2012). Neste estudo também foi encontrada um exemplar da levedura que apresentou CIM para o fluconazol de 32µg/mL, de 8µg/mL para a anfotericina B e para o voriconazol obteve-se uma concentração inibitória mínima de ≤0,12µg/mL. No trabalho publicado por (Ramos et al. 2015) com isolados de diversos sítios anatômicos, foi possível perceber que a característica de multidroga resistência tem um padrão. Todos os isolados são resistentes a anfotericina e fluconazol. Em parte, isto pode ser observado com o isolado de nº 83 deste estudo (apêndice 1). A característica de susceptibilidade a classe das equinocandinas parece variável quando se observa os diferentes valores de CIM dentro da classe do fármaco, o que permite inferir que a resistência a essa classe de fármaco é um fator individualizado (Cendejas-Bueno et al. 2012).

Além da necessidade de se compreender a distribuição das espécies de *Candida* de modo regionalizado, é preciso obter mais informações a respeito da sensibilidade aos antifúngicos também de modo regional. A sensibilidade das leveduras do gênero *Candida* aos antifúngicos disponíveis depende, dentre outros fatores, da espécie do isolado, sendo previsível na maioria delas; porém, nem sempre um determinado isolado segue o padrão geral dos membros de sua espécie. Esta identificação do agente patológico é, muitas vezes, necessária para o sucesso da terapia empregada. Surge, então, a necessidade de testes confiáveis e de fácil execução que permitam uma maior realização de número de exames e, consequentemente, maiores informações locais.

O teste de disco difusão baseado no documento CLSI M44-A2 (CLSI, 2009) é uma alternativa para resposta rápida do laboratório à demanda clínica para orientação da terapia antifúngica em casos de candidemia. Entretanto esbarra em algumas questões como a produção e controle de qualidade do meio AMHmG, que não é comercializado pronto para uso. Soma-se a isso, os poucos fornecedores de discos de antifúngicos, o que dificulta a aquisição do produto no mercado nacional.

Os métodos visam detectar cepas resistentes *in vitro* que poderiam antever falência terapêutica *in vivo*. Um dos problemas técnicos, ainda vigente em todos os métodos para determinação da sensibilidade a antifúngicos é o fenômeno denominado *trailling* ou arraste. Ocorre em muitos testes com fármacos fungistáticos, como azóis e 5-FC e resulta em falsos resultados de resistência em laboratórios com pessoal pouco treinado. O efeito do fármaco não é proporcional ao aumento da sua concentração e observa-se crescimento residual da levedura, mesmo em concentrações acima do CIM. Este fato ocorre, com alta frequência em cepas de *C. tropicalis.* Para contornar o problema a leitura dos fungistáticos dá-se em 50% de inibição ou mais, em relação ao crescimento no tubo controle sem antifúngico (VITEK e microdiluição). No caso do método de disco-difusão, a leitura do halo de inibição e realizada no limite de crescimento de colônias grandes e coalescentes, tão logo se dê a inibição. A leitura tardia do teste implica em influência maléfica do *trailling* para determinação do CIM (Marr et al. 1999).

Realizada a leitura do valor do CIM, há que se classificar o isolado em sensível, intermediário ou S-DD e resistente. Para o disco existe orientação do fabricante e a interpretação é mais fácil. Para o caso de microdiluição e automação, os pontos de corte (*breakpoints*), também, são instruídos pelos fabricantes, no entanto, a definição de pontos de corte (*breakpoints)* está em constante atualização e, nos dias de hoje, ainda não é aplicada para todos os antifúngicos e todas as espécies de leveduras, sendo esta uma limitação para sua aplicação clínica. O conceito de *breakpoint* leva em conta diversos parâmetros, incluindo resposta clínica ao tratamento, farmacocinética e farmacodinâmica do medicamento, sítio da infecção entre outros, além do CIM. A resistência clínica é definida, como persistência, ou progressão, de uma infecção, mesmo com a administração do tratamento antifúngico adequado, relaciona-se com distintos fatores, tanto do fármaco, quanto do paciente. Resistência microbiológica é apenas um fenômeno verificado *in vitro,* no qual o agente etiológico consegue se desenvolver na presença de concentrações terapêuticas do fármaco, antifúngico (Perea e Patterson 2002). A intrínseca em fungos, é dita quando nenhum membro de uma espécie é

sensível ao antifúngico, como por exemplo, *C. krusei* frente ao fluconazol. Resistência primária é quando dentro de uma espécie, em regra, sensível a determinado antifúngico, encontra-se uma cepa com resistência natural contra o mesmo, sem necessidade de haver estado em contato com o fármaco. A resistência secundária, ou adquirida, ocorre quando uma cepa, previamente, sensível desenvolve resistência ao antifúngico após a exposição a ele, por meio de alterações genotípicas, que se manifestam de forma estável, ou transitória, como por exemplo, *C. glabrata* frente ao fluconazol (Mellado et al. 2002).

Os valores de CIM obtidos pelo VITEK 2, ainda que, segundo o fabricante o critério do CLSI seja adotado pela empresa, foram para efeito deste estudo interpretados pelos *breakpoints,* quando existentes, pelo AFST-EUCAST também. Os resultados em relação a *C. albicans* indicaram que no intervalo de CIM de fluconazol (≤2µg/mL) não há valores que significam resistência a esse fármaco, seja por CLSI ou AFST-EUCAST. Os valores encontrados concordam com a afirmação de Pfaller e Diekema (2004) sobre a manutenção, durante vinte anos, do perfil de sensibilidade de *C. albicans* em várias regiões do globo, frente ao fluconazol, mesmo com o amplo uso profilático e terapêutico desse fármaco. A faixa de valores baixos de CIM é, frequentemente, citada em estudos internacionais como o de Rodriguez-Tudela et al. (2007) e publicações nacionais (da Matta et al. 2007; Franca et al. 2008). O método do disco-difusão foi, plenamente satisfatório para esta espécie e foi confirmado seu uso na rotina clínica, como alternativa ao método de microdiluição.

C. albicans testadas neste estudo mostraram-se bastante sensíveis ao fármaco. A CIM_{90} de ≤0,12µg/mL frente ao voriconazol é compatível aos valores publicados em diversas partes do mundo (Colombo et al. 2006; Pfaller et al. 2010; Zuluaga Rodríguez et al. 2010; Cuenca-Estrella et al. 2011; Jung et al. 2012; Nucci et al. 2013). Relatos de sensibilidade reduzida ao fármaco são observadas na literatura e podem estar atribuídas a sensibilidade cruzada a outros azólicos (Colombo et al. 2006).

Com relação à anfotericina B, a CIM90 de 1μg/mL acompanha os dados da literatura nacional (Colombo et al. 2006; da Matta et al. 2007; Doi et al. 2016), o que dá, de certa forma, uma maior segurança ao tratamento, uma vez que a possibilidade de ter um paciente infectado por um isolado resistente a anfotericina B é rara e isso dificultaria o manejo clínico, uma vez que, em Salvador-BA, a rede hospitalar pública não dispões, em sua, rotina, equinocandinas para tratamento de ICS.

C. parapsilosis frente ao fluconazol apresentou apenas 2 isolados com CIM um pouco mais elevado (8μg/mL) sendo classificados como resistente segundo o CLSI; no entanto, como o ponto de corte europeu é mais restrito, seis isolados foram resistentes por este método. O valor de CIM para fluconazol foi inferior ao encontrado por Silva et al. (2009) que descreveram CIM de 16μg/mL a 64μg/mL em 5,6% dos isolados de *C. parapsilosis*. O valor de CIM_{90} para fluconazol foi semelhante ao descrito (2 μg/mL) por Da Matta et al. (2007), sendo um pouco inferior ao descrito por Messer et al. (2009) que mostraram valor de CIM_{90} de 4μg/mL para *C. parapsilosis* frente ao fluconazol. No método de disco-difusão ocorreram 5 erros graves (*major error*), quando cinco cepas resistentes foram classificadas como S-DD tomando como base o EUCAST. O estudo ARTEMIS (Pfaller et al. 2010) em dez anos e meio de observação, mostrou que a sensibilidade ao fluconazol, para esta levedura (n=12.788), foi de 93,2%, Colombo et al. (2002) obteve 99% (n=200) enquanto que, na Colômbia (Zuluaga Rodríguez et al. 2010), de 2001 a 2007 (n = 47), também pelo método de disco-difusão, mostram uma sensibilidade ao fluconazol de apenas 59,6%. Neste trabalho, os quatro anos de observação, a sensibilidade foi de 93% (n=86).

C. tropicalis mostrou-se sensível a fluconazol, reiterando as raras e baixas taxas de resistência a fluconazol, nessa espécie. Pfaller e Diekema (2004) em seu estudo com isolados de 1992 a 2001, mostraram que os isolados de *C. tropicalis* foram sensíveis ao fluconazol, independente da área de origem. Estudos relatam *C. tropicalis* como agente de candidemia com índice de resistência variando de 3 a 7% frente a fármacos azólicos (Diekema et al. 2002; R.a. et al. 2004; da Matta et al. 2007; Pfaller et al. 2010). O método

de disco-difusão detectou um isolado SDD (nº 31 – apêndice 1) que apresentou um valor de CIM de 4μg/mL, confirmando esta classificação seja pelo CLSI ou EUCAST.

Os dados de CIM para os isolados de *C. tropicalis* deste estudo frente ao voriconazol são ratificados pela literatura, que mostra valores de CIM_{90} inferiores a 0,125μg/mL (Colombo et al. 2006; Jung et al. 2012; Asmundsdottir et al. 2013; Nucci et al. 2013; Doi et al. 2016). Registros de resistência ao fármaco por esta levedura já foram descritos (Pfaller et al. 2010; Cuenca-Estrella et al. 2011), entretanto neste estudo isso não foi encontrado.

