

PAULA REGINA CAZARES VIANI

*Candida* provenientes de INFECÇÃO HOSPITALAR ISOLADAS  
DE PACIENTES INTERNADOS EM HOSPITAL INFANTIL DO  
ESTADO DE SÃO PAULO E AVALIADAS POR  
MARCADORES FENOTÍPICOS

		Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.
--	--	--

**São Paulo**  
**2007**

PAULA REGINA CAZARES VIANI

INFECCÃO HOSPITALAR POR *Candida* ISOLADAS DE PACIENTES  
INTERNADOS, PROFISSIONAIS DA SAÚDE E AMBIENTE  
HOSPITALAR EM HOSPITAL INFANTIL DO ESTADO DE SÃO PAULO  
E AVALIADA POR MARCADORES FENOTÍPICOS

		Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.
--	--	--

**São Paulo**  
**2007**

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

---

Candidato(a): Paula Regina Viani.

Título da Dissertação: *Candida* provenientes de infecção hospitalar isoladas de pacientes internados em hospital infantil do estado de são paulo e avaliadas por marcadores fenotípicos.

Orientador(a): Claudete Rodrigues Paula.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da **Dissertação de Mestrado**,  
em sessão pública realizada a ...../...../.....,

**Aprovado(a)**

**Reprovado(a)**

Examinador(a): Assinatura: .....  
Nome: .....  
Instituição: .....

Examinador(a): Assinatura: .....  
Nome: .....  
Instituição: .....

Presidente: Assinatura: .....  
Nome: .....  
Instituição: .....

## Resumo

VIANI, P.R.C. *Candida* provenientes de infecção hospitalar isoladas de pacientes internados em hospital infantil do estado de São Paulo e avaliadas por marcadores fenotípicos. 2007. 68.f. Dissertação (Mestrado em ciências) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2007.

Este estudo avaliou a incidência e distribuição de *Candida* spp. isoladas de casos de infecção hospitalar no período entre 2005 to 2007, em um hospital público infantil, em São Paulo. Brasil. As amostras foram isoladas de sangue, urina e outros materiais biológicos (36,6%, 37,12% e 26,52%, respectivamente). As análises micromorfológicas e bioquímicas revelaram que a distribuição por espécie foi 62,12% *Candida albicans*, 37,88% não-*albicans*. Uma maior incidência de amostras de *C. albicans* foi observada em casos de candidúria (53,62%) enquanto espécies não-*albicans* foram mais prevalentes em candidemia (71,43%) ( $p < 0.05$ ). A respeito da produção enzimática, 68,94%, 47,73%, 65,91% e 66,67% foram positivas para proteinase, fosfolipase, lipase e hemolisina. Em relação aos antifúngicos, para Anfotericina B, 96,97% dos isolados mostraram e para 5-fluorocitosina foi observado o maior índice de resistência. Os fatores de risco identificados para candidemia hospitalar foram as doenças pré-existentes, terapia antibiótica de largo espectro e a presença de cateter venoso central.

Palavras – chaves. *Candida*, infecção hospitalar, enzimas, antifúngicos.

Financiamento: FAPESP, CAPES

## Abstract

VIANI, P.R.C. *Candida* nosocomial infections at a public children's hospital in São Paulo evaluated by fenotypic markers. 2007. 68f. Master Thesis (Science) – Instituto de Ciências Biomédicas , Universidade de São Paulo, 2007.

This study evaluated the incidence and distribution of *Candida* spp. identified from cases of nosocomial infection in the period from 2005 to 2007, in a public children's hospital in São Paulo, Brazil. The strains were isolated from the blood, urine and other biological specimens (36,6%, 37,12% and 26,52%, respectively). Micromorphological and biochemical analyses revealed that the overall distribution by species was 62,12% *Candida albicans*, 37,88% non-*albicans*. A higher incidence of *C. albicans* strains was observed in cases of candiduria (53,62%) while non-*albicans* species were more prevalent in cases of candidemia (71,43%) ( $p < 0.05$ ). Concerning the production of enzymes, 68,94%, 47,73%, 65,91% and 66,67% presented positive proteinase, phospholipase, lipase and hemolin activity. In relation to antifungal for the Amphotericin B, 96,97% of isolates showed sensitivity and for 5- fluorocytosine was observed the biggest index of resistance. The Risk factors identified for nosocomial candidemia was underlying disease, therapy with broad-spectrum antibiotics and the presence of a central venous catheter.

Key words: *Candida*, nosocomial infection, enzymes, antifungal agent.

Suported by FAPESP, CAPES

## Sumário

1	Introdução	10
1.1	Infecção Hospitalar por <i>Candida</i> sp	10
1.2	<i>Candida</i> e Candidíase	13
1.3	Fatores Relacionados à virulência - exoenzimas	16
1.3.1	Proteinase	16
1.3.2	Fosfolipase	17
1.3.3	Lípase	18
1.3.4	Hemolisina	18
1.4	Resistência aos antifúngicos	18
2	Objetivos	22
2.1	Objetivo geral	22
2.2	Objetivo específico	22
3	Material e Métodos	23
3.1	Hospital	23
3.2	Pacientes	23
3.3	Isolados	23
3.4	Manutenção, cultivo e identificação	23
3.5	Pesquisa de exoenzimas	24
3.5.1	Proteinase	24
3.5.2	Fosfolipase	24
3.5.3	Lípase	24
3.5.4	Hemolisina	25
3.6	Teste de sensibilidade aos antifúngicos	25
3.7	Dados dos pacientes	25
3.8	Análise estatística	25
4	Resultados	26
4.1	Análise fenotípica das amostras isoladas	26
4.1.1	Amostras isoladas	26
4.1.2	Materiais clínicos enviados ao laboratório de leveduras patogênicas	26
4.1.3	Atividade enzimática	30
4.1.3.1	Atividade hemolítica	30
4.1.3.2	Atividade de fosfolipase	31
4.1.3.3	Atividade de proteinase	32
4.1.3.4	Atividade de lípase	33
4.1.3.5	Correlação entre as atividades enzimáticas	34
4.1.4	Antifungigrama	35
4.1.4.1	Anfotericina B	35
4.1.4.2	5 Fluoritosina	35
4.1.4.3	Intraconazol	36
4.1.4.4	Fluconazol	36
4.1.4.5	Correlação entre a susceptibilidade ao fluconazol e itraconazol	37
4.2	Análise das características clínicas e terapêuticas de pacientes com candidíase	39
4.2.1	Casos estudados	39
4.2.2	Relação das espécies de <i>Candida</i> , material clínico e perfil desusceptibilidade aos antifúngicos com o tipo de infecção	39
4.2.3	Dados de vigilância epidemiológica	42
5	Discussão	44
6	Conclusões	50
7	Referências Bibliográficas	51
ANEXO1	Protocolo de identificação	62
ANEXO2	Tabela geral de dados	68
ANEXO3	Ficha de vigilância epidemiológica	

## 1. Introdução

### 1.1. Infecção Hospitalar por *Candida* sp

Infecção hospitalar é aquela adquirida após a admissão do paciente e que se manifesta durante a internação ou após a alta, quando puder ser relacionada com a internação ou procedimentos hospitalares (Montelli, 2000). A aquisição de infecção hospitalar depende de uma complexa interação entre hospedeiro susceptível e o agente infeccioso. Os fatores referentes ao patógeno incluem dose do inóculo suficiente para causar infecção, patogenicidade e virulência. O controle da infecção fúngica hospitalar requer conhecimento do hospital como um complexo ecossistema (Ghannoum & Abu-Eleen, 1990).

As manifestações clínicas das infecções fúngicas nosocomiais podem se apresentar sob diversas formas: infecção de corrente sanguínea (fungemia), infecção do trato urinário (ITU), infecção de ferida cirúrgica, abscessos cutâneos relacionados à inserção de cateter, infecção de músculo cardíaco, entre outras (Javis, 1995; Freid et al., 1999; Christensen et al., 2000; Silva, 2005)

As infecções hospitalares constituem graves problemas de Saúde Pública, e estão entre as principais causas de morbidade e mortalidade no ser humano, acarretando aumento no tempo de hospitalização e, conseqüentemente, gerando elevados custos adicionais para o tratamento do doente (Barchiesi et al, 2004). Os programas de Vigilância Epidemiológica dos Estados Unidos têm demonstrado que 5 a 10% dos pacientes que ingressam em hospitais adquirem uma infecção nosocomial. (Lacaz et al, 2002)

A maioria das infecções por *Candida albicans* são de origem endógena (Pfaller, 1996) decorrentes da proliferação ou mudança de sítio da levedura, induzidos por algum fator predisponente do hospedeiro ou do fungo, mas existe a possibilidade de infecção exógena em ambiente hospitalar (Strausbaugh et al, 1994; Khatib et al, 1995; Shimid et al, 1995).

Embora *C. albicans* permaneça como mais freqüente causa de fungemia e a mais predominante em sítios clinicamente importantes (Pfaller et al., 1998 a,b,c; Sandven et al, 1998; Pfaller et al 1999; Krcméry et al, 2000), alguns estudos publicados recentemente mostraram um aumento das outras espécies de *Candida* causando infecções significantes (Wingard, 1995; Fridkin & Jarvis, 1996, Pfaller, 1996; Krcméry et al, 2000).

A maioria das infecções nosocomiais causadas por fungos são relatadas como sendo causadas por *Candida spp.* (Schaberg,1991; Pfaller, 1992; Beck-Sague, 1993; Matsumoto, 2001, Ruiz, 2005). Em hospitais terciários, o gênero *Candida* responde por cerca de 80% das infecções fúngicas documentadas, representando um grande desafio aos clínicos de diferentes especialidades devido às dificuldades diagnósticas e terapêuticas das infecções causadas por tais agentes (Banerjee ,1991).

A incidência de infecções nosocomiais causada por fungos, especialmente por *Candida albicans*, vem aumentando proporcionalmente. Análises em hospitais americanos apresentam *Candida albicans* como o fungo mais isolado em todos os sítios de infecção: sangue, cateter, e trato urinário (Schaberg, 1991; Emori, 1993).

Em 1993, espécies de *Candida* e outras leveduras tornaram-se os principais patógenos nosocomiais em Hospital de Taiwan. Houve um aumento na taxa de infecção fúngica nosocomial de 0,9/1000 altas em 1981 para 6,6/1000 altas em 1993 (Che et al, 1997).

Em 1998, *Candida spp.* foi isolada na urina de 166 pacientes internados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-SP. Os prontuários médicos de 100 destes pacientes, com candidúria detectada depois de três ou mais dias de hospitalização. *C. tropicalis* foi isolada em 53 % e *C. albicans* em 36 % dos casos; as espécies não-*albicans* foram os principais agentes de candidúria, sendo considerados patógenos emergentes do trato urinário em pacientes gravemente enfermos. (Oliveira, 2001)

Silva, 2005; em estudo, identificou 100 casos de candidúria de um período de 1999 a 2004, de um hospital infantil público de São Paulo, sendo que a de maior freqüência foi *C. albicans* 56%, seguida por *C. tropicalis* 20%, *C. glabrata* 11%, *C. lusitaniae* 4%, *C. Krusei* 2%, *C. guilliermondii* 2% e *Trichosporon asahii* 3%.

Entre os fatores de risco para candidemia, a colonização prévia do trato urinário por *Candida* merece particular importância, já que sua prevalência em pacientes hospitalizados é cada vez mais alta, de 6,5 a 20%. Em pacientes em estado crítico, a morte associada com cultura positiva de urina para *Candida* é de 50% (ANG et al., 2003). Em um estudo prospectivo de pacientes com candidúria, constatou-se que somente sete (1,3%) de 530 evoluíram para candidemia, próximo aos valores obtidos em outro estudo prospectivo, que mostra que de 28 pacientes com candidúria, somente um (3,6%) evoluiu para candidemia (ANG et al., 1993; Kauffman et al., 2000).

Entre as infecções invasivas causadas pelo gênero *Candida*, vale salientar a relevância clínica dos casos de infecção de corrente sanguínea, complicação esta conhecida como candidemia ou candidíase hematogênica. Na verdade, o termo candidíase hematogênica engloba um espectro amplo de situações clínicas, incluindo desde episódios isolados de candidemia até casos onde o fungo presente na corrente sanguínea dissemina-se para um ou vários órgãos do hospedeiro infectado (Colombo, 2000, Matsumoto et al., 2001).

Acredita-se que a maioria dos casos de candidemia seja adquirida por via endógena, pela translocação do patógeno através do trato gastrointestinal, local onde há rica colonização por *Candida* spp em até 70% da população normal. A maior parte das candidemias é precedida pelo evento colonização pela mesma espécie de levedura, que é considerado um fator de risco independente para o seu desenvolvimento. Métodos de genotipagem mostram a similaridade entre cepas colonizantes e infectantes, comprovando a provável origem endógena da maioria das infecções por tais patógenos (Cole, 1996; Nucci, 2001)

Infecções hematogênicas por *Candida* spp também podem ser adquiridas por via exógena, através do contato das mãos de profissionais de saúde, com pacientes portadores de cateteres vasculares em posição central, implante de próteses contaminadas, bem como pela administração parenteral de soluções contaminadas (Wenzel, 1995; Pfaller, 1996)

Estudos sobre candidemia, demonstram que a mortalidade é de 50 a 60% das infecções nosocomiais que tem a candida como infecção primária da corrente sanguínea (Karabinis, 1988; Wey, 1988; Bross, 1989; Komshian 1989; Banerjee, 1991).

No Brasil, Colombo et al, 1999 e 2000 conduziram estudo para identificar as características epidemiológicas de pacientes que desenvolvem candidemia em hospitais brasileiros. Neste estudo, durante um período de 22 meses, todos os episódios de candidemia ocorridos em seis hospitais universitários do Rio de Janeiro e São Paulo foram sistematicamente estudados, reunindo casuística de 145 episódios de fungemia. A distribuição de sexo foi semelhante nesta casuística sendo a média e mediana de idade dos pacientes 32 e 34,3 anos, respectivamente. O tempo decorrido entre a internação e a primeira cultura de sangue positiva para *Candida* spp foi de 14 dias. Os dados obtidos neste estudo demonstram que, em nosso meio, candidemia também é uma complicação infecciosa encontrada em pacientes portadores de diferentes doenças degenerativas ou neoplásicas, internados por períodos prolongados e submetidos a procedimentos invasivos, antibióticos de amplo espectro e quimioterápicos.

Matsumoto et al., 2001, observou a frequência das leveduras isoladas de sangue e cateter, sendo que a espécie mais frequente foram *C. parapsilosis*, com 32,2% e 42,9% respectivamente, e em segundo lugar, *C. albicans*, com 16,9% e 28,6%, respectivamente.

Em relação aos aspectos epidemiológicos, a identificação de leveduras em nível de espécie é etapa fundamental para a monitorização das taxas de infecção hospitalar bem como para identificação precoce de surtos de infecções por *Candida*. (Colombo et al., 2003; Ruiz et al., 2005)

Pedroso 2005, relata que 1,8% das admissões entre 1993 a 2004, evoluíram para casos de candidíase sistêmica no hospital da criança da FM/USP; a mortalidade foi de 33,3% estando associada à pneumonia e plaquetopenia.