Ao longo do tempo, *C. glabrata* mostrou-se uma das mais hábeis em se adaptar aos antifúngicos, haja visto que, constantemente, tanto o CLSI quanto o AFST-EUCAST buscam dados que suportem os valores de CIM a serem empregados na rotina laboratorial. De acordo a classificação atual seja pelo CLSI ou pelo AFST-EUCAST, não há mais *C. glabrata* sensível ao fluconazol, apenas as categorias de sensível dose dependente – SDD (CIM ≤32μg/mL) e resistente – R (≥64 μg/mL). Laboratórios que utilizam a disco difusão, segundo documento CLSI M44-A2 e seu complemento M44-S4, esbarram-se na desatualização do critério de interpretação para o fluconazol. Os 13 isolados deste estudo foram classificados como sensíveis pelos critérios de interpretação da disco difusão, mas verifica-se um erro grave *(major error)* neste método frente ao Vitek2. Diferente dos trabalhos que mostram taxas de resistência ao fluconazol variando de 11 a 18,8% (Colombo et al. 2002; Pfaller et al. 2010; Zuluaga Rodríguez et al. 2010), este trabalho não detectou *C. glabrata* resistente ao fármaco. Os valores para CIM_{90} (8μg/mL) encontrados neste estudo reforçam os achados da disco difusão. Este valor de CIM_{90} foi o mesmo encontrado por Da Matta et al. (2007) e inferior ao publicado por Jung et al. (2012) que foi de 16μg/mL.

Para o voriconazol, os 13 isolados de *C. glabrata* mostroram-se com baixos valores de CIM, sendo semelhantes aos encontrados para *C. albicans, C. tropicalis* e *C. parapsilosis*, com CIM_{90} de 0,125 μg/mL. O mesmo foi encontrado por Jung et al. (2012) utilizando sistema VITEK2 para

determinação da concentração inibitória mínima. O fato do CLSI e do EUCAST não estabelecerem breakpoints para *C. glabrata* se dá ao fato de não se ter volume de informações acerca da utilização do fármaco no tratamento de ICS para esta levedura, não sendo possível assim estabelecer os pontos de corte (Rodriguez-Tudela 2008; CLSI 2012).

Diante da capacidade de se adaptar frente aos azólicos, a alternativa terapêutica são os poliênicos e as equinocandinas. Estudos moleculares mostram que *C. glabrata* possui um grande número de genes envolvidos na resposta adaptativa aos antifúngicos (Brunke e Hube 2013). Contudo poucos trabalhos demonstram relações diretas entre os genes e a redução da sensibilidade aos poliênicos, sobretudo em de *C. glabrata* (Rodrigues et al. 2014). A mutação missence (substituição de uma cisteína por uma fenilalanina) no gene *ERG*6, envolvido na rota de síntese do ergosterol, leva a uma susceptibilidade reduzida a polienos e a subsequentes alterações do teor de esteróis da membrana plasmática (Vandeputte et al. 2007). Neste estudo não foram encontrados isolados resistentes, assim como em outros trabalhos no Brasil e América Latina (Godoy et al. 2003; Colombo et al. 2006; da Matta et al. 2007; Córdoba et al. 2011; Nucci et al. 2013; Doi et al. 2016) e o mesmo pode ser visto em outras partes do mundo (Odds et al. 2007; Lockhart et al. 2012). Entretanto Arendrup et al. (2011) de 2004 a 2009 registraram 1,6% de *C. glabrata* resistente de um total de 449 isolados.

Resistência à AmB vem com um grande custo. Mutações que conferem resistência geram, simultaneamente, diversas tensões que exigiam níveis elevados da proteína de choque térmico (Hsp90) para a sobrevivência da célula, mesmo na ausência da AmB. Este requisito é resultado de tensões internas graves causadas pelas mutações, que diminuiu drasticamente a tolerância a estresses externos a partir do hospedeiro. Isolados mutantes resistentes a anfotericina B são hipersensíveis ao stress oxidativo, as temperaturas febris, e eliminados por neutrófilos, além de apresentarem deficiência de invasão dos tecidos. Assim, os custos de evolução da resistência a AmB limita o aparecimento deste fenótipo na clínica (Vincent et al. 2013).

Os seis isolados de C. *krusei* foram resistentes ao fluconazol em todos os testes, o que já era previsto por conta de sua resistência intrínseca ao fármaco. Entretanto todas apresentaram sensibilidade ao voriconazol, segundo CLSI M44-S4. O *ARTEMIS Disk Global Antifungal Surveillance Study*, 1997 a 2007, com 5.005 isolados de *C. krusei* encontrou uma resistência de 7,6%.

Para a análise de CIM de *C. krusei* frente ao voriconazol, atualmente, o documento CLSI M27-S4 estabelece *breakpoints* mais altos para esta espécie (S ≤ 0,5μg/mL; SDD = 1 μg/mL; R≥2 μg/mL) e, neste estudo, a CIM90 encontrada foi 0,12μg/mL. Apesar de pouco inferior, corroboram com os dados de Nucci et al. (2013) (n=18; CIM90 = 0,25 μg/mL) com Jung et al. (2012) (n=4; CIM90 = 0,25μg/mL) e Arendrup et al. (2011) (n=104; CIM90=0,25μg/mL). Isolados com CIM ≥2 μg/mL foram registrados no SENTRY *Antimicrobial Surveillance Program* (2008 a 2009) com apenas um único isolado de um total de 40 *C.krusei* testadas. Arendrup et al. (2011) também registrou isolados com CIM ≥2 μg/mL, entretanto o mesmo não traz a informação do quantitativo destes isolados, apenas indica que o intervalo de CIM foi de 0,06-2μg/mL.

Em relação a anfotericina, os seis isolados de *C. krusei* deste trabalho mostraram-se sensíveis. Este dado corrobora com as publicações que, ao longo dos anos, não detectam isolados resistentes a este fármaco (Almirante et al. 2005; Jung et al. 2012; Nucci et al. 2013; Xiao et al. 2015). Arendrup et al. (2011) registrou isolados com CIM superiores a 1 μg/mL, (n=5/106) com intervalo de CIM de 0,06-4μg/mL.

O conhecimento das espécies causadoras de candidemia nos hospitais públicos de Salvador, além da descrição do perfil de sensibilidade a antifúngicos desses agentes, poderá contribuir de modo significativo para a composição de um banco de dados para análise temporal e geográfica, desses microrganismos, em nosso país, além de contribuir para uma melhor gestão do recurso público destinado a utilização e compra de medicamentos antifúngicos, permitindo também novas discussões sobre o tema ainda pouco

debatido pela escassez de dados a respeito de candidemia no município assim como no estado da Bahia como um todo. Isso mostra que é preciso continuar o monitoramento da candidemia no serviço público do município de Salvador e ampliá-lo para outras regiões do estado, permitindo assim uma percepção mais acurada da realidade das diversas regiões da Bahia.

6 CONCLUSÕES

Com base na realização e observações durante todo o procedimento e execução neste trabalho, podemos relatar as seguintes conclusões:

- A distribuição geral das espécies de leveduras do gênero *Candida*, mostrou-se diferente da maioria dos estudos disponíveis na literatura nacional e internacional, na medida em que a levedura mais prevalente foi *C. parapsilosis*;
- ICS por leveduras CNCA foram, aproximadamente, três vezes mais frequentes do que as provocadas por C. albicans;
- ICS por *C. glabrata* e *C. krusei* não foram frequentes e seguiram o perfil descrito nas distintas regiões do Brasil;
- O método de disco difusão mostrou-se de fácil execução quando comparado ao método de microdiluição automatizado. Para a rotina laboratorial o método de disco difusão pode ser uma alternativa adequada para as unidades que não podem implantar a microdiluição ou, ainda, não conseguem adquirir testes automatizados;
- A referência atual para determinar a sensibilidade de *C. glabrata* ao fluconazol pelo método de disco difusão (M44-A2) é incompatível com as novas referências de CIM propostas pelo CLSI (M27-S4) e AFST-EUCAST (E.DEF 7.2), podendo levar o laboratório a emitir laudos, no mínimo, equivocados;
- A resistência global é baixa e compatível aos valores encontrados para o Brasil a América Latina;
- Os isolados de *C. albicans* mostram-se susceptíveis aos fármacos testados neste estudo e que são empregados no tratamento das ICS;
- *C. parapsilosis* necessita de uma maior atenção pelo fato de já demonstrar resistência ao fluconazol;
- *C. tropicalis* mostram-se susceptíveis aos fármacos testados neste estudo e que são empregados no tratamento das ICS;

- *C. glabrata* é uma levedura pouco frequente em casos de ICS e, ainda que classificada como SDD, os valores de CIM para o fluconazol ainda são baixos;
- A frequência de *C. krusei* é baixa e é compatível com o perfil brasileiro;
- Anfotericina B continua sendo um fármaco microbiologicamente seguro para o tratamento de ICS provocada pelas principais espécies do gênero *Candida* em pacientes da rede pública de Salvador;
- Não foi encontrado resistência para o voriconazol nos isolados de Candida da rede pública de Salvador;
- *Candida* spp mostraram-se sensíveis frente a 5-FC, *in vitro*, com exceção da *C. krusei* que foi classificada como SDD.

REFERÊNCIAS

Abi-Said D, Anaissie E, Uzun O, Raad I, Pinzcowski H, Vartivarian S. The Epidemiology of Hematogenous Candidiasis Caused by Different Candida Species. Clin Infect Dis. junho de 1997;24(6):1122–8.

Alcoba-Flórez J, Arévalo M del P, González-Paredes FJ, Cano J, Guarro J, Pérez-Roth E, et al. PCR protocol for specific identification of Candida nivariensis, a recently described pathogenic yeast. J Clin Microbiol. dezembro de 2005;43(12):6194–6.

Almeida-Jr J, Motta A, Rossi F, Abdala E, Pierrotti L, Kono A, et al. First report of a clinical isolate of Candida haemulonii in Brazil. Clinics. 2012;67(10):1229–31.

Almirante B, Rodríguez D, Park BJ, Cuenca-Estrella M, Planes AM, Almela M, et al. Epidemiology and predictors of mortality in cases of Candida bloodstream infection: results from population-based surveillance, barcelona, Spain, from 2002 to 2003. J Clin Microbiol. abril de 2005;43(4):1829–35.

Arendrup MC, Bruun B, Christensen JJ, Fuursted K, Johansen HK, Kjældgaard P, et al. National surveillance of fungemia in Denmark (2004 to 2009). J Clin Microbiol. 2011;49(1):325–34.

Arendrup MC, Cuenca-Estrella M, Lass-Flör C, Hope W. EUCAST definitive document EDef 7.2: method for the determination of broth dilution minimum Inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts. p. 1–21.

Arendrup MC, Cuenca-Estrella M, Lass-Flörl C, Hope W. EUCAST technical note on the EUCAST definitive document EDef 7.2: method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts EDef 7.2 (EUCAST-AFST). Clin Microbiol Infect. julho de 2012;18(7):E246–7.

Arendrup MC, Cuenca-Estrella M, Lass-Flörl C, Hope WW, Arikan-Akdagli S, Barchiesi F, et al. EUCAST Technical Note on Candida and micafungin, anidulafungin and fluconazole. Mycoses. 2014;57:377–9.

Asai K, Tsuchimori N, Okonogi K, Perfect JR, Gotoh O, Yoshida Y. Formation of Azole-Resistant Candida albicans by Mutation of Sterol 14-Demethylase P450. Antimicrob Agents Chemother . 1 de maio de 1999;43 (5):1163–9.

Asmundsdottir LR, Erlendsdottir H, Gottfredsson M. Nationwide study of candidemia, antifungal use, and antifungal drug resistance in Iceland, 2000 to 2011. J Clin Microbiol. março de 2013;51(3):841–8.

Barber GR, Brown AE, Kiehn TE, Edwards FF, Armstrong D. Catheter-related Malassezia furfur fungemia in immunocompromised patients. Vol. 95, The American journal of medicine. Excerpta Medica; 1993. p. 365–70.

Barberino MG, Silva N, Rebouças C, Barreiro K, Alcântara AP, Netto EM, et al. Evaluation of blood stream infections by Candida in three tertiary hospitals in Salvador, Brazil: a case-control study. Braz J Infect Dis. fevereiro de 2006;10(1):36–40.

Bergold AM., Georgiadis S. Novidades em fármacos antifúngicos: uma revisão. Visão Acadêmica. 2004;5(2).

Bishop JA, Chase N, Magill SS, Kurtzman CP, Fiandaca MJ, Merz WG. Candida bracarensis detected among isolates of Candida glabrata by peptide nucleic acid fluorescence in situ hybridization: susceptibility data and documentation of presumed infection. J Clin Microbiol. fevereiro de 2008;46(2):443–6.

Borman AM, Petch R, Linton CJ, Palmer MD, Bridge PD, Johnson EM. Candida nivariensis, an emerging pathogenic fungus with multidrug resistance to antifungal agents. J Clin Microbiol. março de 2008;46(3):933–8.

Branchini ML, Pfaller MA, Rhine-Chalberg J, Frempong T, Isenberg HD. Genotypic variation and slime production among blood and catheter isolates of Candida parapsilosis. J Clin …. 1994;32(2):452–6.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 8: Detecção e identificação de fungos de importância médica. Brasilia; 2013 p. 47.

Brunke S, Hube B. Two unlike cousins: Candida albicans and C. glabrata infection strategies. Cell Microbiol. maio de 2013;15(5):701–8.

Buchan BW, Ledeboer NA. Advances in identification of clinical yeast isolates by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. Vol. 51, Journal of Clinical Microbiology. 2013. p. 1359–66.

Cantón E, Viudes Á, Experimental UDB, Investigación C De, Candida DELG, España E, et al. Forum micológico Infección sistémica nosocomial por levaduras. Rev Iberoam. 2001;51–5.

Cendejas-Bueno E, Kolecka a., Alastruey-Izquierdo a., Theelen B, Groenewald M, Kostrzewa M, et al. Reclassification of the Candida haemulonii complex as Candida haemulonii (C. haemulonii group I), C. duobushaemulonii sp. nov. (C. haemulonii group II), and C. haemulonii var. vulnera var. nov.: Three multiresistant human pathogenic yeasts. J Clin Microbiol. 2012;50(11):3641–51.

Chaffin WL, López-Ribot JL, Casanova M, Gozalbo D, Martínez JP. Cell Wall and Secreted Proteins ofCandida albicans: Identification, Function, and Expression. Microbiol Mol Biol Rev . 1 de março de 1998;62 (1):130–80.

Chakrabarti a, Singh K, Narang a, Singhi S, Batra R, Rao KL, et al. Outbreak of Pichia anomala infection in the pediatric service of a tertiary-care center in Northern India. J Clin Microbiol. 2001;39(5):1702–6.

Chavasco JK, Paula CR, Hirata MH, Aleva NA, Melo CE de, Gambale W, et al. Molecular identification of Candida dubliniensis isolated from oral lesions of HIV-positive and HIV-negative patients in São Paulo, Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. fevereiro de 2006;48(1):21–6.

Chermont AG, Rodrigues RA-A, Praxedes FB, Monma CA, Pinheiro RET, Nascimento LCC Do. Candidemia em unidade materno infantil de referência: aspectos clínico-epidemiológicos e fatores de risco em prematuros com peso inferior a 1.500 g. Rev Pan-Amazônica Saúde. 2015;6(91):35–8.

Clark R, Powers R, White R, Bloom B, Sanchez P, Benjamin DK. Nosocomial infection in the NICU: a medical complication or unavoidable problem? J Perinatol. junho de 2004;24(6):382–8.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts: Approved Guideline, Second Edition M44-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009a.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Zone Diameter Interpretive Standards , Corresponding Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Interpretive Breakpoints, and Quality Control Limits for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts ; Third Informational Supplement Table 1 . Z. Clin Lab Stand Institute, Wayne. 2009b;(August).

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of yeasts; Fourth Informational Supplement - M27-s4. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne. 2012.

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

Colombo AL, Guimarães T, Camargo LFA, Richtmann R, de Queiroz-Telles F, Salles MJC, et al. Brazilian guidelines for the management of candidiasis - a joint meeting report of three medical societies: Sociedade Brasileira de Infectologia, Sociedade Paulista de Infectologia and Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Brazilian J Infect Dis. Elsevier Editora Ltda; 2013;17(3):283–312.

Colombo AL, Da Matta D, De Almeida LP, Rosas R. Fluconazole susceptibility of Brazilian Candida isolates assessed by a disk diffusion method. Brazilian J Infect Dis. 2002;6:118–23.

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. J Clin Microbiol. agosto de 2006;44(8):2816–23.

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. Diagn Microbiol Infect Dis. Elsevier; 13 de março de 1999;34(4):281–6.

Córdoba S, Vivot W, Bosco-Borgeat ME, Taverna C, Szusz W, Murisengo O, et al. Species distribution and susceptibility profile of yeasts isolated from blood cultures: results of a multicenter active laboratory-based surveillance study in Argentina. Rev Argent Microbiol; 2011;43:176–85.

Correia A, Sampaio P, James S, Pais C. Candida bracarensis sp. nov., a novel anamorphic yeast species phenotypically similar to Candida glabrata. Int J Syst Evol Microbiol. janeiro de 2006;56(Pt 1):313–7.

Cowen LE. The evolution of fungal drug resistance: modulating the trajectory from genotype to phenotype. NatRevMicrobiol. Nature Publishing Group; março de 2008;6(3):187–98.

Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez a., Cuesta I, Zaragoza O, Mellado E, Rodriguez-Tudela JL. Frequency of voriconazole resistance in vitro among Spanish clinical isolates of Candida spp. according to breakpoints established by the antifungal subcommittee of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55(4):1794–7.

Cuenca-Estrella M, Rodríguez-Tudela JL, Córdoba S, Melhem MC, Szeszs MW, Castañeda E, et al. Red Regional de Laboratorios para la Vigilancia de las Infecciones Fúngicas Invasoras y Susceptibilidad a los Antifúngicos. Rev Panam Salud Pública. fevereiro de 2008;23(2):129–34.

Dalazen D, Zanrosso D. Comparação do perfil de suscetibilidade entre isolados clínicos de Candida spp. orais e vulvovaginais no Sul do Brasil. J Bras Patol Med Lab. 2011;47(1):33–8.

Dankner WM, Spector SA, Fierer J, Davis CE. Malassezia Fungemia in Neonates and Adults: Complication of Hyperalimentation. Clin Infect Dis. 1 de julho de 1987;9(4):743–53.

Dias LB. Candidíase vulvovaginal em pacientes gestantes e não gestantes atendidas no Hospital Geral Universitário de Cuiabá/MT – prevalência, identificação dasleveduras e susceptibilidade aos antifúngicos através de duas metodologias distintas. Universidade Federal ed Mato Grosso; 2007.

Diekema DJ, Messer S a., Brueggemann a. B, Coffman SL, Doern G V., Herwaldt L a., et al. Epidemiology of candidemia: 3-Year results from the emerging infections and the epidemiology of Iowa organisms study. J Clin Microbiol. 2002;40(4):1298–302.

Doi AM, Pignatari ACC, Edmond MB, Marra AR, Camargo LFA, Siqueira RA, et al. Epidemiology and Microbiologic Characterization of Nosocomial Candidemia from a Brazilian National Surveillance Program. PLoS One. 2016;11:e0146909.

Donelli G. Vascular catheter-related infection and sepsis. Surg Infect (Larchmt). 2006;7 Suppl 2:S25–7.

Downey LC, Smith PB, Benjamin Jr. DK. Risk factors and prevention of late-onset sepsis in premature infants. Early Hum Dev. julho de 2010;86(1, Supplement):7–12.

El-Garhy OH. An overview of the azoles of interest. Int J Curr Pharm Res. 2015;7(JANUARY 2015):1–6.

Espinel-Ingroff A. Novel antifungal agents, targets or therapeutic strategies for the treatment of invasive fungal diseases: a review of the literature (2005-2009). Rev Iberoam Micol. 31 de março de 2009;26(1):15–22.

EUCAST EC for AST. EUCAST definitive document EDef 7.1: method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts. Clin Microbiol Infect. abril de 2008;14(4):398–405.

Falagas ME, Apostolou KE, Pappas VD. Attributable mortality of candidemia: a systematic review of matched cohort and case-control studies. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. Springer-Verlag; 2006;25(7):419–25.