Em estudo sobre a frequência de leveduras isoladas de diferentes produtos biológicos de pacientes de hospitais da Cidade do México no período de um ano, foram isoladas: *C. albicans* 72.3% dos pacientes, seguido de *C. glabrata* 13.4% e *C. parapsilosis* 8%. (Manzano-Gayosso, 2000)

Miranda 2003, comparando a distribuição de espécies de *Candida* relacionadas a fungemias e outras fontes, em quatro hospitais do Estado de São Paulo, das 40 leveduras identificadas, *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* foram isoladas, respectivamente, em 35 %, 50 % e 15 %, revelando uma tendência de ser maior a frequência de espécies não-*albicans*

## 1.2. *Candida* e Candidíase

O gênero *Candida* é classificado como fungo imperfeito, subdivisão Deuteromycotina, classe Blastomycetes, ordem Cryptococcales e família Cryptococcaceae (Lacaz, 2002). Neste gênero temos mais de 150 espécies das quais somente uma dezena são causadoras de infecções no homem, e delas, três ou quatro espécies ocasionam mais de 90% das micoses (Kurtzman e Fell, 1998).

As leveduras do gênero *Candida* possuem distribuição universal podendo ser encontradas em homens ou animais, solos, água, vegetais, alimentos e em diversos ambientes, inclusive hospitalares (Komshiam *et al.*, 1989; Paula *et al.*, 1990; Lacaz *et al.*, 1991; Branchini *et al.*, 1995; Odds, 1998; Paula et al 1999; Matsumoto *et al.*, 2001).

As leveduras do gênero *Candida* caracterizam-se por serem seres unicelulares, eucarióticas, heterotrófica, tendo como substância de reserva o glicogênio. A reprodução do gênero *Candida* normalmente é por brotamento unipolar. Algumas espécies têm a propriedade de formar estruturas filamentosas, como hifas e pseudo-hifas, sendo esta característica um obstáculo à fagocitose, principal mecanismo de defesa contra as infecções. Em infecções graves, com grande quantidade de leveduras e alta carga antigênica, pode haver depressão da imunidade celular, ocorrendo assim, a infecção. (Lacaz et al, 2002).

Somente as leveduras capazes de crescer a 37° C são potencialmente patogênicas para o homem, tornando-se de grande importância pela alta frequência com que colonizam e infectam o hospedeiro humano. Espécies de *Candida* são encontradas no trato gastrointestinal em 20 a 80% da população adulta saudável. Entre as mulheres cerca de 20 a 30% apresentam colonização vaginal por *Candida*. Estes microrganismos comensais tornam-se patogênicos quando ocorrem alterações nos mecanismos de defesa

do hospedeiro ou quando ocorre comprometimento de barreiras anatômicas, tais como queimaduras ou procedimentos médicos invasivos (Dignani et al, 2003)

Nos últimos anos, houve um aumento de infecções invasivas por espécies não albicans (Ruiz et al, 2005). Em 1963, eram conhecidas apenas cinco espécies de *Candida* causadora de doenças em humanos, incluindo *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. Krusei*, *C. guilliermondii*, e *C. parapsilosis*. Atualmente, são conhecidas cerca de dezessete espécies de interesse clínico: *C.albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. kefir*, *C. rugosa*, *C. lusitaniae* e *C. dubliniensis* (Gludlaugsson et al, 2003).

Diniz, 2003; isolou *Candida guilliermondii* em 52% das amostras positivas em ambientes, dos isolados de mãos, mucosa oral e nasal de profissionais de saúde. A maior incidência foi de *Candida albicans* em 23% dos casos positivos.

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

A mortalidade atribuída à infecção por *Candida* é muito difícil de se averiguar, porque a infecção tende a ocorrer em várias doenças do paciente. Vários estudos estimam a atribuição da mortalidade em 38% (Wey, 1988) porém, as taxas podem variar de 50 a 60% (Karabinis, 1988; Wey,1988; Bross, 1989; Komshian, 1989). Outras evidências da agressividade natural da invasão das infecções por *Candida* é de grande proporção de pacientes diagnosticados com candidemia cuja a causa da morte são atribuídas a *Candida spp.*(Wey, 1988; Fraser, 1992; Lecciones, 1992).

Evidências mostram que a candidemia está associada com um alto índice de mortalidade (Fraser, 1992). Em pacientes com candidemia associada com cateter, a remoção do cateter deve ser realizada como parte do tratamento (Paula et al 1999)

Numerosos relatos são documentados com o aumento da incidência de *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae*, *C. tropicalis* e *C. glabrata* em pacientes hospitalizados (Fraser, 1992, Sanchez 1992, Weems, 1992; Borg-von Zepelin, 1993, Sanchez, 1993, Peacock, 1994,). Porém, pouco se sabe sobre a epidemiologia destas infecções, embora evidências indicam infecções exógenas ou infecção cruzada, muito comum em pacientes hospitalizados (Sanchez, 1992; Sanchez, 1993). Um estudo das mãos de profissionais de saúde foram relatadas como reservatórios de *Candida spp*, sendo 85% dos isolados de espécie não *albicans*.

*C. parapsilosis* aparece proliferando em altas concentrações de glicose, e adere a materiais produzindo biofilme. Esta associada a quadros de septicemia, a isolados de mãos de profissionais de saúde e em pacientes alimentados com nutrição parenteral (Solomon, 1984, Horn 1985, McCray, 1986; Solomon, 1986, Weems, 1987, Weems,1992, Branchini,1994, Pfaller, 1994a, Pfaller, 1994b).

A infecção por *C. tropicalis* parece similar a de *C. albicans*, aparece em pacientes recebendo nutrição parenteral, em mãos de profissionais da saúde e no ambiente; suspeita-se de infecção cruzada (Komshian, 1989; Finkelstein, 1993).

*C krusei* aparentemente ocorre através de infecção cruzada do trato gastrointestinal e em pacientes imunocomprometidos (Wingard,1991).

A formação e a estrutura do biofilme de *Candida* é influenciado pela superfície de contato, fatores ambientais, morfologia e a espécie envolvida. Completamente formado o biofilme de *Candida* tem uma mistura de fases morfológicas e consiste de uma densa rede de leveduras, hifas e pseudo-hifas em uma matriz de polissacarídeos, carboidratos, proteínas e outros componentes.(Hawser, 1994; Chandra, 2001).

### 1.3. Fatores Relacionados à virulência - exoenzimas

#### 1.3.1. Proteinase

Entre os fatores relacionados a virulência de leveduras do gênero *Candida*, as enzimas com atividade proteolítica tem atraído a atenção de muitos pesquisadores desde a comprovação da sua produção pela primeira vez por Staib em 1965.

A purificação dessa enzima permitiu classificá-la como uma aspartil proteinase (Sap) de peso molecular entre 42 e 45 Kda, cuja atividade se dá em pH ácido (2,0 a 4,0) e que possui uma ação de substrato bastante ampla, incluindo queratina, colágeno, albumina, hemoglobina, cadeia pesada de imunoglobulinas e proteínas de matriz extracelular (Rüchel *et al.*, 1982). As proteinases podem ser estudadas em meios de cultivo contendo albumina bovina como única fonte de nitrogênio, verificando-se apenas diferenças quantitativas entre as espécies do gênero *Candida*. Atualmente, foram seqüenciados 10 genes (Sap1 – 10) que codificam a produção desta enzima (Hube e Naglik, 2001).

Estudos evidenciaram que as Saps são realmente produzidas “in vivo”, uma vez que a secreção da proteinase foi detectada através da técnica de imunofluorescência em tecidos de hospedeiros infectados, e elevados títulos de anticorpos anti-Sap foram encontrados em pacientes com candidíase disseminada (Rüchel *et al.*, 1983, 1988, Ray *et al.*, 1988).

Vários trabalhos documentaram a correlação entre os níveis de secreção de Sap e a virulência de diferentes cepas (Rüchel, 1983, 1992).

### 1.3.2. Fosfolipases

As fosfolipases têm sido encontradas em muitos fungos e isto sugeriu que elas desempenham papel na patogenicidade dos mesmos. A atividade da fosfolipase foi primeiro demonstrada em *C. albicans* por Costa *et al.* (1968). Subseqüentemente, Price; Cawson (1977) demonstraram a presença da atividade de fosfolipase A e lisofosfolipases em fragmentos celulares de *C. albicans*.

São enzimas hidrolíticas capazes de degradar fosfolipídeos. A atividade lipolítica dessas enzimas de *C. albicans* foi estudada principalmente com a fosfolipase A, e lisofosfolipase, que agem em condições de pH ácido (3,6 a 4,7) estando a produção inversamente correlacionada com a concentração de galactose ou glicose no meio (Samaranayake *et al.*, 1984).

Price *et al*(1982), desenvolveram uma técnica usando gema de ovo (contém grandes quantidades de fosfolipídios e fosfatidioetanolamina).

### 1.3.3. Lípase

As Lípases são características por sua habilidade para catalisar e hidrolisar fosfolipídios. Werner, 1966 detectou a atividade extracelular da lípase de espécies patogênicas de *Candida*. Sheridan e Ratledge 1996, observaram que *Candida albicans* possui um crescimento viável em meio contendo triolein como única fonte de carbono, sugerindo existência de enzimas lipolíticas.

Schaller 2005, descreve que devido a grande flexibilidade dos testes in vitro de lípase, possivelmente é refletido in vivo da atividade lipolítica, o que contribui para a persistência e virulência de *Candida albicans* em tecidos humanos

### 1.3.4. Hemolisinas

Espécies de *Candida* possuem a habilidade de produzir uma variedade de enzimas hidrolíticas, como as proteinases, lípases e fosfolipases (Odds 1988, Samaranayake 1990, Cutler 1991). Estas enzimas merecem atenção, particularmente por facilitar a invasão da hifa especialmente na disseminação (Fallon 1997). Pouco se sabe sobre a atividade hemolítica exibida por diferentes espécies de *Candida*. Em estudo Luo 2001, propõe uma técnica in vitro para o teste de hemolisinas no qual ele conseguiu diferenciar as espécies de acordo com seu tipo de hemólise. O teste foi realizado a partir de um meio de ágar Sabouraud-dextrose, suplementado com 3% de glicose e 7% de sangue de carneiro, incubado após semeadura a temperatura de 37°C, por 48 horas, sob concentração atmosférica de 5% de CO<sub>2</sub> ; obtendo resultado de β hemólise (hemólise total) para *Candida albicans*, *C. dubliniensis*, *C. kefir*, *C. krusei*, *C. zeylanoides*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. lusitaniae* e α hemólise (hemólise parcial) para *C. famata*, *C. guilliermondii*, *C. rugosa*, *C. parapsilosis* e *C. pelliculosa*.

## 1.4. Resistência aos antifúngicos

As cepas de leveduras isoladas de pacientes hospitalizados podem fazer parte da microbiota normal, colonizando especialmente pele e trato gastrointestinal. Nessa situação, as leveduras podem ficar expostas por períodos prolongados aos antifúngicos

sistêmicos em geral, pertencentes às classes dos azóis, usados para profilaxia de infecções fúngicas graves. Pacientes submetidos à grandes cirurgias ou transplantes de órgãos, podem ser alvo de profilaxia com fluconazol ou outros antifúngicos. Leveduras expostas de modo prolongado a baixas concentrações de antifúngicos podem levar a seleção de cepas resistentes a essas drogas (Vasquez et al, 1993). Trabalhos experimentais de exposição prévia de culturas de leveduras à concentrações de drogas sustentam esta hipótese (Calvet et al, 1997).

As amostras de leveduras resistentes em ambientes hospitalares podem representar um perigo em potencial para os pacientes debilitados que se internam em unidades onde há contaminação com essas cepas. A transmissão horizontal, de paciente para paciente ou médico a paciente pode ocorrer, bem como infecção endógena e faz-se necessário a monitoração espacial e temporal de tais cepas para controle de episódios e surtos de infecção hospitalar (Zhanel et al. 1997). Desse modo, a determinação do perfil de sensibilidade da cepa pode também ser usada como ferramenta de tipagem fenotípica (Dromer et al. 1997).

Os principais grupos de antifúngicos com ação em *Candida* spp, de uso no Brasil, são os poliênicos, anfotericina, nistatina e os azólicos (imidazólicos e triazólicos). A anfotericina B tem sido considerada o mais efetivo, possui atividade fungicida de largo espectro tanto *in vivo* e *in vitro*, porém a sua formulação endovenosa tem seu uso limitado devido a alta toxicidade associada a disfunção renal (White et al. 1998).

A Anfotericina B é considerada droga de primeira escolha para o tratamento de candidíase sistêmica em crianças (Fratarelli, Pappas, 2004). Ele age na membrana celular do fungo, aumentando sua permeabilidade assim conduzindo a lise e morte celular. Não é absorvida por via oral, podendo ser administrada somente por via parenteral. Possui efeito nefrotóxico, hepatotóxico entre outros (Moreira, 2005b)

5-Fluorocitosina (5-FC) afeta o DNA do fungo e a síntese de proteína. A droga é absorvida pelo trato gastrointestinal. É utilizado em associação com anfotericina B, com efeito sinérgico, permitindo grande penetração no sistema nervoso central. Administrado por via oral, com restrição de uso a crianças muito prematuras, que freqüentemente não toleram drogas orais (Moreira, 2005b)

Fluconazol e Voriconazol são membros da família azóis, sendo o primeiro um composto triazólico, e o segundo um derivado sintético do primeiro. A ação dos azóis está na inibição da enzima responsável pela síntese de ergosterol na membrana celular do fungo. Pode ser administrado via oral ou intravenoso, sendo absorvido pelo trato gastrointestinal (Moreira, 2005b)

Muitos autores descrevem variações de sensibilidade de isolados clínicos de *Candida albicans* e espécies não *albicans*, dependendo de fatores como o uso profilático de antifúngicos, localização geográfica entre outros (Matsumoto,2001; Ruiz, 2005, Nawrot, 2005).

Matsumoto 2001, descreve que referente aos imidazólicos, *C. parapsilosis* mostrou ser bastante sensível ao cetoconazol (85,7%), ao itraconazol (92,8%) e ao fluconazol (64,3%), porém uma alta porcentagem das amostras de *C. albicans* e *C. tropicalis* se mostraram resistentes a essas drogas. Ruiz 2005, descreveu que *Candida tropicalis*, mostrou ser a espécie com maior porcentagem de resistência aos imidazólicos, e que espécies não-*albicans* apresentam altos índices de resistência ao fluconazol, concordando com Matsumoto,2001.

*Candida glabrata* e *Candida krusei* são espécies com alta resistência para os triazóis e sua importância tem aumentado, como causa de sérias infecções. Isolados *C. glabrata* provenientes de crianças apresentaram resistência ao Fluconazol 16% e das cepas isoladas de adultos 13% apresentaram resistência a este fármaco. *C. krusei* é uma espécie intrinsecamente resistente ao fluconazol (Pfaller, 1998).