Falagas ME, Roussos N, Vardakas KZ. Relative frequency of albicans and the various non-albicans Candida spp among candidemia isolates from inpatients in various parts of the world: a systematic review. Int J Infect Dis. novembro de 2010;14(11):e954–66.

Filippin FB, Souza LC. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B. Rev Bras Ciências Farm. junho de 2006;42(2):167–94.

Foye W, Lemke T, Williams D. Foye's principles of medicinal chemistry. Vol. 3, boundary 2. 2008. p. 45.

Franca JCB, Ribeiro CEL, De Queiroz-Telles F. Candidemia in a Brazilian tertiary care hospital: Incidence, frequency of different species, risk factors and antifungal susceptibility. [Portuguese]\rCandidemia em um hospital terciario brasileiro: Incidencia, frequencia das diferentes especies, fatores . Rev Soc Bras Med Trop. 2008;41(1):23–8.

Fridkin SK, Kaufman D, Edwards JR, Shetty S, Horan T. Changing incidence of Candida bloodstream infections among NICU patients in the United States: 1995-2004. Pediatrics. maio de 2006;117(5):1680–7.

Furlaneto MC, Rota JF, Quesada RM, Furlaneto-Maia L, Rodrigues R, Oda S, et al. Species distribution and in vitro fluconazole susceptibility of clinical Candida isolates in a Brazilian tertiary-care hospital over a 3-year period. Rev Soc Bras Med Trop. 2011;44(5):595–9.

Garey KW, Turpin RS, Bearden DT, Pai MP, Suda KJ. Economic analysis of inadequate fluconazole therapy in non-neutropenic patients with candidaemia: a multi-institutional study. Vol. 29, International journal of antimicrobial agents. 2007. p. 557–62.

Giolo MP, Inez T, Svidzinski E. Fisiopatogenia , epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia. J Bras Patol Med Lab. 2010;46(3):225–34.

Girmenia C, Pizzarelli G, Cristini F, Barchiesi F, Spreghini E, Scalise G, et al. Candida guilliermondii fungemia in patients with hematologic malignancies. J Clin Microbiol. 2006;44(7):2458–64.

Glockner A, Cornely OA. Candida glabrata – unique features and challenges in the clinical management of invasive infections. Mycoses. 2015;(58):445–50.

Godoy P, Tiraboschi IN, Severo LC, Bustamante B, Calvo B, Almeida LP De, et al. Species distribution and antifungal susceptibility profile of Candida spp. bloodstream isolates from Latin American hospitals. Mem Inst Oswaldo Cruz. abril de 2003;98(3):401–5.

Goldani LZ, Mário PSS. Candida tropicalis Fungemia in a Tertiary Care Hospital. J Infect. W.B. Saunders; 1 de abril de 2003;46(3):155–60.

González GM, Tijerina R, Najvar LK, Bocanegra R, Luther M, Rinaldi MG, et al. Correlation between antifungal susceptibilities of Coccidioides immitis in vitro and antifungal treatment with caspofungin in a mouse model. Antimicrob Agents Chemother. junho de 2001;45(6):1854–9.

Goodman, Gilman. As Bases Farmacológicas da Terapêutica. As Bases Farm da Ter. 11º ed Interamericana, McGraw-Hill; 2006.

Gray KC, Palacios DS, Dailey I, Endo MM, Uno BE, Wilcock BC, et al. Amphotericin primarily kills yeast by simply binding ergosterol. Proc Natl Acad Sci U S A. 14 de fevereiro de 2012;109(7):2234–9.

Graybill JR, Najvar LK ME. Treatment of histoplasmosis with MK-0991 (L-743,872). Antimicrob Agents Chemoter. 1998;42:152–3.

Gudlaugsson O, Gillespie S, Lee K, Vande Berg J, Hu J, Messer S, et al. Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited. Clin Infect Dis. 1 de novembro de 2003;37(9):1172–7.

Guinea J. Global trends in the distribution of Candida species causing candidemia. Clin Microbiol Infect. European Society of Clinical Infectious Diseases; 2014;8:5–10.

Hinrichsen SL, Falcão É, Aguiar T, Vilella S, Colombo AL, Nucci M, et al. Candidemia em hospital terciário do nordeste do Brasil Candidemia in a tertiary hospital in northeastern Brazil. Rev Soc Bras Med Trop. 2008;41(4):394–8.

Hinrichsen SL, Falcão É, Vilella TAS, Rêgo L, Lira C, Almeida L, et al. Candida isolates in tertiary hospitals in northeastern Brazil. Brazilian J Microbiol. 2009;40(September 2003):325–8.

Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ, et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry. Clin Infect Dis. 15 de junho de 2009;48(12):1695–703.

Hosokawa K, Yamazaki H, Mochizuki K, Ohata K, Ishiyama K, Hayashi T, et al. Successful treatment of Trichosporon fungemia in a patient with refractory acute myeloid leukemia using voriconazole combined with liposomal amphotericin B. Transpl Infect Dis. abril de 2012;14(2):184–7.

Institute CC and LS. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts ; Third Informational Supplement - M27-s3. 2008a.

Institute CC and LS. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved Guideline, Third Edition M27-A3. Clin Lab Stand Institute, Wayne. 2008b;.

Institute CC and LS. Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts: Approved Guideline, Second Edition M44-A2. Clin Lab Stand Institute, Wayne. 2009;

Jung S-I, Shin JH, Choi H-J, Ju M-Y, Kim S-H, Lee WG, et al. Antifungal susceptibility to amphotericin B, fluconazole, voriconazole, and flucytosine in Candida bloodstream isolates from 15 tertiary hospitals in Korea. Ann Lab Med. novembro de 2012;32(6):426–8.

Juyal D, Sharma M, Pal S, Rathaur VK, Sharma N. Emergence of non-albicans Candida species in neonatal candidemia. N Am J Med Sci. 2013;5:541–5.

Kim S, Ko KS, Moon SY, Lee MS, Lee MY, Son JS. Catheter-related candidemia caused by Candida haemulonii in a patient in long-term hospital care. J Korean Med Sci. 2011;26:297–300.

Kontoyiannis DP, Vaziri I, Hanna HA, Boktour M, Thornby J, Hachem R, et al. Risk Factors for Candida tropicalis fungemia in patients with cancer. Clin Infect Dis. 15 de novembro de 2001;33(10):1676–81.

Lass-Flörl C, Arendrup MC, Rodriguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M, Donnelly P, Hope W. EUCAST Technical note on Amphotericin B. Clin Microbiol Infect. 2011;17(July):28–30.

Lavalle-Villalobos RH-CSA-EEMC-CDM-BEÁ-VLH-DPT-NA. Outbreak of Candida parapsilosis in a neonatal intensive care unit: a health care workers source. Eur J Pediatr. 2010;169(7):783–7.

Leroy O, Gangneux J-P, Montravers P, Mira J-P, Gouin F, Sollet J-P, et al. Epidemiology, management, and risk factors for death of invasive Candida infections in critical care: a multicenter, prospective, observational study in France (2005-2006). Crit Care Med. maio de 2009;37(5):1612–8.

Levin AS, Costa SF, Mussi NS, Basso M, Sinto SI, Machado C, et al. Candida parapsilosis Fungemia Associated with Implantable and Semi-Implantable Central Venous Catheters and the Hands of Healthcare Workers. Diagn Microbiol Infect Dis. Elsevier; 27 de março de 1998;30(4):243–9.

Levy I, Rubin LG, Vasishtha S, Tucci V, Sood SK. Emergence of Candida parapsilosis as the predominant species causing candidemia in children. Clin Infect Dis. 1998;26:1086–8.

Lockhart SR, Iqbal N, Cleveland A a., Farley MM, Harrison LH, Bolden CB, et al. Species identification and antifungal susceptibility testing of Candida bloodstream isolates from population-based surveillance studies in two U.S. cities from 2008 to 2011. J Clin Microbiol. 2012;50(11):3435–42.

Lockhart SR, Messer S a, Pfaller M a, Diekema DJ. Lodderomyces elongisporus masquerading as Candida parapsilosis as a cause of bloodstream infections. J Clin Microbiol. janeiro de 2008;46(1):374–6.

Lupetti A, Tavanti A, Davini P, Ghelardi E, Corsini V, Merusi I, et al. Horizontal Transmission of Candida parapsilosis Candidemia in a Neonatal Intensive Care Unit. Society. 2002;40(7):2363–9.

Marr K a., Rustad TR, John H R, White TC. The trailing end point phenotype in antifungal susceptibility testing is pH dependent. Antimicrob Agents Chemother. 1999;43(6):1383–6.

Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The Epidemiology of Sepsis in the United States from 1979 through 2000. N Engl J Med. Massachusetts Medical Society; 17 de abril de 2003;348(16):1546–54.

Matsumoto FE, Dias ALT, Melhem MSC, Szeszs MW, Auler ME, Ruiz LS, et al. Antifungal susceptibility of bloodstream yeasts isolated at a public children's hospital in Brazil: comparison of the Etest® and the AFST–EUCAST microdilution method. Can J Microbiol. NRC Research Press; 20 de novembro de 2007;53(12):1300–6.

Da Matta DA, de Almeida LP, Machado AM, Azevedo AC, Kusano EJU, Travassos NF, et al. Antifungal susceptibility of 1000 Candida bloodstream isolates to 5 antifungal drugs: results of a multicenter study conducted in São Paulo, Brazil, 1995-2003. Diagn Microbiol Infect Dis. abril de 2007;57(4):399–404.

McCarty TP, Pappas PG. Invasive Candidiasis. Infect Dis Clin North Am. março de 2016;30(1):103–24.

Medrano DJA, Brilhante RSN, Cordeiro RDA, Rocha MFG, Rabenhorst SHB, Sidrim JJC. CANDIDEMIA IN A BRAZILIAN HOSPITAL : THE IMPORTANCE OF Candida parapsilosis. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2006;48(1):17–20.

Mellado E, Cuenca-estrella M, Luis J, Micología U De, Nacional C, Instituto DM, et al. Importancia clínica de los mecanismos de resistencia de los hongos filamentosos a los antifúngicos. 2002;523–30.