Os testes de sensibilidade as drogas *in vitro* para fungos, fornecem informações valiosas quanto a pesquisa de novas substâncias, resistência aos antifúngicos de uso freqüente, controle terapêutico de infecções e caracterização de amostras fúngicas (Shadomy & Pfaller, 1991).

O método de difusão por disco é indicado pelo M44-P do NCCLS,2004 (atual CLSI), para o fluconazol, com a vantagem da simplicidade da técnica, sendo classificado em três categorias: sensível, intermediário e resistente de acordo com os dados do fabricante. (NCCLS,2004). Estudos apresentam bons resultados frente a

Nistatina (Moreira, 2005) e a outros antifúngicos como 5-fluorocitosina, Anfotericina B, Econazol, Miconazol, Cetoconazol e Itraconazol (Silva, 2005).

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo geral**

Levando em consideração a importância do gênero *Candida* como agente infeccioso, sua diversidade de padrões de atividade enzimática, a ocorrência de cepas resistentes aos principais agentes antifúngicos e a necessidade de descrever a cadeia epidemiológica da candidíase em infecção hospitalar, o objetivo deste projeto é avaliar leveduras do gênero *Candida* isoladas de crianças internadas em um Hospital Público Infantil do Estado de São Paulo.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Identificação de amostras de *Candida* spp isoladas de crianças hospitalizadas.
- Identificar e separar as amostras isoladas de casos comprovados de infecção hospitalar dos demais casos
- Pesquisar o perfil enzimático das amostras de leveduras (proteínases, fosfolipases, queratínase, lipase e hemolisina)
- Verificar o comportamento das amostras com relação aos antifúngicos Anfotericina B, Fluconazol, Itraconazol e 5-fluorocitosina
- Correlacionar os achados com dados dos pacientes

### **3. Material e Métodos**

#### **3.1. Hospital**

Hospital Infantil, localizado na Cidade de São Paulo, Estado de São Paulo, subordinado à Coordenadoria de Saúde da Região Metropolitana da Grande São Paulo – Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo, integrado ao sistema SUS. O hospital possui alta complexidade e 90 leitos, o que lhe confere, de acordo com Costa, 1998; o título de hospital terciário e de médio porte, respectivamente.

#### **3.2. Pacientes**

O hospital atende crianças de 0 a 18 anos, em todos os níveis de atendimentos, seus dados serão relatados em Tabela mantendo sigilo sobre a identidade e somente mencionando o número da amostra registrada no Laboratório de Leveduras Patogênicas; Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas – USP.

#### **3.3. Isolados**

Todos os casos isolados pelo laboratório clínico do hospital e enviados para identificação foram estudados.

As cepas dos pacientes foram enviadas pelo Hospital Infantil para Laboratório de Leveduras Patogênicas; Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas – USP, por meio do Laboratório do hospital. As leveduras isoladas de ponta de cateter venoso quando retirados de pacientes sem sinais clínicos de infecção também serão analisados para vigilância microbiológica. As leveduras isoladas destes cateteres serão semeadas por técnica de Maki et al. 1977, técnica de rolamento sobre placas contendo ágar sangue (DIFCO) e incubadas a 35 °C por 72 horas.

#### **3.4. Manutenção, Cultivo e identificação**

Identificação: As cepas serão triadas com o auxílio do meio Chromagar Candida (Microbiology) e a partir de sua separação, será realizada a identificação através da análise das características macro e micromofológicas, reprodutivas e fisiológicas

(Kreger-van, 1984; Kurtzman & Fell, 1998), procedendo-se de acordo com o protocolo (ANEX - 01), utilizado para a identificação de leveduras do Laboratório Leveduras Patogênicas do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas – USP, SP.

Cultivo: Após receber as amostras no laboratório, estas serão centrifugadas por 10 minutos em baixa rotação, o sobrenadante será desprezado e o sedimento será semeado em ágar Sabouraud-dextrose com cloranfenicol (Odds, 1988).

### 3.5. Pesquisa de exoenzimas

#### 4.5.1. Proteinase

As cepas foram semeadas em meio ágar albumina, para pesquisa de proteinase incubadas a 37°C por quatro dias. A atividade enzimática será caracterizada pela presença de halo opaco de degradação da proteína ao redor da colônia no meio ágar albumina. Será utilizada como cepa padrão a *C. albicans* (ICB-12 A: *Candida albicans* – A. Proveniente: The London Scholl of Hyg & Tropic Méd., no. 3153, junho de 1970, FM 464 ) como controle positivo. A atividade enzimática será mensurada utilizando a razão entre o diâmetro da colônia e o mesmo somado a zona de precipitação (Price et al., 1982).

#### 4.5.2. Fosfolipase

Para pesquisa de fosfolipase as amostras foram incubadas a 37°C por quatro dias. A atividade enzimática será caracterizada pela presença por uma zona opaca de precipitação ao redor da colônia para o meio ágar fosfolipase. Foi utilizada como cepa padrão a *C. albicans* (ICB-12 A: *Candida albicans* – A. Proveniente: The London Scholl of Hyg & Tropic Méd., no. 3153, junho de 1970, FM 464 ) como controle positivo. A atividade enzimática será mensurada utilizando a razão entre o diâmetro da colônia e o mesmo somado a zona de precipitação (Price et al., 1982).

#### 4.5.3. Lípase

A atividade de lípase foi detectada em meio para detecção de lípase (MUHSIN, 1997) contendo Tween 20 e CaCl<sub>2</sub>, será considerado positivo a visualização de um halo de precipitação ao redor da colônia.

#### 4.5.4. Hemolisina

A hemolisina foi testada segunda técnica descrita por (Luo, 2001). As cepas foram semeadas em ágar sabouraud dextrose, suplementado com 3% de glicose e 7% de sangue de carneiro, incubado após semeadura a temperatura de 37°C, por 48 horas.

#### 3.6. **Teste de sensibilidade aos antifúngicos - Método de difusão em Placa - (Discos)**

Os testes serão realizados de acordo com o documento M 44-P de 2003, da NCCLS (CLSI). As leveduras foram previamente cultivadas em ágar Sabouraud-dextrose (Difco) por 24 horas a 37°C. A partir desses repiques foram feitas suspensões em salina estéril de acordo com a escala 0,5 de McFarland. O inóculo será espalhado com auxílio de “swab” estéril, sobre a superfície do ágar Mueller Hinton (Difco), suplementado com 2% de glicose e 0,5 µg/mL de azul de metileno. Utilizaremos os discos: Anfotericina B, Fluconazol, Itraconazol e 5-fluorocitosina e avaliaremos a sensibilidade após a incubação das placas semeadas e com os discos de antifúngicos, após 24 horas de incubação a 37°C.

#### 3.7. **Dados dos Pacientes**

Serão analisados e correlacionados os dados dos pacientes que constam da ficha de coleta de dados. Serão acessados por análise do prontuário médico em pesquisa direta no Serviço de Arquivo Médico (SAME) e estarão sujeitos a disponibilidade dos prontuários

#### 3.8. **Análise estatística**

Será utilizado o programa InStat Graphic Pad e os testes de Fisher, T de *student* e coeficiente de correlação de Yule.

## 4. Resultados

### 4.1. Análise fenotípica das amostras isoladas.

Os dados brutos obtidos estão dispostos no ANEXO-2

#### 4.1.1. Amostras isoladas

Foram isoladas 132 amostras de *Candida* spp no período de janeiro de 2005 a junho de 2007. A distribuição das espécies encontra-se na Tabela 1.

**Tabela 1.** Identificação de 132 amostras de *Candida* spp isoladas de Hospital Infantil de São Paulo durante o período de janeiro de 2005 a junho de 2007.

<b>Espécie</b>	<b>No.</b>	<b>%</b>
<i>Candida albicans</i>	82	62,12%
<i>Candida guilliermondii</i>	2	1,52%
<i>Candida krusei</i>	11	8,33%
<i>Candida lusitaniae</i>	2	1,52%
<i>Candida parapsilosis</i>	8	6,06%
<i>Candida glabrata</i>	10	7,58%
<i>Candida tropicalis</i>	17	12,88%
Total	132	100,00%

#### 4.1.2. Materiais clínicos enviados ao laboratório de Leveduras patogênicas.

As amostras foram isoladas a partir de diversos materiais clínicos que estão classificados na Tabela 2 segundo critérios do Hospital. A distribuição das espécies isoladas de acordo com o material clínico encontra-se na Tabela 3. Foi encontrado um predomínio de *Candida albicans* na urina e espécies não- *albicans* em hemocultura e cateter (Tabela 4; Figura 1)

**Tabela 2** Amostras clínicas onde ocorrerão isolamento de *Candida* sp. colhidas em Hospital infantil de São Paulo durante o período de janeiro de 2005 a junho de 2007.

<b>Material Clínico</b>	<b>No.</b>	<b>%</b>
Cateter	15	11,36%
Escarro	1	0,76%
fezes	1	0,76%
hemocultura	48	36,36%
Lavado bronco alveolar	1	0,76%
Líquido Cefalorraquidiano	1	0,76%
liquido pleural	1	0,76%
secreção ferida	1	0,76%
secreção gástrica	2	1,52%
Secreção indefinida	3	2,27%
secreção lingua	1	1,52%
secreção lombar	2	2,27%
secreção orofaringe	3	2,27%
secreção traqueal	3	2,27%
urina	49	37,12%
<b>Total</b>	<b>132</b>	

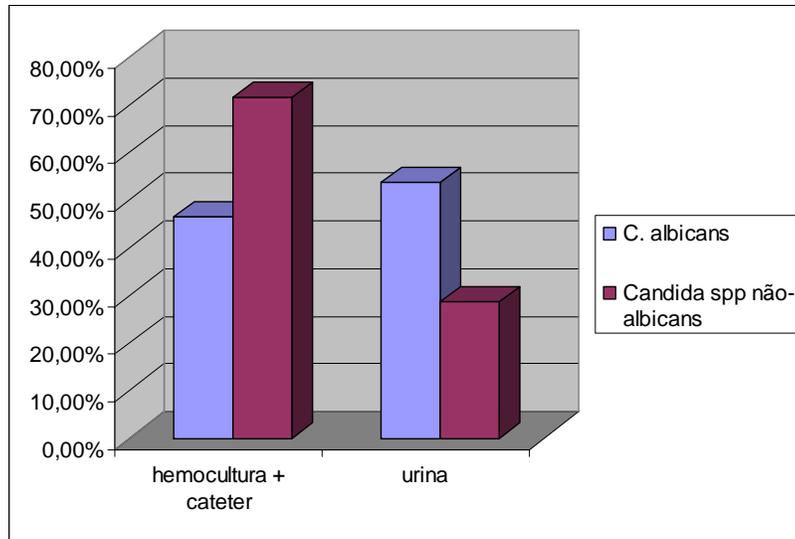
**Tabela 3** Espécies de *Candida* spp segundo amostras clínicas colhidas em Hospital infantil de São Paulo durante o período de janeiro de 2005 a junho de 2007.

Espécie	hemocultura	%	urina	%	cateter	%	outros	%	TOTAL
<i>Candida albicans</i> *	25	30,49%	37	45,12%	7	8,54%	13	15,85%	82
<i>Candida glabrata</i>	4	40,00%	4	40,00%	2	20,00%	0	0,00%	10
<i>Candida guilliermondii</i>	1	50,00%	0	0,00%	0	0,00%	1	50,00%	2
<i>Candida krusei</i> *	7	63,64%	1	9,09%	2	18,18%	1	9,09%	11
<i>Candida lusitanae</i>	0	0,00%	2	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	2
<i>Candida parapsilosis</i>	4	50,00%	2	25,00%	0	0,00%	2	25,00%	8
<i>Candida tropicalis</i>	6	35,29%	3	17,65%	4	23,53%	4	23,53%	17
<b>TOTAL</b>	<b>47</b>		<b>49</b>		<b>15</b>		<b>21</b>		<b>132</b>

\* diferença significativa para  $p < 0,05$ .

**Tabela 4** Isolados de *Candida albicans* e *Candida* spp segundo amostras clínicas colhidas em Hospital infantil de São Paulo durante o período de janeiro de 2005 a junho de 2007.

Espécie	hemocultura + cateter	urina
<i>C. albicans</i>	46,38%	53,62%
<i>Candida</i> spp não- <i>albicans</i>	71,43%	28,57%



**Figura 1:** Isolados de *Candida albicans* e *Candida* spp segundo amostras clínicas colhidas em Hospital infantil de São Paulo durante o período de janeiro de 2005 a junho de 2007.

### 4.1.3. Atividade enzimática

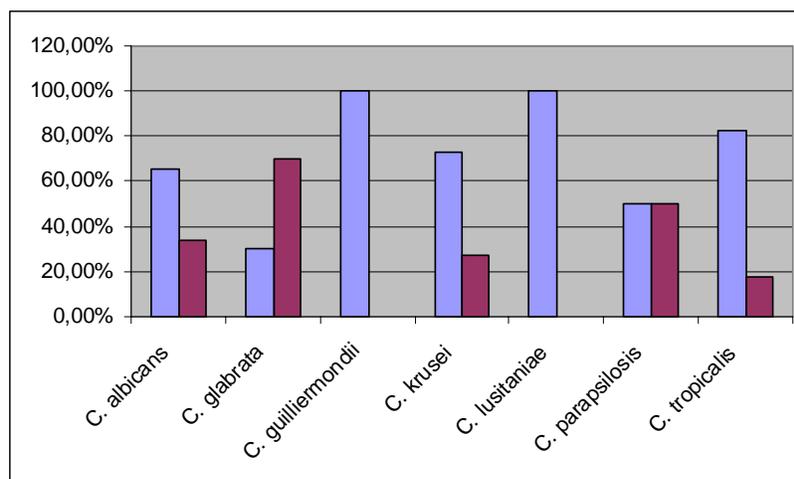
#### 4.1.3.1. Atividade Hemolítica

A atividade hemolítica das 132 amostras isoladas estão expressas na Tabela 5 e Figura 2. Observou-se que *Candida glabrata* tem atividade hemolítica inferior a *C. albicans* e *C. tropicalis* estatisticamente significativa para  $p < 0,05$ . A figura 3 mostra placa com amostras positivas e negativas.

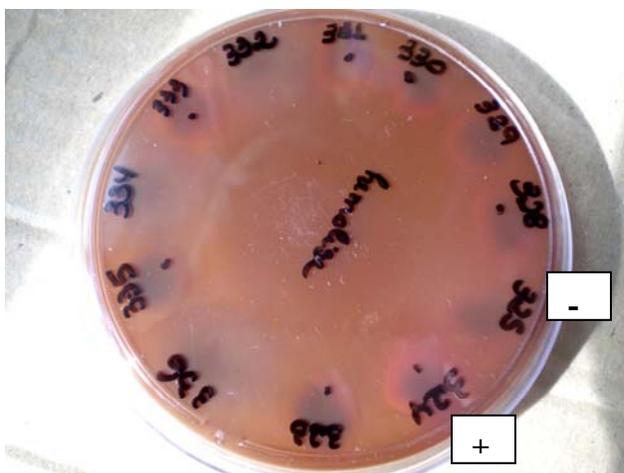
**Tabela 5** Atividade hemolítica de espécies de *Candida* sp colhidas em Hospital infantil de São Paulo durante o período de janeiro de 2005 a junho de 2007

Espécie	hemólise +	hemólise -	Total
<i>Candida albicans</i> *	54	65,85%	82
<i>Candida glabrata</i> * **	3	30,00%	10
<i>Candida guilliermondii</i>	2	100,00%	2
<i>Candida krusei</i>	8	72,73%	11
<i>Candida lusitanae</i>	2	100,00%	2
<i>Candida parapsilosis</i>	4	50,00%	8
<i>Candida tropicalis</i> **	14	82,35%	17
<b>TOTAL</b>	<b>87</b>	<b>65,91%</b>	<b>132</b>

\* estatisticamente significativo para  $p < 0,05$ .



**Figura 2** Atividade hemolítica de espécies de *Candida* sp colhidas em Hospital infantil de São Paulo durante o período de janeiro de 2005 a junho de 2007.



**Figura 3** Atividade hemolítica de espécies de *Candida* sp colhidas em Hospital infantil de São Paulo durante o período de janeiro de 2005 a junho de 2007. Amostra 325 positiva e 324 negativa.

#### 4.1.3.2. Atividade de fosfolipase

Os resultados da atividade de fosfolipase estão dispostos na tabela 6. *Candida albicans* apresentou uma maior atividade desta enzima que *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* sendo este resultado significativo do ponto de vista estatístico para  $p < 0,05$ .

**Tabela 6.** Atividade da fosfolipase de espécies de *Candida* sp colhidas em Hospital infantil de São Paulo durante o período de janeiro de 2005 a junho de 2007.

Espécie	fosfo +		fosfo -		Total
<i>Candida albicans</i> * ** ***					
****	59	71,95%	23	28,05%	82
<i>Candida glabrata</i> *	1	10,00%	9	90,00%	10
<i>Candida guilliermondii</i>	0	0,00%	2	100,00%	2
<i>Candida krusei</i> **	1	9,09%	10	90,91%	11
<i>Candida lusitanae</i>	0	0,00%	2	100,00%	2
<i>Candida parapsilosis</i> ***	1	12,50%	7	87,50%	8
<i>Candida tropicalis</i> ****	1	5,88%	16	94,12%	17
<b>TOTAL</b>	<b>63</b>	<b>47,73%</b>	<b>69</b>	<b>52,27%</b>	<b>132</b>

\*, \*\*, \*\*\*, \*\*\*\* significativo para  $p < 0,05$

## 4.1.3.3. Atividade de proteinase

Os resultados da atividade de proteinase estão dispostos na tabela 7, *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. lusitaniae* apresentaram uma maior atividade desta enzima em relação a *C. glabrata*, tendo este resultado diferença estatística significativa para  $p < 0,05$ . A figura 4 mostra placa com o teste de proteinase, evidenciando amostras positivas e negativas.

**Tabela 7.** Atividade da proteinase de espécies de *Candida* sp colhidas em Hospital infantil de São Paulo durante o período de janeiro de 2005 a junho de 2007.

<b>Espécie</b>	<b>proteinase +</b>		<b>proteinase -</b>		<b>Total</b>
<i>Candida albicans</i> *	60	73,17%	22	26,83%	82
<i>Candida glabrata</i> * ** *** **** *****	1	10,00%	9	90,00%	10
<i>Candida guilliermondii</i>	1	50,00%	1	50,00%	2
<i>Candida krusei</i> **	9	81,82%	2	18,18%	11
<i>Candida lusitaniae</i> ***	2	100,00%	0	0,00%	2
<i>Candida parapsilosis</i> ****	6	75,00%	2	25,00%	8
<i>Candida tropicalis</i> *****	12	70,59%	5	29,41%	17
<b>TOTAL</b>	<b>91</b>	<b>68,94%</b>	<b>41</b>	<b>31,06%</b>	<b>132</b>

\*, \*\*, \*\*\*, \*\*\*\*, \*\*\*\*\* significativo para  $p < 0,05$

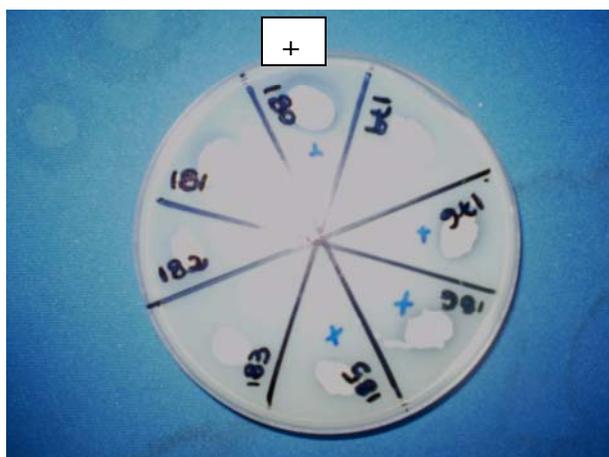


Figura 4 - Atividade proteolítica de espécies de *Candida* sp colhidas em Hospital infantil de São Paulo durante o período de janeiro de 2005 a junho de 2007.

#### 4.1.3.4. Atividade de lípase

Os resultados da atividade de lípase estão dispostos na tabela 8. *Candida albicans*, apresentou uma maior atividade desta enzima que *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. lusitaniae*, e *C. tropicalis* apresentou uma maior atividade desta enzima em relação a *C. krusei*, *C. parapsilosis*, tendo estes resultado diferença estatística significativa para  $p < 0,05$ . A figura 5 mostra detalhe da prova positiva.

**Tabela 8.** Atividade da lípase de espécies de *Candida* sp colhidas em Hospital infantil de São Paulo durante o período de janeiro de 2005 a junho de 2007.

Espécie	lip +		lip -		Total
<i>Candida albicans</i> * * * * * * * * *					
*****	70	85,37%	12	14,63%	82
<i>Candida glabrata</i> *	3	30,00%	7	70,00%	10
<i>Candida guilliermondii</i>	1	50,00%	1	50,00%	2
<i>Candida krusei</i> ** +	1	9,09%	10	90,91%	11
<i>Candida lusitaniae</i> ***	0	0,00%	2	100,00%	2
<i>Candida parapsilosis</i> **** ++	1	12,50%	7	87,50%	8
<i>Candida tropicalis</i> ***** + ++	10	58,82%	7	41,18%	17
<b>TOTAL</b>	<b>86</b>	<b>65,15%</b>	<b>46</b>	<b>34,85%</b>	<b>132</b>

\*, \*\*, \*\*\*, \*\*\*\*, \*\*\*\*\* , + , ++ significativo para  $p < 0,05$

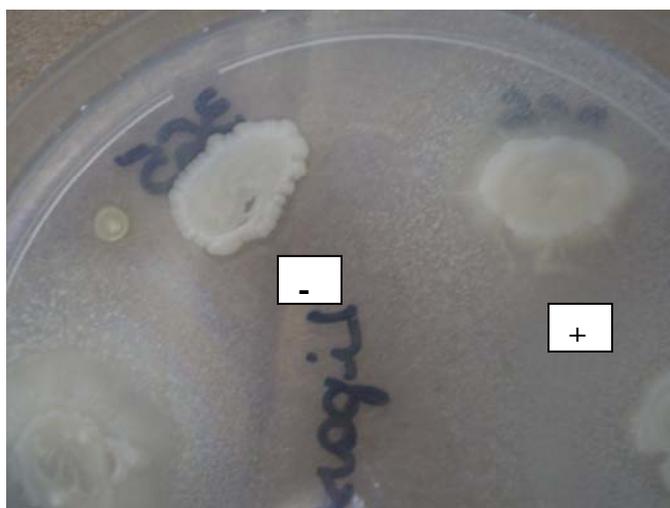


Figura 5 –Placa de petri com meio para detecção de atividade de lípase. Detalhe de amostra positivo evidenciado pelo precipitado.

#### 4.1.3.5. Correlação entre as atividades enzimáticas

Houve correlação positiva e significância estatística para  $p < 0,05$  entre a atividade das enzimas lípase e fosfolípase e proteinase (Tabela 9); não ocorrendo correlação entre a hemolisina e a atividade das demais enzimas

**Tabela 9:** Correlação entre as atividades enzimáticas de lípase, fosfolípase e proteinase.

	lipase +	Lipase -	Y
Fosfolipase +	45,45%	2,27%	0,94
Fosfolipase-	20,45%	31,82%	
	proteinase +	Proteinase -	Y
Fosfolipase +	38,64%	9,09%	0,51
Fosfolipase-	30,30%	21,97%	
	lipase +	Lipase -	Y
Proteinase +	53,03%	15,91%	0,65
Proteinase-	12,88%	18,18%	

Y – coeficiente de correlação de Yule

Dados estatisticamente significativos para  $p < 0,05$

#### 4.1.4. Antifungograma

##### 4.1.4.1. Anfotericina B

Os resultados da susceptibilidade a Anfotericina B estão dispostos na tabela 10. Das 132 amostras analisadas, 127 amostras apresentaram-se sensíveis a Anfotericina B

**Tabela 10:** Susceptibilidade da Anfotericina B em espécies de *Candida* colhidas em Hospital infantil de São Paulo durante o período de janeiro de 2005 a junho de 2007

Espécie	AB+	AB+	AB-	AB-	Total
<i>Candida albicans</i>	80	97,56%	2	2,44%	82
<i>Candida glabrata</i>	9	90,00%	1	10,00%	10
<i>Candida guilliermondii</i>	2	100,00%	0	0,00%	2
<i>Candida krusei</i>	11	100,00%	0	0,00%	11
<i>Candida lusitaniae</i>	2	100,00%	0	0,00%	2
<i>Candida parapsilosis</i>	8	100,00%	0	0,00%	8
<i>Candida tropicalis</i>	15	88,24%	2	11,76%	17
<b>TOTAL</b>	<b>127</b>	<b>96,21%</b>	<b>5</b>	<b>3,79%</b>	132

##### 4.1.4.2. 5-Fluorcitosina

Os resultados da susceptibilidade a 5-Fluocitosina estão dispostos na tabela 11. Das 132 amostras analisadas 100 amostras apresentaram-se resistentes a 5-Fluocitosina. Amostras de *Candida glabrata* mostraram-se mais sensíveis a 5-Fluocitosina em relação a *C. albicans* e *C. tropicalis* e estas diferenças apresentam significância estatística ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 11:** susceptibilidade da 5-Fluocitosina em espécies de *Candida* colhidas em Hospital infantil de São Paulo durante o período de janeiro de 2005 a junho de 2007

Espécie	5FC+	5FC+	5FC-	5FC-	Total
<i>Candida albicans</i> *	19	23,17%	63	76,83%	82
<i>Candida glabrata</i> * **	6	60,00%	4	40,00%	10
<i>Candida guilliermondii</i>	2	100,00%	0	0,00%	2
<i>Candida krusei</i>	0	0,00%	11	100,00%	11
<i>Candida lusitaniae</i>	0	0,00%	2	100,00%	2
<i>Candida parapsilosis</i>	2	25,00%	6	75,00%	8
<i>Candida tropicalis</i> **	3	17,65%	14	82,35%	17
<b>TOTAL</b>	<b>32</b>	<b>24,24%</b>	<b>100</b>	<b>75,76%</b>	132

\*, \*\*, significativo para  $p < 0,05$

#### 4.1.4.3. Itraconazol

Os resultados da susceptibilidade ao Itraconazol estão dispostos na tabela 12. Amostras de *Candida glabrata* mostraram-se mais resistentes ao Itraconazol em relação a *C. albicans* e *C. parapsilosis* e estas diferenças apresentam significância estatística ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 12:** susceptibilidade do Itraconazol em espécies de *Candida* colhidas em Hospital infantil de São Paulo durante o período de janeiro de 2005 a junho de 2007

Espécie	ICZ+		ICZ-		Total
<i>Candida albicans</i> *	61	74,39%	21	25,61%	82
<i>Candida glabrata</i> * **	3	30,00%	7	70,00%	10
<i>Candida guilliermondii</i>	1	50,00%	1	50,00%	2
<i>Candida krusei</i>	6	54,55%	5	45,45%	11
<i>Candida lusitanae</i>	0	0,00%	2	100,00%	2
<i>Candida parapsilosis</i> **	7	87,50%	1	12,50%	8
<i>Candida tropicalis</i>	10	58,82%	7	41,18%	17
<b>TOTAL</b>	<b>88</b>	<b>66,67%</b>	<b>44</b>	<b>33,33%</b>	132

\*, \*\*, significativo para  $p < 0,05$

#### 4.1.4.4. Fluconazol

Os resultados da susceptibilidade ao Fluconazol estão dispostos na tabela 13. Das 132 amostras analisadas 100 amostras apresentaram-se sensíveis ao Fluconazol e as amostras de *Candida glabrata* mostraram-se mais resistentes ao Fluconazol em relação a *C. albicans* e *C. tropicalis* e estas diferenças apresentam significância estatística ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 13:** susceptibilidade do Fluconazol em espécies de *Candida* colhidas em Hospital infantil de São Paulo durante o período de janeiro de 2005 a junho de 2007

<b>Espécie</b>	<b>FLUCO+</b>		<b>FLUCO-</b>		<b>Total</b>
<i>Candida albicans</i> *	69	84,15%	13	15,85%	82
<i>Candida glabrata</i> * **	2	20,00%	8	80,00%	10
<i>Candida guilliermondii</i>	2	100,00%	0	0,00%	2
<i>Candida krusei</i>	6	54,55%	5	45,45%	11
<i>Candida lusitaniae</i>	2	100,00%	0	0,00%	2
<i>Candida parapsilosis</i>	7	87,50%	1	12,50%	8
<i>Candida tropicalis</i> **	12	70,59%	5	29,41%	17
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>	<b>75,76%</b>	<b>32</b>	<b>24,24%</b>	<b>132</b>

\*, \*\*, significativo para  $p < 0,05$

#### 4.1.4.5. Correlação entre susceptibilidade ao Fluconazol e Itraconazol

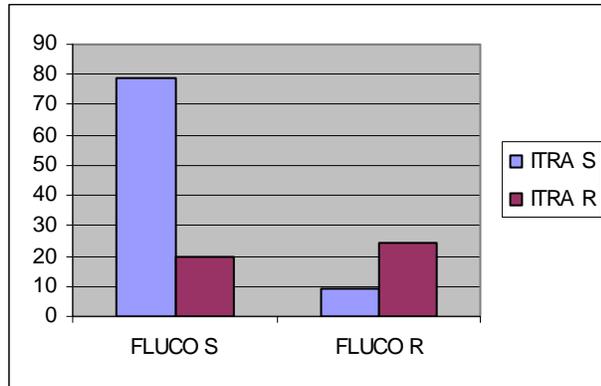
Houve correlação positiva e significância estatística ( $p < 0,05$ ) entre a susceptibilidade ao fluconazol e itraconazol, conforme pode ser observado na tabela 14 e figura 6.