Messer S a., Moet GJ, Kirby JT, Jones RN. Activity of contemporary antifungal agents, including the novel echinocandin anidulafungin, tested against Candida spp., Cryptococcus spp., and Aspergillus spp.: Report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (2006 to 2007). J Clin Microbiol. 2009;47(6):1942–6.

Mikulska M, Bassetti M, Ratto S, Viscoli C. Invasive candidiasis in non-hematological patients. Mediterr J Hematol Infect Dis. janeiro de 2011;3(1):e2011007.

Mokaddas EM, Al-Sweih NA, Khan ZU. Species distribution and antifungal susceptibility of Candida bloodstream isolates in Kuwait: a 10-year study. J Med Microbiol. fevereiro de 2007;56(Pt 2):255–9.

Moretti ML, Trabasso P, Lyra L, Fagnani R, Resende MR, de Oliveira Cardoso LG, et al. Is the incidence of candidemia caused by Candida glabrata increasing in Brazil? Five-year surveillance of Candida bloodstream infection in a university reference hospital in southeast Brazil. Med Mycol. 2013;51(April):225–30.

Morgan J, Meltzer MI, Plikaytis BD, Sofair AN, Huie-White S, Wilcox S, et al. Excess mortality, hospital stay, and cost due to candidemia: a case-control study using data from population-based candidemia surveillance. Infect Control Hosp Epidemiol. junho de 2005;26(6):540–7.

Morschhäuser J. The genetic basis of fluconazole resistance development in Candida albicans. Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis. 2002;1587:240–8.

National Committee for Clinical Laboratory Standards N. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved Guideline, Second Edition M27-A2. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2002.

NCCLS NC for CLS. Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts: Approved Guideline. Wayne. 2004;24(15).

Nucci M, Colombo AL. Candidemia due to Candida tropicalis: clinical, epidemiologic, and microbiologic characteristics of 188 episodes occurring in tertiary care hospitals. Vol. 58, Diagnostic microbiology and infectious disease. 2007. p. 77–82.

Nucci M, Queiroz-Telles F, Alvarado-Matute T, Tiraboschi IN, Cortes J, Zurita J, et al. Epidemiology of candidemia in Latin America: a laboratory-based survey. PLoS One. janeiro de 2013;8(3):e59373.

Odds FC, Hanson MF, Davidson AD, Jacobsen MD, Wright P, Whyte J a, et al. One year prospective survey of Candida bloodstream infections in Scotland. J Med Microbiol. agosto de 2007;56(Pt 8):1066–75.

Pappas PG, Kauffman C a, Andes DR, Clancy CJ, Marr K a, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2016;62:1–50.

Pappas PG, Kauffman CA, Andes D, Benjamin DK, Calandra TF, Edwards JE, et al. Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 1 de março de 2009;48(5):503–35.

Pappas PG, Rex JH, Sobel JD, Filler SG, Dismukes WE, Walsh TJ, et al. Guidelines for treatment of candidiasis. Clin Infect Dis. 15 de janeiro de 2004;38(2):161–89.

Parahym AMRDC, Melo LRB De, Morais VLL De, Neves RP. Candidiasis in pediatric patients with cancer interned in a university hospital. Brazilian J Microbiol. 2009;40:321–4.

Perea S, Patterson TF. Antifungal Resistance in Pathogenic Fungi. Clin Infect Dis. 2002;35:1073–80.

Pereira GH, Müller PR, Szeszs MW, Levin AS, Melhem MSC. Five-year evaluation of bloodstream yeast infections in a tertiary hospital: the predominance of non-C. albicans Candida species. Med Mycol. 2010;48(September):839–42.

Pfaller M a, Diekema DJ, Andes D, Arendrup MC, Brown SD, Lockhart SR, et al. Clinical breakpoints for the echinocandins and Candida revisited: integration of molecular, clinical, and microbiological data to arrive at species-specific interpretive criteria. Drug Resist Updat. Elsevier Ltd; junho de 2011a;14(3):164–76.

Pfaller M a, Diekema DJ, Procop GW, Rinaldi MG. Multicenter comparison of the VITEK 2 yeast susceptibility test with the CLSI broth microdilution reference method for testing fluconazole against Candida spp. J Clin Microbiol. março de 2007;45(3):796–802.

Pfaller M a., Diekema DJ, Gibbs DL, Newell V a., Ng KP, Colombo a., et al. Geographic and temporal trends in isolation and antifungal susceptibility of Candida parapsilosis: A global assessment from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program, 2001 to 2005. J Clin Microbiol. 2008;46(3):842–9.

Pfaller M a., Diekema DJ, Mendez M, Kibbler C, Erzsebet P, Chang SC, et al. Candida guilliermondii, an opportunistic fungal pathogen with decreased susceptibility to fluconazole: Geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK antifungal surveillance program. J Clin Microbiol. 2006;44(10):3551–6.

Pfaller M a., Moet GJ, Messer S a., Jones RN, Castanheira M. Geographic variations in species distribution and echinocandin and azole antifungal resistance rates among Candida bloodstream infection isolates: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2008 to 2009). J Clin Microbiol. 2011b;49(1):396–9.

Pfaller M, Diekema D. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clin Microbiol Rev. janeiro de 2007;20(1):133–63.

Pfaller MA, Chaturvedi V, Diekema DJ, Ghannoum MA, Holliday NM, Killian SB, et al. Comparison of the Sensititre YeastOne colorimetric antifungal panel with CLSI microdilution for antifungal susceptibility testing of the echinocandins against *Candida* spp., using new clinical breakpoints and epidemiological cutoff values. Diagn Microbiol Infect Dis. Elsevier; 12 de março de 2016a;73(4):365–8.

Pfaller MA, D.J. D, D.L. G, V.a. N, H. B, D. D, et al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study: a 6.5-Year Analysis of Susceptibilities of Candida and Other Yeast Species to Fluconazole and Voriconazole by Standardized Disk Diffusion Testing. J Clin Microbiol. 2005;43(12):5848–59.

Pfaller MA, Diekema DJ. Twelve years of fluconazole in clinical practice: global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of bloodstream isolates of Candida. Clin Microbiol Infect. março de 2004;10(s1):11–23.

Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, 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. J Clin Microbiol. abril de 2010;48(4):1366–77.

Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, Sader HS, Fluit AC, Hollis RJ, et al. International Surveillance of Bloodstream Infections Due to Candida Species: Frequency of Occurrence and In Vitro Susceptibilities to Fluconazole, Ravuconazole, and Voriconazole of Isolates Collected from 1997 through 1999 in the SENTRY Antimicrobial Surv. J Clin Microbiol. 1 de setembro de 2001;39(9):3254–9.

Pfaller MA, Diekema DJ, Procop GW, Rinaldi MG. Comparison of the Vitek 2 yeast susceptibility system with CLSI microdilution for antifungal susceptibility testing of fluconazole and voriconazole against Candida spp., using new clinical breakpoints and epidemiological cutoff values. Diagn Microbiol Infect Dis. Elsevier; 12 de março de 2016b;77(1):37–40.

R.a. H, a.N. S, L.H. H, G.M. L, B.a. A-S, S.a. M, et al. Incidence of bloodstream infections due to Candida species and in vitro susceptibilities of isolates collected from 1998 to 2000 in a population-based active surveillance program. J Clin Microbiol. 2004;42(4):1519–27.

Ramage G, Martinez JP, Lopez-Ribot JL. Candida biofilms on implanted biomaterials: A clinically significant problem. FEMS Yeast Res. 2006;6:979–86.

Ramos LS, Figueiredo-Carvalho MHG, Barbedo LS, Ziccardi M, Chaves ALS, Zancopé-Oliveira RM, et al. *Candida haemulonii* complex: Species identification and antifungal susceptibility profiles of clinical isolates from Brazil. J Antimicrob Chemother. 2015;70:111–5.

Rex JH, Pfaller MA. Has antifungal susceptibility testing come of age? Clin Infect Dis. 15 de outubro de 2002;35(8):982–9.

Rodero L, Davel G, Soria M, Vivot W, Córdoba S, Canteros C, et al. Multicenter study of fungemia due to yeasts in Argentina. Rev Argentina Microbiol ogia. 2005;37:189–95.

Rodrigues CF, Silva S, Henriques M. Candida glabrata: a review of its features and resistance. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2014;33:673–88.

Rodriguez-Tudela JL. EUCAST TECHNICAL NOTE EUCAST Technical Note on voriconazole. October. 2008;10–2.

Rodriguez-Tudela JL, Almirante B, Rodr??guez-Pardo D, Laguna F, Donnelly JP, Mouton JW, et al. Correlation of the MIC and dose/MIC ratio of fluconazole to the therapeutic response of patients with mucosal candidiasis and candidemia. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51(10):3599–604.

Ruiz LS, Sugizaki MF, Montelli a. C, Matsumoto FE, Pires MFC, Da Silva BCM, et al. Fungemia by yeasts in Brazil: Occurrence and phenotypic study of strains isolated at the Public Hospital, Botucatu, Säo Paulo. J Mycol Med. 2005;15:13–21.

Sancak B, Rex J, Paetznick V. Evaluation of a method for identification of Candida dubliniensis bloodstream isolates. J Clin Microbiol 2003;41(1):489–91.

Sandven P. Epidemiology of candidemia in ICU. Rev Iberoam Micol organo la Asoc Esp Espec en Micol. 2006;23:12–5.

Savini V, Catavitello C, Onofrillo D, Masciarelli G, Astolfi D, Balbinot A, et al. What do we know about Candida guilliermondii? A voyage throughout past and current literature about this emerging yeast. Mycoses. Blackwell Publishing Ltd; 1 de setembro de 2011;54(5):434–41.

Silva AP, Miranda IM, Lisboa C, Pina-Vaz C, Rodrigues AG. Prevalence, distribution, and antifungal susceptibility profiles of Candida parapsilosis, C. orthopsilosis, and C. metapsilosis in a tertiary care hospital. J Clin Microbiol. 2009;47(8):2392–7.

Silva V, Díaz MC, Febré N. Invasive fungal infections in Chile: a multicenter study of fungal prevalence and susceptibility during a 1-year period. Med Mycol. janeiro de 2004;42(4):333–9.