**Tabela 14:** Correlação positiva entre a susceptibilidade de amostras de *Candida* spp ao Fluconazol e Itraconazol

	<b>ITRA S</b>	<b>ITRA R</b>	
<b>FLUCO S</b>	79	20	99
<b>FLUCO R</b>	9	24	33
<b>TOTAL</b>	<b>88</b>	<b>44</b>	<b>132</b>

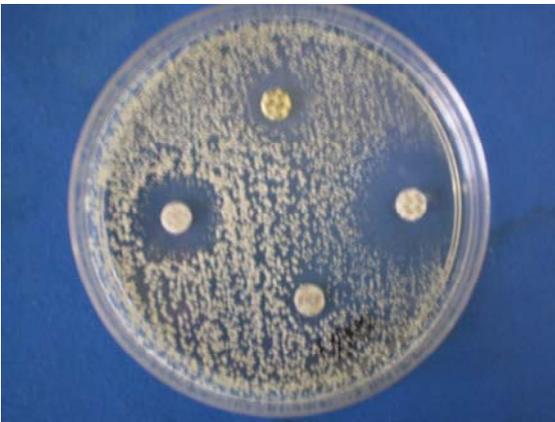
Coefficiente de Yule = 0,83

Dados com significado estatístico para  $p < 0,05$



**Figura 8:** Correlação positiva entre a susceptibilidade de amostras de *Candida* spp ao Fluconazol e Itraconazol

A figura 9 mostra teste de antifungigrama com discos de difusão.



**Figura 9:** Antifungigrama pelo método dos discos de difusão, mostrando áreas de inibição.

## 4.2. Análise das características clínicas e terapêuticas de pacientes com candidíase.

### 4.2.1. Casos estudados.

Das 132 amostras estudadas, foi possível acessar o prontuário de 71 casos devido a disponibilidade do SAME, onde classificamos 60 destes como casos comprovados de infecção hospitalar e 11 casos de infecção não hospitalar

### 4.2.2. Relação das espécies de *Candida*, Material clínico e perfil de susceptibilidade aos antifúngicos com o tipo de infecção.

Os resultado de ocorrência de espécies identificadas em relação ao material clínico estão dispostos nas tabelas 15, 16 e figura 10. Com relação a espécie de *Candida* e o material clínico, as amostras provenientes de urina apresentaram maior número de identificação de *Candida albicans*, enquanto que as amostras de hemocultura apresentaram maior número de identificação de *Candida Krusei*, sendo estes dados de significância estatística ( $p < 0,05$ ) (Tabela 15). Em relação à espécie em hemocultura/ cateter e urina, houve maior número de isolamentos de *C.albicans* em urina e *Candida spp*, não- *albicans* em hemocultura/ cateter sendo significativo estatisticamente ( $p < 0,05$ ) (Tabela 16 e figura 10).

Dos 71 casos analisados, 60 eram oriundos de infecção hospitalar, enquanto que 11 foram considerados casos não relacionados à hospitalar. Das amostras correlacionados a infecção hospitalar, quanto ao material clínico o sítio mais freqüente foi de hemocultura com 23 casos, enquanto que nos casos que não foram relacionados com infecção hospitalar o sítio mais freqüente foi em urina com 10 casos (Tabelas 17 e 18).

Em relação a espécie mais freqüente isolada, *C. albicans* foi isolada em 7 dos 11 casos não hospitalares e em 35 casos provenientes de infecção hospitalar (Tabela 19).

As 11 amostras não hospitalares apresentaram-se sensíveis à Anfotericina B e Fluconazol e das 60 amostras hospitalares, 57 apresentaram-se sensíveis a Anfotericina B (Tabela 20).

**Tabela 15:** Ocorrência de espécies de *Candida* em materiais clínicos

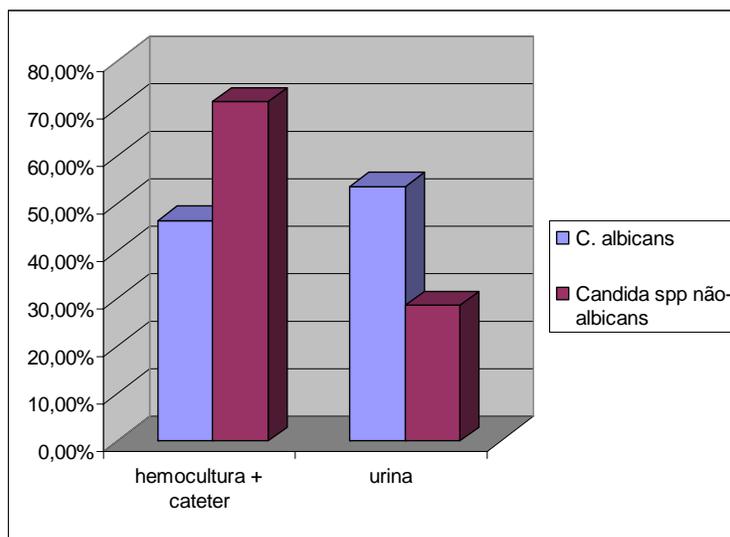
Espécie	hemocultura	%	urina	%	cateter	%	outros	%	TOTAL
<i>Candida albicans</i> *	25	30,49%	37	45,12%	7	8,54%	13	15,85%	82
<i>Candida glabrata</i>	4	40,00%	4	40,00%	2	20,00%	0	0,00%	10
<i>Candida guilliermondii</i>	1	50,00%	0	0,00%	0	0,00%	1	50,00%	2
<i>Candida krusei</i> *	7	63,64%	1	9,09%	2	18,18%	1	9,09%	11
<i>Candida lusitanae</i>	0	0,00%	2	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	2
<i>Candida parapsilosis</i>	4	50,00%	2	25,00%	0	0,00%	2	25,00%	8
<i>Candida tropicalis</i>	6	35,29%	3	17,65%	4	23,53%	4	23,53%	17

\* hemocultura, urina p&lt;0,05

**Tabela 16:** Ocorrência de espécies de *Candida albicans* e *Candida spp*, não *albicans* isoladas de hemocultura/cateter e urina

Espécie	hemocultura + cateter	%	urina	%	Total
<i>C. albicans</i>	32	46,38%	37	53,62%	<b>69</b>
<i>Candida spp não-albicans</i>	30	71,43%	12	28,57%	<b>42</b>
<b>total</b>	<b>62</b>		<b>49</b>		<b>111</b>

P&lt;0,05

**Figura 10:** Ocorrência de espécies de *Candida albicans* e *C. spp*, não *albicans* isoladas de hemocultura/cateter e urina

**Tabela 17** – Amostras de infecção hospitalar em relação ao sítio de isolamento

Materia Clínico	Número	%
Urina	19	31,67%
hemocultura	23	38,33%
Cateter	7	11,67%

**Tabela 18** – Amostras de infecção não hospitalar em relação ao sítio de isolamento

Materia Clínico	Número	%
Urina	10	90,91%
Secreção de Orofaringe	1	9,09%
TOTAL	11	

**Tabela 19** – Espécies identificadas de *Candida* spp em relação ao tipo de infecção.

Espécie	Não Hospitalar		Hospitalar	
	Número	%	Número	%
<i>Candida albicans</i>	7	63,64%	35	58,33%
<i>Candida tropicalis</i>	1	9,09%	11	18,33%
<i>Candida lusitaniae</i>	1	9,09%	0	0,00%
<i>Candida glabrata</i>	1	9,09%	5	8,33%
<i>Candida parapsilosis</i>	1	9,09%	4	6,67%
<i>Candida guilliermondii</i>	0	0,00%	1	1,67%
<i>Candida krusei</i>	0	0,00%	4	6,67%
TOTAL	11		60	

**Tabela 20** – Susceptibilidade de amostras de *Candida* spp em relação ao tipo de infecção de origem.

	Não Hospitalar				Total	Hospitalar				
	S	%	R	%		S	%	R	%	
Antifúngico										
Anfotericina B	11	100,00%	0	0,00%	11	57	95,00%	3	5,00%	60
5-Flucitosina	6	54,55%	5	45,45%	11	16	26,67%	44	73,33%	60
Itraconazol	8	72,73%	3	27,27%	11	39	65,00%	21	35,00%	60
Fluconazol*	11	100,00%	0	0,00%	11	41	68,33%	19	31,67%	60

S – sensível

R - resistente

#### 4.2.3. Dados de vigilância epidemiológica

Quanto a doença de base dos casos de infecção hospitalar, as mais encontradas foram: Leucemia Linfóide Aguda (LLA), Malformação Congênita, Neoplasias e doenças pulmonares, 17, 9, 6 e 5 casos respectivamente. E nas não hospitalares Diabetes Melitus foi a mais encontrada com 5 casos (Tabela 21 e 22).

A idade média dos pacientes com infecção não hospitalar foi de 85,09 meses e hospitalar de 49,29 meses (Tabela 23).

O tempo de internação das infecções relacionadas a infecção hospitalar foi de 67,2 dias e das infecções não relacionadas ao ambiente hospitalar 4,18 dias. Em relação a internações recorrentes das infecções relacionadas a infecção hospitalar 25 casos possuíam e não relacionadas ao ambiente hospitalar 6 casos. Dos portadores de doenças crônicas 8 eram pacientes sem infecção hospitalar e 34 hospitalar. (tabela 23).

Dos casos de origem hospitalar, 81,67% fez uso simultâneo de antibioticoterapia e 66,67% possuíam cateter venoso (tabela 23).

**Tabela 21** – Doenças de base de crianças com Candidíase de origem hospitalar

<b>Doença de Base</b>	<b>Número</b>	<b>%</b>
LLA	17	28,33%
Neoplasias	6	10,00%
Malformação congênita	9	15,00%
Lupus	3	5,00%
trauma de pancreas	3	5,00%
Doenças renais	3	5,00%
Doenças pulmonares	5	8,33%
Meningite	2	3,33%
Alergia	2	3,33%
outras causas	10	16,67%
<b>TOTAL</b>	<b>60</b>	

**Tabela 22** Doenças de base de crianças com Candidíase de origem não hospitalar

Doença de Base	Número	%
Diabetes Melitus	5	45,45%
Fibrose cística	1	9,09%
Síndrome nefrótica	1	9,09%
Puberdade antecipada	1	9,09%
meningite	1	9,09%
Asma	1	9,09%
Megaureter	1	9,09%
Total	11	

**Tabela 23** – Histórico dos casos hospitalares e não hospitalares

	Não Hospitalar		Hospitalar	
	Número	%	Número	%
Idade Média	85,09	-	49,29	-
Tempo Médio de Internação	4,18	-	67,2	-
Tempo médio de UTI	0	-	1,03	-
Internações recorrentes (No. Pacientes)	6	54,55%	25	41,67%
Portador de doença crônica	8	72,73%	34	56,67%
Outros microrganismos relatados	2	18,18%	23	38,33%
Utilização simultânea de ATB*	5	45,45%	49	81,67%
Uso de terapia antifúngica	4	36,36%	37	61,67%
Uso de Cateter venoso	0	0,00%	40	66,67%
Uso de sonda vesical	0	0,00%	15	25,00%
Uso de sonda nasogástrica	0	0,00%	10	16,67%
Ventilação mecânica	0	0,00%	16	26,67%
Nutrição parenteral	0	0,00%	7	11,67%
Total de pacientes	11	-	60	-

## 5. Discussão

No presente estudo, em sua primeira parte, foi analisado um total de 132 amostras de *Candida* spp provenientes de hospital infantil público de São Paulo/ SP, analisou-se também 71 casos de candidíase, sendo classificado como infecção hospitalar 60 e como não hospitalar 11.

*C.albicans* foi o isolado mais comum com 62,12% das amostras, seguido por *C. tropicalis* 12,88%, *C. krusei* 8,33%, *C. glabrata* 7,58%, *C. parapsilosis* 6,06%, *C. guilliermondii* 1,52% e *C. lusitaniae* 1,52%. O aumento da incidência de espécies não – *albicans* já vem sendo relatado por vários autores (Fraser *et al.* 1992, Sanchez *et al.* 1992, Weems *et al.* 1992), indicando o aumento de casos por *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*. Segundo Foongladda *et al.*, 2004, o aparecimento de candidíase disseminada por *Candida* –não *albicans* parece ser mais comum em crianças que em adultos, podendo chegar a quase 60% dos casos, neste experimento encontramos 37,88% de espécies não- *albicans* e 62,12% por *Candida albicans* mostrando ainda em nosso meio o predomínio desta espécie. Porém, fica claro que, quando analisamos somente casos de isolamento em sangue e cateter, ocorre o predomínio das espécies não-*albicans* com uma frequência de 71,43% mostrando a importância deste grupo em infecções hospitalares propriamente ditas. Quanto as amostras isoladas de candidúria, os dados concordam com Silva, 2005 que relatou 56% dos casos por *C. albicans* enquanto relatamos 53,62%. Deve-se ressaltar também o predomínio de *C. krusei* isoladas de sangue e a baixa frequência de *C. lusitaniae* que foi isolada em somente dois casos de infecção urinária.

Os fatores de virulência de *Candida* spp, têm atraído interesse como possível meio para o desenvolvimento de novas interações terapêuticas contra a candidíase. Tais fatores

incluem aderência, formação de tubo germinativo, proteinase, fosfolipase e hemólise (Morerira, 2005). Um dos fatores de virulência do gênero *Candida* mais estudados é a produção de exoenzimas que são relacionadas com a patogênese da candidíase (Hube *et al.*, 1996, 1998). Observamos que para proteinase, fosfolipase, lípase e hemolisina, as frequências de amostras produtoras foram 68,94%, 47,73%, 65,91% e 66,67% respectivamente.

A atividade enzimática de *C. albicans* varia entre 62,5% a 100% para proteinase, 50% a 100% para fosfolipase (Macdonald e Odds, 1983, Walther *et al.*, 1986). A literatura não relata dados sobre a produção de lípase. Mann *et al.* (1994) relata 96,3% de atividade hemolítica para *C. albicans* e 93% para as espécies não-*albicans*. Quando comparamos então a atividade enzimática por espécie, obtemos que *C. albicans* apresentou para proteinase, fosfolipase, lípase e hemolisina 73,17%, 71,95%, 85, 37% e 65,85% respectivamente o que concorda com os autores, ressaltando apenas a menor atividade hemolítica em comparação com o relato anterior. Em relação às espécies não-*albicans* chama a atenção a menor atividade proteolítica da *C. glabrata* em relação as demais espécies, a baixa atividade de fosfolipase das espécies não-*albicans*, a alta produção de lípase em *C. albicans* e *C. tropicalis* em relação as demais e a menor atividade hemolítica de *C. glabrata* em relação as outras espécies. Observou-se também uma correlação entre as atividades de lípase, fosfolipase e proteinase indicando que estas enzimas podem estar associadas em algumas espécies, porém a atividade hemolítica parece ser independente das demais enzimas. A variação da atividade enzimática entre as espécies de *Candida* necessitam ser avaliadas a luz de sua patogenicidade para comparar sua importância *in vivo*.

O arsenal terapêutico para o controle da candidíase inclui fluconazol convencional e lipossomal, anfotericina B convencional e lipossomal e as drogas recentemente introduzidas, a caspofungina e o voriconazol (Koch *et al.* 2005). O voriconazol e a caspofungina vem se tornando viável para o tratamento de micoses invasivas, porém com o custo ainda proibitivo para várias instituições e pacientes. O Fluconazol ainda é a droga de escolha para candidemia, o uso da anfotericina B sera limitada pela viabilidade de novas

drogas. Pelo seu alto custo, a forma ligada a lipídio da anfotericina B será utilizada somente em situações onde o paciente não tolera a forma convencional e em caso de falha na terapia (van 't Wout *et al.*, 2004), porém hoje estas últimas são ainda as drogas mais utilizadas.

Das 132 cepas estudadas, 97% foram sensíveis a Anfotericina B, onde encontramos casos de resistência somente em *C. albicans* (2,44%), *C. glabrata* (10%) e *C. tropicalis* (11, 76%). Giusiano *et al.*, 2006 descreve 100% de sensibilidade a este antifúngico, Pemán *et al.*, 2006, a partir de 290 casos identificou 91% de amostras sensíveis. Silva *et al.*, 2004, a partir de 130 pacientes com candidemia de origem hospitalar encontrou 100% de amostras sensíveis.

Em relação ao fluconazol, 75% das amostras se mostram sensíveis, sendo que *C. glabrata* apresentou sensibilidade somente em 20% das amostras. O fluconazol ainda é a droga de escolha em casos de candidemia exceto em casos de isolamento de *C. glabrata* e *C. krusei* (van 't Wout *et al.*, 2004) o que concorda com nossos resultados onde encontramos resistência de 80% e 45,45% respectivamente para *C. glabrata* e *C. krusei*. O itraconazol, mais utilizado em casos de onicomicose, apresentou, nestas amostras, uma forte correlação com a susceptibilidade relacionada ao fluconazol, ressaltando a similaridade do mecanismo de ação.

5-fluorocitosina tem sido uma dos mais usados antimicóticos na terapia das micoses, porém sua alta resistência é um fator limitante ao seu uso (Andrew *et al.*, 2000). Encontramos uma proporção de 75% das amostras resistentes, porém *C. glabrata* apresenta 60% de sensibilidade diferindo seu perfil das demais espécies.

Das 132 amostras estudadas, 60,61% são provenientes de pacientes do sexo masculino, sendo esta proporção significativamente maior que a presente na população. Não encontramos nenhuma correlação plausível a ser feita que justificasse tal fato, porém este merece maior atenção da vigilância sanitária a fim de verificar qual o verdadeiro fator predisponente no sexo masculino.

Na segunda parte deste estudo, foram analisados os fatores relacionados ao paciente e aos procedimentos médicos em relação a candidíase. A consulta aos prontuários do SAME permitiu levantar os dados de 71 pacientes, sendo que os demais estavam incompletos ou arquivados em outro setor. Destes então foram avaliados os dados a respeito da doença de base, causa da internação, tempo de internação, uso de medicação antimicrobiana, a presença de outros agentes e a utilização de cateteres e sondas a fim de correlacionar estas características com o tipo de candidíase, susceptibilidade aos antifúngicos e espécies isoladas. Dos 71 casos estudados, foram considerados casos típicos de infecção hospitalar 60, sendo que os outros 11 não preenchiam os critérios para tal enquadramento, sendo caracterizados por pacientes que chegaram ao hospital com candidúria, principalmente, originada de fatores extra hospitalares.

Dos casos estudados, não foi encontrado diferença significativa entre as frequências de espécies de *Candida* entre os casos de infecção hospitalar e os demais, em ambos os grupos *C. albicans* foi a predominante, como comentado anteriormente. Em relação aos locais de isolamento fica nítida a diferença entre os dois grupos, onde nos casos de infecção de origem não hospitalar 91% dos casos são provenientes de urina enquanto nos de origem hospitalar 30% vêm de cateter e sangue e 20% de urina. Ainda comparando amostras dos

dois grupos, não foi possível identificar qualquer diferença na frequência de ambos os grupos quando comparando o perfil de susceptibilidade aos antifúngicos.

Com relação ao perfil dos pacientes, nos casos caracterizados como infecção hospitalar, a doença de base predominante foi a Leucemia Linfóide Aguda com 28,33% dos casos seguidos por outras neoplasias com 10%. Em crianças sob tratamento quimioterápico, a ocorrência de candidemia tem sido descrita por vários autores (Wojak I; Gospodarek E, 2005), sendo a neutropenia pós quimioterapia um importante fator associado a incidência de candidemia (Viude *et al.*, 2002). Entre os casos de origem extra hospitalar o Diabetes Melitus foi o mais frequente com 45,45% dos casos. Segundo Carvalho *et al.*, 2001, anormalidade do trato urinário e Diabetes mellitus são causas comuns de funguria, concordado com as causas observadas. Os pacientes com infecção hospitalar ficaram em média mais tempo internados, ficaram em média um dia na UTI, 66,7% utilizaram cateter venoso além de sonda nasogástrica, vesical e ventilação mecânica. O uso concomitante com terapia antibacteriana foi superior (81,% contra 45,5%) nos pacientes com infecção hospitalar. Vários autores discutem os fatores de risco para candidíase disseminada, onde parece ser o uso de cateter central, imunossupressão, uso de terapia antibiótica, internação prolongada em UTI's e cirurgia ou injúria gastrointestinal os mais importantes como em nossos dados. (Zaoutis *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2004; Pemán *et al.*, 2005; Koch *et al.* 2005; Viudes *et al.* 2002, Trubenová *et al.* 2001). Neutropenia, corticoideterapia, interrupção do tratamento antifúngico e falha na troca do cateter central venoso são fatores associados com óbito por candidemia (Viudes *et al.* 2002).

Inúmeros fatores de risco estão relacionados à ocorrência de infecções fúngicas de origem hospitalar, entre outros relaciona-se uso de antibioticoterapia, colonização em diferentes sítios anatômicos, transmissão cruzada de leveduras via mãos de profissionais de saúde e uso de cateter venoso central. (Colombo e Guimarães, 2003).

Segundo Giusiano et al., 2006 as leveduras são a primeira causa da colonização de cateteres e a terceira causa de infecções sistêmicas em UTI e oncologia pediátrica e a espécie mais comum em cateteres e sangue foi a *C. albicans* seguida de *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*.

A extensa utilização de agentes antifúngicos como profilático ou no tratamento de candidíase, pode acarretar possível aumento de espécies não- *albicans* (Ruiz,2005). Infecções fungicas por espécies não –*albicans* são de especial interesse pela virulência e patogenicidade,e a resistências aos antifúngicos disponíveis. (Diekema *et al.*, 2002).

## 6. Conclusões

1. *Candida albicans* ainda é a espécie mais freqüente em casos de candidíase, porém as espécies não-*albicans* estão mais freqüentes nos casos de candidemia.
2. *Candida albicans* possui uma maior freqüência de amostras produtoras das enzimas fosfolipase e lipase que as outras espécies, a maioria das cepas são produtoras de proteinase, enquanto que *C. glabrata* pare ser a única com baixa produção de hemolisinas. Existe uma correlação entre a atividade de proteinase, fosfolipase e lípase sugerindo algum tipo de conexão entre estas.
3. A maioria das cepas são sensíveis a Anfotericina B, porém existem cepas resistentes ao Fluconazol que é droga de escolha para os casos de candidemia.
4. Nem todos os casos triados pelo hospital como infecção hospitalar realmente são.
5. Dos casos comprovados de infecção hospitalar, os fatores mais fortemente correlacionados foram o uso de cateteres e sondas e a terapia antibacteriana de amplo espectro.

## 7. Bibliografia

1. ANG, B.S.P.; TELENTI, A.; KING, B.; STCKELBERG, J. M.; WILSON, W.R. Candidemia from a urinary tract source: microbiological aspects and clinical. **Clin Infect. Dis.**, v. 17, p. 662-6, 1993.
2. BANERJEE, S.N.; EMORI, T.G.; CULVER, D.H.; GAYNES, R.P.; JARVIS, W.R.; HORAN T., EDWARDS, J.R.; TOLSON, J.; HENDERSON, T.; MARTONE, W.J. Secular trends in nosocomial primary bloodstream infections in the United States, 1980-1989. National Nosocomial Infections Surveillance System. **American Journal of Medicine**, v. 91, p. 86S-89S, 1991.
3. BECK-SAGUE, C. M.; JARVIS, W. R. The National Nosocomial Infections Surveillance System.. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980–1990. **J. Infect. Dis.**, v.167, p. 1247–1251, 1993.
4. BORG-VON ZEPELIN, M.; EIFFERT, H.; KANN, M. AND RUCHEL, R. Changes in the spectrum of fungal isolates: results from clinical specimens gathered in 1987/88 compared with those in 1991/92 in the University Hospital Gottingen, Germany. **Mycoses**, v.36(7–8):247–253, 1993.
5. BRANCHINI, M. L.; PFALLER, M. A.; RHINE-CHALBERG, J.; FREMPONG, T. AND ISENBERG, H.D. Genotypic variation and slime production among blood and catheter isolates of *Candida parapsilosis*. **J. Clin. Microbiol.** v.32:452–456, 1994.
6. BROSS, J.; TALBOT, G. H.; MAISLIN, G.; HURWITZ, S. AND STROM, B.L. Risk factors for nosocomial candidemia: a case-control study. **Am. J. Med.** v.87, p. 614–620. 1989.
7. CHANDRA, J.; KUHN, D.M.; MUKHERJEE, P.K.; HOYER, L.L.; MCCORMICK, T. AND GHANNOUM, M.A. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. **J. Bacteriol.** v. 183, p.5385–5394. 2001.

8. COLE, G.T.; HALAWA, A.A.; ANAISSE E.J. The role of the gastrointestinal tract in hematogenous candidiasis: from the laboratory to the bedside. **Clinical Infectious Diseases**. v. 22 (suppl 2), p.73-88, 1996.
9. COLOMBO A.L. Epidemiology and treatment of hematogenous candidiasis: a Brazilian perspective. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. v. 4, p.113-118, 2000.
10. COLOMBO, A.L.; NUCCI, M.; SALOMÃO, R.; BRANCHINI, M.L.; RICHTMANN, R.; DEROSI, A.; WEY S. High rate of non-*albicans* candidemia in Brazilian tertiary care hospitals. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases* . v.34, p.281-286, 1999.
11. COSTA, H. **Tópicos de Administração Hospitalar**. 1º. Ed. Renovarum: São Paulo, 1998.260p.
12. CUTLER, J.E.; Putative virulence factors of *Candida albicans*. *Annu Rev Microbiol*. v.45:187-218. Review. 1991
13. DIGNANI, M.C.; SOLOMKIN, J.S.; ANAISSIE, E. *Candida*. In: ANAISSIE, E.; MCGINNIS, M.R.; PFALLER, M.A. (eds) **Medical Mycology**. 1ª Edição, Churchill Livingstone, Filadélfia, p. 195-239, 2003.
14. EMORI, T. G. AND GAYNES, R. P. An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. **Clin. Microbiol. Rev.** v. 6, p. 428–442.1993.
15. FALLONM, K.; BAUSCH, K.; NOONAN, J.; HUGUENEL, E.; TAMBURINI, P. Role of aspartic proteases in disseminated *Candida albicans* infection in mice. **Infect. Immun.** v. 65, p. 551-556. 1997.
16. FINKELSTEIN, R.; REINHERTZ, G.; HASHMAN, N. AND MERZBACH, D. Outbreak of *Candida tropicalis* fungemia in a neonatal intensive care unit. **Infect. Control Hosp. Epidemiol.** v. 14, p. 587–590.1993.
17. FRASER, V. J.; JONES, M.; DUNKEL, J.; STORFER, S.; MEDOFF, G. AND DUNAGAN, W.C. Candidemia in a tertiary care hospital: epidemiology, risk factors, and predictors of mortality. **Clin. Infect. Dis.** v.15, p.414–421. 1992.
18. FRATARELLI, D.A.; REED, M.D.; GIACOIA, G.P.; ARANDA, J.V. Antifungal insystemic neonatal candidiasis. **Drugs**. v.64, p.949-68. 2004.

19. GHANNOUM, M.A.; ABU-ELTEEN, K.H. Pathogenicity determinants of *Candida*. **Mycoses**. v. 33, n.6, p. 265-82. 1990.
20. HAWSER, S. P. AND DOUGLAS, L. J. Biofilm formation by *Candida* species on the surface of catheter materials in vitro. **Infect. Immun.** v.62, p. 915–921. 1994.
21. HORN, R.; WONG, B.; KIEHN, T. E. AND ARMSTRONG, D. Fungemia in a cancer hospital: changing frequency, earlier onset, and results of therapy. **Rev. Infect. Dis.** v.7, p. 646–655. 1985.
22. KARABINIS, A.; HILL, C.; LECLERQ, B.; TANCREDE, C.; BAUME, D. AND ANDREMONT, A. Risk factors for candidemia in cancer patients: a case-control study. **J. Clin. Microbiol.** v.26, p.429–432. 1988.
23. KHATIB, R.; CLARK, J.A.; BRISKI, L.E.; WILSON, F.M. Relevance of culturing *Candida* species from intravascular catheters. **J Clin Microbiol.** v.33, n. 6, p.1635-7. 1995.
24. KOJIC, E.M.; DAROUICHE, R.O. *Candida* Infections of Medical Devices. **Clin. Microbiol.** v. 17, n. 2, p. 255-267. 2004.
25. KOMSHIAN, S. V.; UWAYDAH, A.; SOBEL, J.D. AND CRANE, L.R. Fungemia caused by *Candida* species and *Torulopsis glabrata* in the hospitalized patient: frequency, characteristics, and evaluation of factors influencing outcome. **Rev. Infect. Dis.** v.11, p.379–390. 1989.
26. KURTZMAN, C. P.; AND ROBNETT, C.J. Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. **Antonie Leeuwenhoek.** v. 73, p.331–371. 1998.
27. LACAZ, C. S. ; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C. **Micologia Médica- Fungos, Actinomicetos e Algas de interêsse médico.** 8<sup>a</sup>.ed. São-Paulo, Savier: 1991.
28. LACAZ, S.C.; PORTO, E.; MARTINS, J.E.C.; HEINS VACCARI, E.M.; MELO, N.T. **Tratado de Micologia Médica,** 9<sup>a</sup>. ed. São Paulo, Sarvier:2002.
29. LECCIONES, J. A.; LEE, J.W.; NAVARRO, E.E.; WITEBSKY, F.G.; MARSHALL, D.; STEINBERG, S. M.; PIZZO, P. A. AND WALSH. T. J. Vascular catheter associated fungemia in patients with cancer: analysis of 155 episodes. **Clin. Infect. Dis.** v.14, p. 875–883. 1992.