Spellberg BJ, Filler SG, Edwards JE. Current treatment strategies for disseminated candidiasis. Clin Infect Dis. 15 de janeiro de 2006;42(2):244–51.

Sullivan DJ, Westerneng TJ, Haynes KA, Bennett DE, Coleman DC. Candida dubliniensis sp. nov.: phenotypic and molecular characterization of a novel species associated with oral candidosis in HIV-infected individuals. Microbiology. 1 de julho de 1995;141(7):1507–21.

Suzuki K, Nakase K, Kyo T, Kohara T, Sugawara Y, Shibazaki T, et al. Fatal Trichosporon fungemia in patients with hematologic malignancies. Eur J Haematol. maio de 2010;84(5):441–7.

Taj-Aldeen SJ, Doiphode SH, Han XY. Kodamaea (Pichia) ohmeri fungaemia in a premature neonate. J Med Microbiol. fevereiro de 2006;55(Pt 2):237–9.

Tamatani T, Ferdous T, Takamaru N, Hara K, Kinouchi M, Kuribayashi N, et al. Antitumor efficacy of sequential treatment with docetaxel and 5-fluorouracil against human oral cancer cells. Int J Oncol. setembro de 2012;41(3):1148–56.

Tavanti A, Davidson AD, Gow NAR, Maiden MCJ, Odds FC. Candida orthopsilosis and Candida metapsilosis spp. nov. to replace Candida parapsilosis groups II and III. J Clin Microbiol. janeiro de 2005;43(1):284–92.

Tietz H-J, Hopp M, Schmalreck A, Sterry W, Czaika V. Candida africana sp. a new human pathogen or a variant of *Candida albicans*? Mycoses. dezembro de 2001;44(11-12):437–45.

Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Kibbler CC, Faure O, et al. Epidemiology of candidaemia in Europe: results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. abril de 2004;23(4):317–22.

Tscherner M, Schwarzmüller T, Kuchler K. Pathogenesis and Antifungal Drug Resistance of the Human Fungal Pathogen Candida glabrata. Pharmaceuticals. 11 de janeiro de 2011;4(12):169–86.

Tuon F, Costa S. Rhodotorula infection. A systematic review of 128 cases from literature. Rev Iberoam Micol. 2008;25(3):135–40.

Vallabhaneni S, Cleveland AA, Farley MM, Harrison LH, Schaffner W, Beldavs ZG, et al. Epidemiology and Risk Factors for Echinocandin Nonsusceptible Candida glabrata Bloodstream Infections: Data From a Large Multisite Population-Based Candidemia Surveillance Program, 2008–2014. Ofid. 2015;1–7.

Vandeputte P, Tronchin G, Berges T, Hennequin C, Chabasse D, Bouchara JP. Reduced susceptibility to polyenes associated with a missense mutation in the ERG6 gene in a clinical isolate of Candida glabrata with pseudohyphal growth. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51(3):982–90.

Vermes a, Guchelaar HJ, Dankert J. Flucytosine: a review of its pharmacology, clinical indications, pharmacokinetics, toxicity and drug interactions. J Antimicrob Chemother. agosto de 2000;46(2):171–9.

Vincent BM, Lancaster AK, Scherz-Shouval R, Whitesell L, Lindquist S. Fitness Trade-offs Restrict the Evolution of Resistance to Amphotericin B. PLoS Biol. 2013;11(10).

Wingard JR. Importance of Candida Species Other than C. albicans as Pathogens in Oncology Patients. Clin Infect Dis . 1 de janeiro de 1995;20 (1):115–25.

Xiao M, Fan X, Chen SC a, Wang H, Sun ZY, Liao K, et al. Antifungal susceptibilities of Candida glabrata species complex, Candida krusei, Candida parapsilosis species complex and Candida tropicalis causing invasive candidiasis in China: 3 year national surveillance. J Antimicrob Chemother. 2015;70(December 2014):802–10.

Zuluaga Rodríguez A, de Bedout Gomez C, Agudelo Restrepo CA, Hurtado Parra H, Arango Arteaga M, Restrepo Moreno ??Ngela, et al. Sensibilidad a fluconazol y voriconazol de especies de Candida aisladas de pacientes provenientes de unidades de cuidados intensivos en Medell??n, Colombia (2001-2007). Rev Iberoam Micol. 2010;27(3):125–9.

APÊNDICE 1 – TABELA DE IDENTIFICAÇÃO DAS LEVEDURAS UTILIZADAS NO ESTUDO.

N	ano	isolado	levedura	mm	5-F	VCZ	FLU	AMB
1	2009	109.037.592	*C. parapsilosis*	30	≤1	≤0,12	≤1	0,5
2	2009	109.002.794	*C. parapsilosis*	26	≤1	≤0,12	≤1	0,5
3	2009	109.016.170	*C. tropicalis*	36	NR	NR	NR	NR
4	2009	109.023.963	*C. albicans*	35	≤1	≤0,12	≤1	1
5	2009	109.037.595	*C. parapsilosis*	26	≤1	≤0,12	2	0,5
6	2009	109.052.456	*C. albicans*	33	≤1	≤0,12	≤1	0,5
7	2009	109.059.142	*C. parapsilosis*	33	≤1	≤0,12	≤1	1
8	2009	109.060.707	*C. glabrata*	22	≤1	≤0,12	2	0,5
9	2009	109.060.729	*C. tropicalis*	35	≤1	≤0,12	≤1	0,5
10	2009	109.064.748	*C. parapsilosis*	32	≤1	≤0,12	≤1	0,5
11	2009	109.068.416	*C. parapsilosis*	20	≤1	≤0,12	4	0,5
12	2009	109.084.368	*C. albicans*	31	≤1	≤0,12	≤1	0,5
13	2009	109.084.378	*C. albicans*	31	≤1	≤0,12	≤1	1
14	2009	109.084.384	*C. parapsilosis*	30	≤1	≤0,12	≤1	0,5
15	2009	109.084.391	*C. tropicalis*	NR	NR	NR	NR	NR
16	2009	109.085.786	*C. parapsilosis*	20	≤1	≤0,12	4	0,5
17	2009	109.085.788	*C. tropicalis*	32	≤1	≤0,12	≤1	0,5
18	2009	109.085.791	*C. albicans*	30	≤1	≤0,12	≤1	1
19	2009	109.091.147	*C. albicans*	34	≤1	≤0,12	≤1	0,5
20	2009	109.095.789	*C. parapsilosis*	33	≤1	≤0,12	≤1	0,5
21	2009	109.099.198	*C. albicans*	36	≤1	≤0,12	≤1	0,5
22	2009	109.101.696	*C. parapsilosis*	35	≤1	≤0,12	≤1	1
23	2009	109.115.741	*C. albicans*	34	≤1	≤0,12	≤1	1
24	2009	109.115.749	*C. tropicalis*	32	≤1	≤0,12	≤1	0,5
25	2009	109.115.750	*C. tropicalis*	20	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25
26	2009	109.115.753	*C. parapsilosis*	30	≤1	≤0,12	≤1	0,5
27	2009	109.115.759	*C. albicans*	29	≤1	≤0,12	≤1	1
28	2009	109.124.234	*C. tropicalis*	25	NR	NR	NR	NR
29	2009	109.124.250	*C. parapsilosis*	39	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25
30	2009	109.125.983	*C. tropicalis*	28	≤1	≤0,12	≤1	0,5
31	2009	109.125.988	*C. tropicalis*	18	≤1	≤0,12	4	0,5
32	2009	109.132.275	*C. tropicalis*	26	NR	NR	NR	NR
33	2009	109.132.282	*C. parapsilosis*	35	≤1	≤0,12	≤1	0,5
34	2009	109.136.524	*C. parapsilosis*	26	≤1	≤0,12	≤1	0,5
35	2009	109.136.641	*C. tropicalis*	28	≤1	≤0,12	≤1	0,5
36	2009	109.137.557	*C. albicans*	40	≤1	≤0,12	≤1	1
37	2009	109.140.087	*C. albicans*	40	≤1	≤0,12	≤1	1
38	2009	109.140.882	*C. tropicalis*	29	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25
39	2009	109.142.984	*C. albicans*	30	≤1	≤0,12	≤1	1
40	2009	109.156.010	*C. parapsilosis*	35	≤1	≤0,12	≤1	0,5
41	2009	109.156.015	*C. tropicalis*	36	NR	NR	NR	NR
42	2009	109.156.028	*C. albicans*	41	≤1	≤0,12	≤1	1
43	2009	109.156.094	*C. albicans*	44	≤1	≤0,12	≤1	1
44	2009	109.161.169	*C. parapsilosis*	35	≤1	≤0,12	≤1	0,5
45	2009	109.161.779	*C. tropicalis*	35	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25
46	2009	109.166.523	*C. parapsilosis*	39	≤1	≤0,12	≤1	0,5
47	2009	109.170.827	*C. tropicalis*	33	≤1	≤0,12	≤1	0,5
48	2009	109.173.273	*C. tropicalis*	30	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25

n	ano	isolado	levedura	mm	5-F	VCZ	FLU	AMB
49	2009	109.174.461	*C. tropicalis*	32	NR	NR	NR	NR
50	2009	109.180.606	*C. albicans*	30	2	≤0,12	≤1	1
51	2009	109.180.610	*C. parapsilosis*	35	≤1	≤0,12	≤1	0,5
52	2009	109.180.627	*C. tropicalis*	30	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25
53	2009	109.186.246	*C. albicans*	38	≤1	≤0,12	≤1	1
54	2009	109.192.957	*C. albicans*	39	≤1	≤0,12	≤1	1
55	2009	109.192.963	*C. albicans*	41	≤1	≤0,12	≤1	0,5
56	2009	109.192.965	*C. tropicalis*	38	≤1	≤0,12	≤1	0,5
57	2009	109.197.484	*C. tropicalis*	30	≤1	≤0,12	≤1	0,5
58	2009	109.197.491	*C. parapsilosis*	25	≤1	≤0,12	≤1	0,5
59	2009	109.197.492	*C. albicans*	38	≤1	≤0,12	≤1	1
60	2009	109.197.495	*C. albicans*	38	≤1	≤0,12	≤1	1
61	2009	109.199.258	*C. parapsilosis*	32	NR	NR	NR	NR
62	2009	109.200.017	*C. parapsilosis*	34	≤1	≤0,12	≤1	0,5
63	2009	109.200.026	*C. parapsilosis*	34	≤1	≤0,12	≤1	0,5
64	2009	109.200.027	*C. albicans*	40	≤1	≤0,12	≤1	1
65	2009	109.201.594	*C. tropicalis*	32	≤1	≤0,12	≤1	0,5
66	2009	109.204.153	*C. tropicalis*	35	≤1	≤0,12	≤1	0,5
67	2009	109.205.578	*C. parapsilosis*	37	≤1	≤0,12	≤1	0,5
68	2009	109.205.605	*C. tropicalis*	34	≤1	≤0,12	≤1	0,5
69	2009	109.211.007	*C. parapsilosis*	29	≤1	≤0,12	≤1	0,5
70	2009	109.211.011	*C. albicans*	36	≤1	≤0,12	≤1	1
71	2009	109.211.012	*C. albicans*	32	≤1	≤0,12	≤1	1
72	2009	109.211.045	*C. glabrata*	26	≤1	≤0,12	2	0,5
73	2010	110.000.932	*C. albicans*	43	≤1	≤0,12	≤1	1
74	2010	110.002.652	*C. albicans*	30	≤1	≤0,12	≤1	1
75	2010	110.003.210	*C. tropicalis*	33	NR	NR	NR	NR
76	2010	110.003.951	*C. tropicalis*	29	≤1	≤0,12	≤1	1
77	2010	110.008.493	*C. glabrata*	30	≤1	≤0,12	2	0,5
78	2010	110.009.844	*C. parapsilosis*	20	≤1	≤0,12	2	0,5
79	2010	110.009.847	*C. krusei*	10	4	≤0,12	8	1
80	2010	110.010.414	*C. tropicalis*	30	NR	NR	NR	NR
81	2010	110.013.536	*C. parapsilosis*	35	≤1	≤0,12	≤1	0,5
82	2010	110.016.491	*C. albicans*	30	≤1	≤0,12	≤1	1
83	2010	110.022.106	*C. haemulonii*	6	≤ 1	≤0,12	32	8
84	2010	110.022.108	*C. parapsilosis*	17	≤1	≤0,12	2	0,5
85	2010	110.022.114	*C. albicans*	35	≤1	≤0,12	≤1	0,5
86	2010	110.022.827	*C. tropicalis*	33	≤1	≤0,12	≤1	0,5
87	2010	110.023.002	*C. parapsilosis*	32	≤1	≤0,12	≤1	0,5
88	2010	110.025.559	*C. parapsilosis*	35	≤1	≤0,12	≤1	0,5
89	2010	110.025.561	*C. tropicalis*	24	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25
90	2010	110.029.203	*C. albicans*	38	≤1	≤0,12	≤1	1
91	2010	110.029.217	*C. parapsilosis*	18	≤1	≤0,12	2	0,5
92	2010	110.030.539	*C. parapsilosis*	32	≤1	≤0,12	≤1	0,5
93	2010	110.030.626	*C. tropicalis*	35	≤1	≤0,12	≤1	0,5
94	2010	110.037.275	*C. albicans*	28	≤1	≤0,12	≤1	0,5
95	2010	110.046.874	*C. tropicalis*	32	≤1	≤0,12	≤1	0,5
96	2010	110.046.879	*C. parapsilosis*	28	≤1	≤0,12	2	0,5
97	2010	110.046.880	*C. parapsilosis*	32	≤1	≤0,12	≤1	0,5
98	2010	110.046.885	*C. tropicalis*	32	≤1	≤0,12	≤1	0,5
99	2010	110.051.625	*C. tropicalis*	30	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25
100	2010	110.057.965	*C. tropicalis*	30	≤1	≤0,12	≤1	0,5
101	2010	110.057.970	*C. guilliermondii*	26	≤1	≤0,12	2	0,5

n	ano	isolado	levedura	mm	5-F	VCZ	FLU	AMB
102	2010	110.057.981	*C. albicans*	41	≤1	≤0,12	≤1	0,5
103	2010	110.057.986	*C. guilliermondii*	25	NR	NR	NR	NR
104	2010	110.062.587	*C. parapsilosis*	26	≤ 1	≤0,12	4	0,5
105	2010	110.067.703	*C. tropicalis*	30	NR	NR	NR	NR
106	2010	110.067.708	*C. albicans*	35	≤1	≤0,12	≤1	1
107	2010	110.067.714	*C. tropicalis*	30	≤1	≤0,12	≤1	0,5
108	2010	110.067.716	*C. albicans*	40	≤1	≤0,12	≤1	1
109	2010	110.068.696	*C. tropicalis*	29	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25
110	2010	110.068.746	*C. tropicalis*	30	NR	NR	NR	NR
111	2010	110.076.270	*C. lusitaniae*	40	≤1	≤0,12	≤1	0,5
112	2010	110.076.271	*C. albicans*	42	≤1	≤0,12	≤1	1
113	2010	110.076.273	*C. parapsilosis*	40	≤1	≤0,12	≤1	0,5
114	2010	110.076.274	*C. parapsilosis*	14	≤1	0,25	8	0,5
115	2010	110.076.617	*C. albicans*	40	NR	NR	NR	NR
116	2010	110.084.705	*C. parapsilosis*	35	≤1	≤0,12	≤1	0,5
117	2010	110.084.706	*Candida sp*	16	≤1	≤0,12	16	8
118	2010	110.084.707	*C. parapsilosis*	26	≤1	≤0,12	2	0,5
119	2010	110.088.380	*C. albicans*	32	≤ 1	≤0,12	≤1	1
120	2010	110.094.723	*C. tropicalis*	34	≤1	≤0,12	≤1	0,5
121	2010	110.096.373	*C. tropicalis*	30	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25
122	2010	110.096.380	*C. parapsilosis*	35	≤1	≤0,12	≤1	0,5
123	2010	110.097.745	*C. tropicalis*	30	NR	NR	NR	NR
124	2010	110.097.749	*C. tropicalis*	30	≤1	≤0,12	≤1	≤ 0,25
125	2010	110.100.824	*C. parapsilosis*	30	≤1	≤0,12	≤1	0,5
126	2010	110.100.840	*C. parapsilosis*	34	≤1	≤0,12	≤1	0,5
127	2010	110.109.629	*C. krusei*	12	4	≤0,12	8	0,5
128	2010	110.109.808	*C. parapsilosis*	30	≤1	≤0,12	≤1	0,5
129	2010	110.109.810	*C. parapsilosis*	30	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25
130	2010	110.109.811	*C. parapsilosis*	20	≤1	≤0,12	2	0,5
131	2010	110.110.742	*C. albicans*	30	≤1	≤0,12	≤1	0,5
132	2010	110.110.744	*C. parapsilosis*	30	≤1	≤0,12	≤1	0,5
133	2010	110.116.531	*C. albicans*	40	≤1	≤0,12	≤1	1
134	2010	110.117.008	*C. tropicalis*	34	≤1	≤0,12	≤1	0,5
135	2010	110.117.011	*C. parapsilosis*	35	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25
136	2010	110.117.012	*C. parapsilosis*	42	≤1	≤0,12	≤1	0,5
137	2010	110.117.013	*C. tropicalis*	27	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25
138	2010	110.117.082	*C. parapsilosis*	30	≤1	≤0,12	≤1	0,5
139	2010	110.117.083	*C. parapsilosis*	28	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25
140	2010	110.119.771	*C. parapsilosis*	28	≤1	≤0,12	≤1	1
141	2010	110.125.696	*C. parapsilosis*	23	≤1	≤0,12	≤1	0,5
142	2010	110.130.358	*C. parapsilosis*	55	≤1	≤0,12	≤1	0,5
143	2010	110.130.360	*C. albicans*	40	≤1	≤0,12	≤1	1
144	2010	110.130.362	*C. parapsilosis*	36	≤1	≤0,12	≤1	0,5
145	2010	110.130.363	*C. parapsilosis*	39	≤1	≤0,12	≤1	0,5
146	2010	110.133.497	*C. parapsilosis*	22	≤1	≤0,12	4	0,5
147	2010	110.134.758	*C. parapsilosis*	35	≤1	≤0,12	≤1	0,5
148	2010	110.135.294	*C. parapsilosis*	24	≤1	≤0,12	2	0,5
149	2010	110.140.309	*C. tropicalis*	31	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25
150	2010	110.141.701	*C. parapsilosis*	25	≤1	≤0,12	2	0,5
151	2010	110.141.713	*C. parapsilosis*	27	≤1	≤0,12	≤1	0,5
152	2010	110.144.047	*C. tropicalis*	31	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25
153	2010	110.151.290	*C. parapsilosis*	40	≤1	≤0,12	≤1	0,5
154	2010	110.152.221	*C. parapsilosis*	18	≤1	≤0,12	≤1	0,5