30. LÓPEZ - MARTINEZ, R.; MANZANO - GAYOSSO, P.; MIER, T.; MENDEZ - TOVAR, L. J.; HERNÁNDEZ - HERNÁNDEZ, F. Exoenzimas de dermatofitos aislados de tiñas agudas y crónicas. **Rev Latin - Am de Microbiol**, v. 36, p. 17 - 20, 1994.
31. MAKI, D. G., WEISS, C. E. SARAFIN H.W. A semiquantitative culture methods for identifying intravenous catheter-related infection. **N. Engl. J. Med.** v. 296, p. 1305-1309, 1977.
32. MANNS, J.M.; MOSSER, D.M.; BUCKLEY, H.R. Production of a hemolytic factor by *Candida albicans*. **Infect. Immun.** v. 62, p. 5154-5156. 1994.
33. MATSUMOTO, F. E. **Leveduras isoladas de sangue, cateter e urina de pacientes internados em Hospital Público infantil de São Paulo, SP.** Tese de Mestrado, ICB-USP, 2001.
34. MATSUMOTO, F.E.; GANDRA, R.F.; RUIZ, L.S.; AULER, M.E.; MARQUES, S.A.V.; PIRES, M.F.C.; GAMBALE, W.; PAULA, C.R. Yeasts Isolated from Blood and Catheter in Children from a Public Hospital of São Paulo, Brazil. **Mycopathologia.** v.154: 63-69. 2002.
35. MATSUMOTO, T. & AJELLO, L. Current taxonomic concepts pertaining to the dermatophytes and related fungi. **Int. J. of Dermatology**, n. 26, p.491-499, 1987.
36. MCCRAY, E.; RAMPELL, N.; SOLOMON, S. L.; BOND, W. W.; AND MARTONE, W. J. Outbreak of *Candida parapsilosis* endophthalmitis after cataract extraction and intraocular lens implantation. **J. Clin. Microbiol.** v.24, p. 625–628. 1986.
37. MCEWEN, J.G.; TAYLOR, J.W.; CARTER, D.; XU, J. *et. al.* Molecular typing of pathogenic fungi. **Med. Mycol.** v. 38, Supp. I, p. 189-197, 2000.
38. MIRANDA, E. T.; SILVA, R. A. M.; FUSCO-ALMEIDA, A. M.; MELHEM, M. C. S.; PUKINSKAS, S. R. B. S.; MENDES-GIANNINI, M. J. S. Epidemiologia de candidíase hospitalar: importância da identificação específica, **Rev. ciênc. Farm.** v.24, n.1, p.39-45, 2003.
39. MOREIRA, D. **Candidíase vulvovaginal: investigação dos aspectos epidemiológicos, fatores associados à virulência e sensibilidade aos antifúngicos,** SP. Tese de Mestrado, ICB-USP, 2005.

40. MOREIRA, M.E.L. Controversies about the management of invasive fungal infections in very low birth weight infants. **J Pediatr.** v.81 (1 suppl), p. s52-s58. 2005.
41. MUHSIN, T.M.; AUBAID, A.H.; AL-DUBOON, A.H. Extracellular enzyme activities of dermatophytes and yeast isolates on solid media. **Mycoses** v.40, p. 465-469, 1997.
42. **NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS).** Reference Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts; Proposed Guideline. Approved Standard M44-P, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PE 19087 EUA. 2003.
43. NAWROT, U.; NOWICKA, J.; JUSZCZAK, K.; GUSIN B. Susceptibilidade to antifungal agents of *Candida* species isolated from paediatric and adult patients with haematological diseases. **Mycoses.** v.48, p.385-390. 2005.
44. NUCCI, M.; ANAISSE, E. Revisiting the source of candidemia: skin or gut?. **Clinical Infectious Diseases.** v. 33, p.1959-1967, 2001.
45. ODDS, F.C. **Candida and Candidosis: a review and bibliography.** Ed.Ballière Tindall. london united kingdom. 2 ed., 468p. 1988.
46. PAPPAS, P.G.; REX, J.H.; SOBEL, J.D.; FILLER, S.G.; DISMUKES, W.E.; WALSH, T.J.; *et al.* Infectious Diseases Society of America Guidelines for treatment of candidiasis. **Clin. Infect. Dis.** v.38, p.161-89. 2004.
47. PAULA, C. R.; SAMPAIO, M. C. C.; BIRMAN, E.G. *et al.* Oral Yeasts In Patients With Buccal Cancer, Before And During Radioteratpy.. **Mycopathologia,** v. 32, n. 1, p. 46-50, 1990.
48. PAULA, C.R.; MATSUMOTO, F.E.; MELO, T.A. Possible catheter-related infections in a public children's hospital of São Paulo, Brazil. **ASM Conference on Candida and Candidiasis,** 1999, p.35, Charleston, South Carolina, USA
49. PEACOCK, J. E., A. J. MORRIS, D. C. TANNER, M. L. NGUYEN, V. L. SNYDMAN, AND U. YU. The changing face of candidemia: results of a large scale prospective multicenter study, abstr. J107, p. 106. *In* Program and Abstracts of the **34th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy.** American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1994.

50. PEDROSO, C.P.A. Aspectos Clínicos e Terapêuticos da Candidíase Sistêmica em UTI Neonatal: Estudo de 60 Casos, SP. **Tese de Mestrado**, FM-USP, 2005
51. PFALLER M.A.; JONES R.N.; MESSER S.A.; EDMOND M.B.; WENZEL R.P. National Surveillance Of Nosocomial Blood Stream Infection Due To *Candida Albicans*: Frequency Of Occurrence And Antifungal Susceptibility In The SCOPE **Program Diagn Microbiol Infect Dis.** v.31, n.1, p.327-32. 1998.
52. PFALLER, M. A., J. H. REX, and A. L. BARRY. Strain variation and antifungal susceptibility among 280 isolates of *Candida* from nonneutropenic patients with candidemia, abstr. J105, p. 105. *In* Program and Abstracts of the **34th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1994. a.
53. PFALLER, M. A.; MESSER, S. and HOLLIS, R. Genotypic variation, antifungal susceptibility, and slime production among isolates of *Candida parapsilosis*, abstr. J104, p. 105. *In* Program and Abstracts of the **34th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1994. b.
54. PFALLER, M.; AND WENZEL, R. Impact of changing epidemiology of fungal infections in the 1990s. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.** v.11, p.287– 291. 1992.
55. PFALLER, M.A. Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs, and modes of transmission. **Clinical Infectious Diseases.** v. 22 (suppl 2), p.S89-S94, 1996.
56. RUIZ, L.S. Identificação, Fatores De Virulência E Sensibilidade A Antifúngicos De Amostras De Leveduras Isoladas De Pacientes Com Fungemia Do Hospital Das Clínicas De Botucatu/ SP, SP. **Tese de Mestrado**, ICB-USP, 2002.
57. RUIZ, L.S.; SUGIZAKI, M.F.; MONTELLI, A.C.; MATSUMOTO, F.E.; PIRES, M.F.C.; SILVA, B.C.M.; SILVA, E.H.; GAMBALE, W.; GONÇALVES DA SILVA, E.; AULER, M.E.; PAULA, C.R. Fungemia by yeasts in Brazil: occurrence and phenotypic study of strains isolated at the Public Hospital, Botucatu, São Paulo. **J. Mycol. Med.**, v.15, p.13-21, 2005.
58. SAMARANAYAKE, L.P. Oral candidosis and AIDS. **Br Dent J.** v.24, p.342-3. 1984.

59. SAMARANAYAKE, L.P.; MACFARLANE, T.W. The adhesion of the yeast *Candida albicans* to epithelial cells of human origin in vitro. **Arch. Oral Biol.** v.26, p. 815-820. 1981.
60. SANCHEZ, V., VAZQUEZ, J. A.; BARTH-JONES, D.; DEMBRY, L.; SOBEL, J. D. AND ZERVOS, M. J. Epidemiology of nosocomial acquisition of *Candida lusitanae*. **J. Clin. Microbiol.** v.30, p. 3005–3008. 1992.
61. SANCHEZ, V.; VAZQUEZ, J. A.; BARTH-JONES, D.; DEMBRY, L. AND SOBEL, J. D. Nosocomial acquisition of *Candida parapsilosis*: an epidemiologic study. **Am. J. Med.** 94, p.577–582. 1993.
62. SCHABERG, D. R.; CULVER, D. H. AND GAYNES, R. P. Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. **Am. J. Med.** v.91(Suppl. 3B), p.72S–75S. 1991.
63. SCHALLER, M.; BORELLI, C.; KORTING, H.C.; HUBE, B. Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. **Mycoses**, v.48: 365-377. 2005.
64. SHERIDAN R.; RATLEDGE C. Change in cell morphology and carnitine acetyltransferase activity in *Candida albicans* following growth on lipids and serum and after in vivo incubation in mice. **Microbiology.** v. 142, p. 3171-80. 1996.
65. SIDRIM, J.J.C.; ROCHA, M.F.G. **Micologia Médica à Luz de Autores Contemporâneos**, Editora Guanabara Koogan. 1ª. ed. São-Paulo. 2004.
66. SILVA, E.H. Candidúria em Hospital Público infantil de São Paulo: Identificação de Leveduras, Fatores Relacionados a Virulência, Biotipagem, “Killer” e Sensibilidade aos antifungicos, SP. **Tese de Mestrado**, ICB-USP, 2005.
67. SOLL, D.R. The ins and outs of DNA fingerprinting the infectious fungi. **Clin. Microbiol. Rev.** v.13, p. 332-370, 2000.
68. SOLOMON, S. L.; ALEXANDER, H.; ELEY, J. W.; ANDERSON, R. L.; GOODPASTURE, H. C.; SMART, S.; FURMAN, R. M. AND MARTONE, W. J. Nosocomial fungemia in neonates associated with intravascular pressure-monitoring devices. **Pediatr. Infect. Dis. J.** v.5, p. 680–685. 1986.
69. SOLOMON, S. L.; KHABBAZ, R. F.; PARKER, R. H.; ANDERSON, R. L.; GERAGHTY, M. A.; FURMAN, R. M. and MARTONE, W. J. An outbreak of

- Candida parapsilosis* bloodstream infections in patients receiving parenteral nutrition. **J. Infect. Dis.** v.149, p.98–102. 1984.
70. STRAUSBAUGH, L.J.; SEWELL, D.L.; WARD, T.T.; PFALLER, M.A.; HEITZMAN, T.; TJOELKER, R. High frequency of yeast carriage on hands of hospital personnel. **J Clin Microbiol.** v.32, n. 9, p.2299-300. 1994.
71. WEEMS, J. J. J. *Candida parapsilosis*: epidemiology, pathogenicity, clinical manifestations, and antimicrobial susceptibility. **Clin. Infect. Dis.** v.14, p. 756–766. 1992.
72. WEEMS, J. J. J.; CHAMBERLAND, M. E. ; WARD, J.; WILLY, M.; PADHYE, A. A. AND SOLOMON, S. L. *Candida parapsilosis* fungemia associated with parenteral nutrition and contaminated blood pressure transducers. **J. Clin. Microbiol.** v., 25, p. 1029–1032. 1987.
73. WENZEL, R.P. Nosocomial candidemia: risk factors and attributable mortality. **Clinical Infectious Diseases** v. 20: 1531-1534, 1995.
74. WERNER, H. Studies on the lipase activity in yeasts and yeas-like fungi. **Zentralbl Bakteriol.** v. 200, p. 113-124, 1966.
75. WEY, S. B.; MORI, M.; PFALLER, M.; WOOLSON, R. AND WENZEL, R. P. Hospital-acquired candidemia: the attributable mortality and excess length of stay. **Arch. Intern. Med.** v.148, p. 2642–2645. 1988.
76. WINGARD, J. R.; MERZ, W. G. ; RINALDI, M. R. ; JOHNSON, T. R. ; KARP, J. E. AND SARAL, R. Increase in *Candida krusei* infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treated prophylactically with fluconazole. **N. Engl. J. Med.** v.325, p.1274–1277. 1991.
77. PFALLER, M.A., JONES, R.N., DOERN, G.V, FLUIT, A.C, VERHOEF J, SADER, H.S., MESSER, S.A., HOUSTON, A., COFFMAN, S., HOLLIS, R.J. International surveillance of blood stream infections due to *Candida* species in the European SENTRY Program: species distribution and antifungal susceptibility including the investigational triazole and echinocandin agents. SENTRY Participant Group (Europe). **Diagn Microbiol Infect Dis.** v. 35, p.19–25, 1999.

78. KRČMERY, V. J.R., KOVACICOVA, G. Longitudinal 10-year prospective survey of fungaemia in Slovak Republic: trends in etiology in 310 episodes. Slovak Fungaemia study group. **Diagn Microbiol Infect Dis.** v.36,p.7–11, 2000.
79. WINGARD, J.R., MERZ, W.G., RINALDI, M.R., JOHNSON TR, KARP JE, SARAL R. Increase in *Candida krusei* infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treated prophylactically with fluconazole. **N. Engl. J. Med.** v. 325, p. 1274–1277, 1995.
80. FRIDKIN, S.K., JARVIS, W.R.. Epidemiology of nosocomial fungal infections. **Clin Microbiol Rev.** v.9, p. 499–511, 1996
81. OLIVEIRA, R. D. R. DE;, MAFFEI, C. M. L, MARTINEZ, R. Infecção urinária hospitalar por leveduras do gênero *Candida* **Rev. Assoc. Med. Bras.** v.47, p.231–235, 2001
82. BRANCHINI, M. L.; PFALLER, M. A.; RHINE-CHALBERG, J.; FREMPONG, T. AND ISENBERG, H.D. Genotypic variation and slime production among blood and catheter isolates of *Candida parapsilosis*. **J. Clin. Microbiol.** v.32, p.452–456, 1994.
83. GUDLAUGSSON O, GILLESPIE S, LEE K, VANDE BERG J, HU J, MESSER S, HERWALDT L, PFALLER M, DIEKEMAD. Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited. **Clin Infect Dis.** v. 37, n.9, p.1172-7,2003
84. KOCH, S.; HAEFNER, H.; HUENGER, F.; HAASE, G.; WILDBERGER, J.; LEMMEN, S.W. Diagnostik und Therapie invasiver Pilzinfektionen auf der Intensivstation. **Anaesthesist,** v. 54, n. 10, p. 1047-64, 2005.
85. PEMÁN, J.; CANTÓN, E.; GOBERNADO, M. Spanish. Epidemiology and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from blood: results of a 2-year multicentre study in Spain. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis,** v. 24, n.1, p.23-30, 2005
86. SILVA, V.; DÍAZ, M.C.; FEBRÉ, N. Invasive fungal infections in Chile: a multicenter study of fungal prevalence and susceptibility during a 1-year period. **Med Mycol,** v. 42, n.4, p. 333-9, 2004
87. VIUDES, A.; PEMÁN, J.; CANTÓN, E.; UBEDA, P.; LÓPEZ-RIBOT, J.L.; GOBERNADO, M. Candidemia at a tertiary-care hospital: epidemiology, treatment,