n	ano	isolado	levedura	mm	5-F	VCZ	FLU	AMB
155	2010	110.152.229	*C. albicans*	40	≤1	≤0,12	≤1	1
156	2010	110.172.746	*C. parapsilosis*	40	≤1	≤0,12	≤1	0,5
157	2010	110.178.451	*C. parapsilosis*	35	≤ 1	≤0,12	≤1	0,5
158	2010	110.179.387	*C. parapsilosis*	35	≤1	≤0,12	≤1	0,5
159	2010	110.179.500	*C. tropicalis*	24	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25
160	2010	110.183.408	*C. albicans*	25	≤1	≤0,12	≤1	1
161	2010	110.186.069	*C. parapsilosis*	34	≤1	≤0,12	≤1	≤ 0,25
162	2010	110.186.556	*C. glabrata*	32	≤1	≤0,12	2	0,5
163	2010	110.189.335	*C. albicans*	35	≤1	≤0,12	≤1	1
164	2010	110.192.425	*C. parapsilosis*	26	≤1	≤0,12	≤1	0,5
165	2010	110.192.426	*C. parapsilosis*	27	≤1	≤0,12	≤1	0,5
166	2010	110.192.578	*C. tropicalis*	36	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25
167	2010	110.194.601	*C. tropicalis*	34	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25
168	2010	110.196.723	*C. albicans*	33	≤1	≤0,12	≤1	1
169	2010	110.197.152	*C. albicans*	40	≤1	≤0,12	≤1	1
170	2010	110.209.083	*C. tropicalis*	25	≤1	≤0,12	≤1	0,5
171	2010	110.214.680	*C. tropicalis*	31	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25
172	2010	110.219.241	*C. albicans*	35	≤1	≤0,12	≤1	0,5
173	2010	110.221.682	*C. tropicalis*	30	≤1	≤0,12	≤1	≤ 0,25
174	2010	110.228.428	*C. glabrata*	30	≤1	≤0,12	2	≤0,25
175	2010	110.228.430	*C. tropicalis*	36	≤1	≤0,12	≤1	≤0,25
176	2010	110.231.289	*C. albicans*	45	≤1	≤0,12	≤1	1
177	2010	110.231.292	*C. parapsilosis*	33	≤1	≤0,12	≤1	0,5
178	2010	110.231.295	*C. albicans*	45	≤1	≤0,12	≤1	1
179	2010	110.239.777	*C. parapsilosis*	30	≤1	≤0,12	≤1	0,5
180	2011	111.002.132	*C. tropicalis*	30	NR	NR	NR	NR
181	2011	111.007.251	*C. parapsilosis*	30	≤ 1	≤0,12	≤1	0,5
182	2011	111.008.030	*C. tropicalis*	28	≤1	≤0,12	≤1	≤ 0,25
183	2011	111.030.454	*C. albicans*	35	≤ 1	≤0,12	≤1	0,5
184	2011	111.036.935	*C. tropicalis*	32	NR	NR	NR	NR
185	2011	111.042.220	*C. albicans*	38	≤ 1	≤0,12	2	0,5
186	2011	111.045.332	*C. albicans*	36	≤1	≤0,12	≤1	1
187	2011	111.045.339	*C. tropicalis*	33	≤1	≤0,12	≤1	≤ 0,25
188	2011	111.051.175	*C. parapsilosis*	28	≤1	≤0,12	≤1	0,5
189	2011	111.051.204	*C. parapsilosis*	30	≤ 1	≤0,12	≤1	1
190	2011	111.062.276	*C. parapsilosis*	36	2	≤0,12	≤1	0,5
191	2011	111.068.322	*C. parapsilosis*	37	≤ 1	≤0,12	≤1	0,5
192	2011	111.081.264	*C. albicans*	42	≤ 1	≤0,12	≤1	1
193	2011	111.088.332	*C. krusei*	12	16	≤0,12	16	1
194	2011	111.088.337	*C. parapsilosis*	33	≤ 1	≤0,12	≤1	0,5
195	2011	111.088.375	*C. tropicalis*	30	≤1	≤0,12	≤1	0,5
196	2011	111.088.376	*C. parapsilosis*	39	≤ 1	≤0,12	≤1	1
197	2011	111.088.925	*C. tropicalis*	30	≤1	≤0,12	≤1	≤ 0,25
198	2011	111.106.363	*C. parapsilosis*	22	≤1	≤0,12	2	1
199	2011	111.111.993	*C. albicans*	38	≤ 1	≤0,12	≤1	1
200	2011	111.112.699	*C. tropicalis*	30	≤1	≤0,12	≤1	0,5
201	2011	111.114.910	*C. tropicalis*	30	≤1	≤0,12	≤1	0,5
202	2011	111.126.378	*C. krusei*	12	8	≤0,12	8	0,5
203	2011	111.133.957	*C. glabrata*	23	≤1	0,5	16	1
204	2011	111.136.911	*C. albicans*	35	≤1	≤0,12	≤1	0,5
205	2011	111.147.169	*C. tropicalis*	32	≤1	≤0,12	≤1	0,5
206	2011	111.147.979	*C. tropicalis*	33	≤1	≤0,12	≤1	0,5
207	2011	111.150.493	*C. parapsilosis*	30	≤ 1	≤0,12	≤1	0,5

n	ano	isolado	levedura	mm	5-F	VCZ	FLU	AMB
208	2011	111.156.845	*C. guilliermondii*	21	≤ 1	≤0,12	2	≤ 0,25
209	2011	111.159.671	*C. tropicalis*	30	≤1	≤0,12	≤1	0,5
210	2011	111.161.190	*C. tropicalis*	30	≤1	≤0,12	≤1	≤ 0,25
211	2011	111.166.375	*C. albicans*	39	≤1	≤0,12	≤1	0,5
212	2011	111.184.919	*C. tropicalis*	40	≤1	≤0,12	≤1	≤ 0,25
213	2011	111.191.474	*C. parapsilosis*	37	≤1	≤0,12	≤1	0,5
214	2011	111.205.273	*C. albicans*	40	≤1	≤0,12	≤1	0,5
215	2011	111.208.721	*C. albicans*	40	≤1	≤0,12	≤1	0,5
216	2011	111.212.195	*C. krusei*	10	16	0,25	16	1
217	2011	111.220.821	*C. parapsilosis*	26	≤ 1	≤0,12	≤1	1
218	2011	111.220.843	*C. krusei*	12	16	≤0,12	16	1
219	2011	111.225.569	*C. tropicalis*	30	≤1	≤0,12	≤1	0,5
220	2011	111.226.449	*C. tropicalis*	30	≤1	≤0,12	≤1	0,5
221	2011	111.242.201	*C. parapsilosis*	19	≤1	≤0,12	4	1
222	2011	111.249.248	*C. tropicalis*	31	≤1	≤0,12	≤1	0,5
223	2011	111.265.829	*C. tropicalis*	35	≤1	≤0,12	≤1	0,5
224	2012	112.037.437	*C. albicans*	38	≤1	≤0,12	≤1	0,5
225	2012	112.039.850	*C. albicans*	40	≤1	≤0,12	≤1	1
226	2012	112.048.969	*C. tropicalis*	31	≤1	≤0,12	≤1	0,5
227	2012	112.048.974	*C. tropicalis*	33	≤1	≤0,12	≤1	0,5
228	2012	112.048.977	*C. albicans*	39	≤1	≤0,12	≤1	1
229	2012	112.051.209	*C. glabrata*	20	≤1	≤0,12	4	1
230	2012	112.059.636	*C. albicans*	45	≤1	≤0,12	≤1	1
231	2012	112.065.271	*C. glabrata*	22	≤1	≤0,12	2	1
232	2012	112.068.297	*Pichia angusta*	40	NR	NR	NR	NR
233	2012	112.074.775	*C. parapsilosis*	34	≤ 1	≤0,12	≤1	0,5
234	2012	112.089.464	*C. parapsilosis*	42	≤ 1	≤0,12	≤1	1
235	2012	112.097.390	*C. parapsilosis*	36	≤ 1	≤0,12	≤1	1
236	2012	112.106.326	*C. glabrata*	20	≤1	≤0,12	4	1
237	2012	112.111.848	*C. glabrata*	20	≤ 1	≤0,12	8	1
238	2012	112.111.849	*C. glabrata*	20	≤ 1	≤0,12	2	1
239	2012	112.111.849	*C. glabrata*	20	≤ 1	≤0,12	8	1
240	2012	112.125.387	*C. tropicalis*	32	≤1	≤0,12	≤1	1
241	2012	112.167.655	*C. albicans*	39	≤1	≤0,12	≤1	1
242	2012	112.202.932	*C. glabrata*	21	≤1	≤0,12	8	1
243	2012	112.215.497	*C. albicans*	30	≤1	≤0,12	≤1	1
244	2012	112.252.645	*C. parapsilosis*	24	≤ 1	≤0,12	≤1	0,5
245	2012	112.252.862	*C. parapsilosis*	26	≤ 1	≤0,12	≤1	0,5
246	2012	112.275.847	*C. tropicalis*	36	≤1	≤0,12	≤1	0,5
247	2012	112.286.345	*C. albicans*	41	≤ 1	≤0,12	≤1	0,5
248	2012	112.294.989	*C. parapsilosis*	20	≤ 1	≤0,12	8	1
249	2012	112.296.765	*C. tropicalis*	38	≤1	≤0,12	≤1	0,5
250	2012	112.296.772	*C. albicans*	34	≤1	≤0,12	≤1	0,5

NR = isolado não recuperado

Anexo 1 - Carta de aprovação do comitê de ética

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE CONTROLE DE DOENÇAS
INSTITUTO ADOLFO LUTZ
Comitê de Ética em Pesquisa - CEPIAL
Av. Dr. Arnaldo, 355 – Sala 83 - Cerqueira César - 01246-902
Fone: 3068-2859 e-mail: cepial@ial.sp.gov.br

São Paulo, 16 de dezembro de 2011.

Protocolo: **089 /2011**
Registro CEPIAL nº 030/2011 de 06/10/11
1º Parecer – Protocolo 076/2011 de 21/11/11

Projeto de Pesquisa: "Caracterização de leveduras isoladas de corrente sanguínea de pacientes atendidos em hospitais públicos do município de Salvador".

Pesquisador Responsável: Márcia de Souza Carvalho Melhem

Instituição: Instituto Adolfo Lutz

O Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Adolfo Lutz - CEPIAL analisou e deliberou em reunião ordinária de 15 de dezembro de 2011, de acordo com a Resolução CNS nº 196 de 10 de outubro de 1996 e resoluções complementares, o projeto na categoria **APROVADO.**

Em conformidade com o item IX. 2 da Resolução CNS nº 196/1996 - cabe ao pesquisador: a)desenvolver o projeto conforme delineado; b)elaborar e apresentar os relatórios parciais e final; c)apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d)manter em arquivo, sob sua guarda, por 5 anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e)encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f)justificar, perante o CEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.
Os relatórios parciais deverão ser encaminhados ao CEPIAL a cada seis meses a partir do inicio da pesquisa.

Luz Marina Trujillo
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
Instituto Adolfo Lutz – CEPIAL

1ª via – coordenador
2ª via - CEPIAL
LMT/dvmp