- clinical outcome and risk factors for death. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 21, n. 11, p. 767-74, 2002.
88. MANZANO-GAYOSSO P., HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ F., BAZÁN-MORA, E., MÉNDEZ-TOVAR L.J., GONZÁLEZ-MONROY J, LÓPEZ-MARTÍNEZ R. Identificación y tipificación de levaduras aisladas de pacientes de un hospital de la ciudad de México, **Rev. Argent. Microbiol.** v.32, p.1–6, 2000.
89. VAN 'T WOUT, J.W.; KUIJPER, E.J.; VERWEIJ, P.E.; KULLBERG, B.J. Nieuwe ontwikkelingen in de antifungale therapie: fluconazol, itraconazol, voriconazol, caspofungine. *Ned Tijdschr Geneesk*, v.148, n.34, p.1679-84, 2004.
90. HUBE, B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinase. **Curr. Top. Méd. Mycol.** v.7, p. 55-69, 1996.
91. HUBE, B. Possible role of secreted proteinases in *Candida albicans* infection. **Ver. Iberoam. Micol.** v. 15, p. 65-68, 1998.
92. KAUFFMAN, C.A.; VAZQUES, J.A.; SOBEL, J.D.; GALLIS, H.A.; SUGAR, A.M.; SHARKEY, P. K.; WISE, G.J.; MANGI, R.; MOSHER, A.; LEE, J.Y.; DISMUKES, W.E.; The national institute fo allergy and infection disease (NIAID) Mycoses group. Prospective Multicenter Surveillance Study of fungaria in hospitalizer patient. **Clin. Infect.** v.30, p. 14-18, 2000.
93. BARCHIESI, F.; CAGGIANO, G.; FALCONI DI FRANCESCO, L.; MONTAGNA, M.T.; BARBUTI, S.; SCALISE, G. Outbreak of fungemia due to *Candida parapsilosis* in a pediatric oncology unit. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.** v. 49, p. 269-271, 2004.
94. CALVET, H.M.; YEAMAN, M.R.; FILLER, S.G. reversible fluconazol resistance in *Candida albicans*: a potential in vitro model. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 41, n. 3, p. 535-539, 1997.
95. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS) **Reference Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts: Approved guideline M44-A.** Wayne, PA, EUA:NCCLS, 2004.
96. CARVALHO, M.; GUIMARÃES, C. M.; MAYER, J. R.; BORDIGNON, G. P.; QUEIROZ-TELLES, F. Hospital-associated funguria: analysis of risk factors, clinical presentation and outcome. **Braz. J. Infect. Dis.** v.5, p. 313-318. 2001.

97. ANDREU, C. M. F.; MOLINA, D. L.; MACHÍN, G. M. Sensibilidad de aislamientos clínicos de *Candida albicans* frente a la 5-fluorocitosina / Sensitivity of clinical isolates of *Candida albicans* to 5-fluorocytosine. **Re. Cuba. Méd. Trop.** v.52, p. 191-196, 2000.
98. FOONGLADDA, S.; SAKULMAIWATANA, P.; PETLUM, P.; VANPRAPAR, N. *Candida* species, genotypes and antifungal susceptibility of *Candida* isolates from blood samples of patients at the largest tertiary care hospital in Thailand during 1999-2002. **J Med Assoc Thai.** v.87, n.1, p.92-9, 2004.
99. MONTELLI, A. C. ; SERAFIM, N. M. B. ; GUT, A. L. ; BOAS, P. J. F. Villas . Considerações sobre infecção hospitalar e seu controle no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu. **Ambito Hospitalar**, v. 14, n. 155, p. 9-14, 2002.

## ANEXO - 1

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS  
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA  
SEÇÃO DE MICOLOGIA

Procedência:

Registro:

Observações:

1. Exame direto:

2. Crescimento em meios usuais:

Crescimento em meios com ácido graxo:

3. Microcultivo e tubo germinativo:

PM:            BL:            AR:            AR:            TG:

MV:            CL:            Outros:

4. Ascospores e ascoporos:

Positivos:

Negativo:

5. Outras Provas

- Síntese de amido:

- Produção de melanina:

- TTC:

6. Auxanograma

KNO<sub>3</sub>:

PEP:

glicose:

rafinose:

inositol:

celobiose:

sacarose:

melibiose:

lactose:

trealose:

dulcitol:

maltose:

xilose:

7. Zimograma:

glicose:

lactose:

maltose:

sacarose:

Diagnóstico:

## ANEXO 2

<b>cepa No.</b>	<b>Identificação</b>	<b>Material Clínico</b>	<b>hemólise</b>	<b>fosfolipase</b>	<b>Proteinase</b>	<b>Lipase</b>	<b>AB</b>	<b>5FC</b>	<b>ICZ</b>	<b>FLU</b>
91	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	1	1	0	0	1	0	1	1
99	<i>Candida papstlosis</i>	hemocultura	0	0	0	0	1	1	1	1
144	<i>Candida glabrata</i>	urina	0	0	0	0	1	1	0	0
147	<i>Candida albicans</i>	urina	1	1	1	1	1	0	1	1
148	<i>Candida albicans</i>	urina	1	1	1	1	1	1	1	1
149	<i>Candida guilliermondii</i>	hemocultura	1	0	0	0	1	1	1	1
150	<i>Candida albicans</i>	urina	0	1	1	1	1	0	0	0
152	<i>Candida albicans</i>	urina	0	0	0	0	1	1	0	1
154	<i>Candida albicans</i>	urina	0	1	1	1	1	0	1	1
156	<i>Candida tropicalis</i>	hemocultura	1	0	1	1	1	1	1	1
158	<i>Candida papstlosis</i>	hemocultura	1	0	0	0	1	0	0	0
162	<i>Candida glabrata</i>	hemocultura	0	0	0	0	1	1	0	0
163	<i>Candida glabrata</i>	urina	1	0	0	0	1	1	0	0
164	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	1	1	1	0	1	0	1	1
165	<i>Candida krusei</i>	hemocultura	0	0	0	0	1	0	0	0
166	<i>Candida glabrata</i>	hemocultura	1	0	0	0	1	1	1	0
170	<i>Candida krusei</i>	hemocultura	0	0	1	0	1	0	1	1
172	<i>Candida krusei</i>	hemocultura	0	0	1	0	1	0	1	1
176	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	1	1	1	1	1	0	1	1
179	<i>Candida albicans</i>	secreção lingua	1	1	1	1	1	1	1	1
180	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	1	1	1	1	1	0	0	0
181	<i>Candida albicans</i>	cateter	1	1	1	1	1	0	1	1
182	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	1	1	1	1	1	0	1	1
183	<i>Candida albicans</i>	urina	1	1	0	1	1	0	1	1
185	<i>Candida papstlosis</i>	hemocultura	1	0	1	0	1	0	1	0
186	<i>Candida tropicalis</i>	urina	1	1	1	1	1	0	1	1
190	<i>Candida albicans</i>	lcr	1	1	1	1	1	0	1	0
191	<i>Candida albicans</i>	sonda	1	0	1	1	1	0	0	0

193	<i>Candida albicans</i>	secreção orofaringe	1	1	0	1	1	0	1	1
194	<i>Candida krusei</i>	secreção indefinida	1	1	1	1	1	1	1	1
195	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	0	1	1	1	0	0	0	0
196	<i>Candida albicans</i>	urina	1	1	1	1	1	1	1	1
197	<i>Candida papsilosis</i>	hemocultura	0	0	1	0	1	0	1	1
198	<i>Candida albicans</i>	urina	1	1	1	1	1	1	1	1
199	<i>Candida albicans</i>	urina	0	1	1	1	1	0	1	1
200	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	0	1	1	1	1	0	1	1
201	<i>Candida albicans</i>	urina	0	1	1	1	1	0	1	1
201	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	0	1	1	1	1	0	1	1
233	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	0	1	1	1	1	0	1	1
234	<i>Candida glabrata</i>	cateter	0	1	0	1	0	0	0	0
235	<i>Candida albicans</i>	urina	0	1	1	1	1	0	1	1
237	<i>Candida tropicalis</i>	urina	0	0	1	1	0	1	1	1
237	<i>Candida tropicalis</i>	cateter	0	0	1	0	1	1	1	1
238	<i>Candida albicans</i>	secreção indefinida	1	0	0	0	0	1	0	0
239	<i>Candida albicans</i>	urina	1	1	0	1	1	1	1	0
240	<i>Candida tropicalis</i>	hemocultura	1	0	0	0	0	1	1	1
241	<i>Candida tropicalis</i>	cateter	1	0	0	0	0	1	1	0
242	<i>Candida albicans</i>	urina	0	1	1	1	1	0	0	1
243	<i>Candida albicans</i>	urina	0	1	1	1	1	0	1	0
245	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	0	1	1	1	1	0	1	1
246	<i>Candida tropicalis</i>	cateter	1	0	1	1	1	0	0	1
247	<i>Candida tropicalis</i>	hemocultura	1	0	1	1	1	0	0	1
248	<i>Candida albicans</i>	urina	0	1	1	1	1	0	1	1
249	<i>Candida tropicalis</i>	cateter	0	0	1	0	1	0	0	0
250	<i>Candida albicans</i>	urina	0	0	0	0	0	0	0	1
291	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	1	1	1	1	1	0	1	1
292	<i>Candida tropicalis</i>	secreção orofaringe	1	0	0	1	1	0	1	1
293	<i>Candida albicans</i>	Lavado bronco alveolar	1	1	1	1	1	0	1	1
294	<i>Candida albicans</i>	secreção traqueal	1	0	0	1	1	0	0	0
295	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	1	1	1	1	1	0	1	1

302	<i>Candida albicans</i>	urina	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1
303	<i>Candida albicans</i>	urina	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
304	<i>Candida krusei</i>	urina	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0
305	<i>Candida albicans</i>	urina	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
306	<i>Candida tropicalis</i>	secreção lombar	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1
309	<i>Candida albicans</i>	urina	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
310	<i>Candida papsilosis</i>	urina	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1
311	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1
312	<i>Candida tropicalis</i>	hemocultura	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
313	<i>Candida krusei</i>	hemocultura	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0
316	<i>Candida krusei</i>	cateter	1	0	0	1	1	1	0	1	1	0
317	<i>Candida albicans</i>	cateter	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
318	<i>Candida tropicalis</i>	liquido pleural	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
319	<i>Candida tropicalis</i>	hemocultura	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
320	<i>Candida krusei</i>	hemocultura	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0
323	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0
324	<i>Candida albicans</i>	secreção traqueal	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1
325	<i>Candida lusitanae</i>	urina	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1
328	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1
329	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1
330	<i>Candida albicans</i>	urina	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
332	<i>Candida tropicalis</i>	escarro	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1
333	<i>Candida papsilosis</i>	secreção lombar	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1
334	<i>Candida albicans</i>	secreção gástrica	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1
335	<i>Candida albicans</i>	urina	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
336	<i>Candida albicans</i>	urina	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1
337	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1
338	<i>Candida albicans</i>	urina	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1
339	<i>Candida papsilosis</i>	hemocultura	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1
340	<i>Candida tropicalis</i>	urina	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1

341	<i>Candida albicans</i>	cateter	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0
342	<i>Candida guilliermondii</i>	secreção gástrica	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1
343	<i>Candida albicans</i>	cateter	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1
344	<i>Candida papillosis</i>	urina	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1
345	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0
346	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1
347	<i>Candida tropicalis</i>	hemocultura	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1
348	<i>Candida albicans</i>	urina	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0
349	<i>Candida albicans</i>	urina	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
350	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1
351	<i>Candida albicans</i>	cateter	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1
365	<i>Candida lusitanae</i>	urina	1	0	0	1	1	0	1	0	0	1
366	<i>Candida albicans</i>	urina	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1
367	<i>Candida albicans</i>	urina	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1
372	<i>Candida krusei</i>	hemocultura	1	0	0	1	1	0	1	0	0	1
373	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1
374	<i>Candida krusei</i>	cateter	1	0	0	1	1	0	1	0	0	1
375	<i>Candida albicans</i>	urina	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1
376	<i>Candida tropicalis</i>	urina	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1
377	<i>Candida krusei</i>	hemocultura	1	0	0	1	1	0	1	0	0	1
378	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
379	<i>Candida albicans</i>	secreção orofaringe	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
380	<i>Candida albicans</i>	urina	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1
381	<i>Candida albicans</i>	urina	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
391	<i>Candida albicans</i>	secreção traqueal	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1
392	<i>Candida albicans</i>	urina	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
393	<i>Candida albicans</i>	urina	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
394	<i>Candida glabrata</i>	hemocultura	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0
395	<i>Candida glabrata</i>	cateter	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0
396	<i>Candida albicans</i>	urina	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1

398	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	1	1	0	1	1	1	1
399	<i>Candida albicans</i>	urina	1	1	0	1	1	1	1
400	<i>Candida albicans</i>	cateter	1	1	0	1	1	1	1
401	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	1	1	0	1	1	1	1
402	<i>Candida albicans</i>	cateter	1	1	0	1	1	1	1
403	<i>Candida albicans</i>	fezes	1	1	1	1	1	1	1
404	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	1	1	1	1	1	1	1
405	<i>Candida albicans</i>	urina	1	1	1	1	1	1	1
406	<i>Candida albicans</i>	urina	0	1	1	1	1	1	1
407	<i>Candida albicans</i>	hemocultura	1	0	1	1	1	1	1
408	<i>Candida albicans</i>	secreção ferida	0	0	1	1	1	1	1
409	<i>Candida glabrata</i>	urina	0	0	0	0	1	1	1
410	<i>Candida glabrata</i>	hemocultura	0	0	0	1	1	0	1
411	<i>Candida glabrata</i>	urina	0	0	0	1	1	1	1

1 - -atividade enzimática, sensibilidade aos antifúngicos

0 - sem atividade enzimática, resistente aos antifúngicos.

## ANEXO 3

Prontuário No:		Cepa N°:	
Data da internação:		/ /	
Data da cultura positiva:			
Nome:			
Idade:			
Prematuro: ( ) sim ( ) não		Quantos meses?	
Peso inicial:		Peso final:	
Causa da internação:		Doença de base:	
Andar da internação:		Quarto de internação:	
Isolamento? ( ) sim ( ) não		UTI: tempo:	
Tempo de internação: (em dias)			
Medicações:			
Tempo de tratamento:		( ) dias ( ) meses ( ) anos	
Outros microorganismos:			
Cateter? ( ) sim ( ) não		Tempo?	
Sonda vesical? ( ) sim ( ) não		Tempo?	
Sonda nasogastrica? ( ) sim ( ) não		Tempo?	
Ventilação mecânica? ( ) sim ( ) não		Tempo?	
Nutrição Parenteral? ( ) sim ( ) não		Tempo?	
Desfecho: ( ) óbito ( ) Alta ( ) Alta com seqüela		Qual:	
Outros:			
Observações:			