

ADRIANA LOPES MOTTA

**Análise da prevalência e perfil de suscetibilidade das espécies
de *Candida* isoladas de hemoculturas em 2006 no Hospital das
Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de
São Paulo.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Ciências

Área de Concentração: Fisiopatologia Experimental

Orientador: Profa. Dra. Flávia Rossi

São Paulo

2009

ADRIANA LOPES MOTTA

**Análise da prevalência e perfil de suscetibilidade das espécies
de *Candida* isoladas de hemoculturas em 2006 no Hospital das
Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de
São Paulo.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Ciências

Área de Concentração: Fisiopatologia Experimental

Orientador: Profa. Dra. Flávia Rossi

São Paulo

2009

DEDICATÓRIA

Aos Meus pais Neusa e Tarcido (*in memoriam*) e aos meus avós João e Rosa (*in memoriam*) pelo amor e educação. A minha irmã Amanda a minha avó Silvia pela amizade e companheirismo. Ao Rafael com amor e carinho.

AGRADECIMENTOS

A Dra Flávia Rossi pela orientação e disponibilidade

A Dra Gisele MD de Almeida pela co-orientação sugestões disponibilidade e amizade

Ao Professor Doutor Marcelo Nascimento Buratini por proporcionar condições para o desenvolvimento desse estudo

A Alessandra Ferrari e Bruno Bernal - funcionários da Fundação Faculdade de Medicina por proporcionar condições para o desenvolvimento desse estudo.

Ao Dr Alfio Rossi, Dra Tânia Mara Strabelli, Enfermeira Adriana, funcionários das comissões de controle de infecção hospitalar dos institutos, e ao Sr Alfredo Aoki, da diretoria do arquivo médico do instituto de psiquiatria por fornecerem os dados de admissão e pacientes-dia.

Aos funcionários do setor de arquivo médico do Instituto Central

A todos os funcionários da Microbiologia por proporcionar condições para o desenvolvimento desse estudo em especial para:

Os meus amigos e funcionários do setor de Micologia Maria Isabel Cunha Pinto, Sergio Ricardo Honório, Rosenilda Assis e Valéria Rosa que me ajudaram durante o estudo.

As minha queridas amigas, Heleni Mota Pina, Ana Paula Cury, Alessandra Messina Perini e Patrícia Rodrigues Alves, Silvia Molin e Marlene Rafael e Márcia Maffucci pela amizade.

Ao Dr João Nóbrega pela ajuda na excussão da parte prática

E a Maria Renata Gomes Franco pela compreensão, amizade e paciência

SUMÁRIO

SUMÁRIO	v
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTAS DE TABELAS	xi
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	xiv
RESUMO	xv
SUMMARY	xvi
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Candidemias - Aspectos gerais	2
1.2. Aspectos microbiológicos de <i>Candida</i> spp.....	6
1.2.1. Biologia Celular e Fatores de virulência.....	8
1.2.2. Patogênia.....	10
1.2.3. Diagnóstico laboratorial.....	11
1.2.4. Teste de suscetibilidade aos antifúngicos.....	17
1.2.5. Resistência a drogas antifúngicas.....	20
1.2.6. Mecanismos de resistência.....	20
1.3. Justificativa.....	22
2. OBJETIVOS	24
2.1. Objetivos Principais.....	25
2.2. Objetivos secundários.....	25
3. MÉTODOS	26
3.1. Local do estudo.....	27

3.2. Desenho do estudo.	28
3.3. Localização dos Casos.	28
3.4. Definições e variáveis de interesse.	28
3.5. Microbiologia.	29
3.5.1. Processamento das amostras de sangue.	29
3.5.2. Identificação das cepas.	30
3.6. Teste de suscetibilidade aos antifúngicos.	31
3.6.1. Preparo da suspensão padrão de leveduras.	31
3.6.2. Microdiluição em caldo - Sensititre YeastOne ®.	32
3.6.3. Gradiente de Difusão em ágar - Etest ®.	34
3.6.4. Disco Difusão.	35
3.6.5. Pontos de corte utilizados para categorização dos isolados.	36
3.7. Controle de qualidade.	37
3.8. Definições utilizadas para análise de concordância entre os métodos utilizados para determinar o perfil de sensibilidade.	38
3.9. Análise estatística.	40
4. RESULTADOS.	42
4.1. Prevalência.	43
4.2. Incidência.	44
4.3. Dados demográficos dos pacientes com candidemia.	46
4.4. Distribuição das espécies de <i>Candida</i>	47
4.5. Identificação das cepas viáveis de <i>Candida</i> spp.	50

4.6. Perfil de suscetibilidade.	51
4.7. Concordância entre os testes utilizados para avaliar o perfil de suscetibilidade.....	54
4.7.1. Comparação entre os valores dos MICs obtidos através dos testes de microdiluição Sensititre YeastOne ® <i>versus</i> Etest ®.	57
4.7.2. Comparação entre os valores de MICs obtidos entre metodologias quantitativas <i>versus</i> disco difusão.	60
4.7.3. Análise de concordância na definição dos isolados classificados como S; SDD ou R.....	64
5. DISCUSSÃO	69
6. CONCLUSÕES	87
7. ANEXOS	90
8. REFERÊNCIA	107

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Características Micromorfológicas das principais <i>Candida</i> spp. Foto: Seção de Microbiologia do HC-FMUSP.....	13
Figura 2. Micromorfologia das principais <i>Candida</i> spp. Foto: Seção de Microbiologia HC-FMUSP.....	14
Figura 3. Mecanismo de ação das principais drogas antifúngicas	22
Figura 4. Placas Sensititre YeastOne ® (Trek, UK).....	33
Figura 5. Interpretação do MIC através da fita Etest (AB Biodisk, Slona, Sweden) A - Anfotericina B; B- Azólicos e C -Caspofungina. B.....	35
Figura 6. Incidência de candidemia em 2006 nos diferentes hospitais do complexo Hospital das Clínicas da FMUSP.....	45
Figura 7. Correlação entre os MIC de Etest ® e microdiluição Sensititre YeastOne ® para anfotericina B.....	57
Figura 8. Correlação entre os MIC de Etest ®e microdiluição Sensititre YeastOne ® para caspofungina.....	58
Figura 9. Correlação entre os MIC de Etest ® e microdiluição Sensititre YeastOne ®para fluconazol.....	58
Figura 10. Correlação entre os MIC de Etest ® e microdiluição Sensititre YeastOne ® para itraconazol.....	59
Figura 11. Correlação entre os MIC de Etest ® e microdiluição Sensititre YeastOne ® para voriconazol.....	59

Figura 12. Correlação entre os MIC de Etest ® e microdiluição para posaconazol Sensititre YeastOne ®.....	60
Figura 13. Correlação entre os halos do disco difusão e MICs da microdiluição Sensititre YeastOne ® para fluconazol.....	62
Figura 14. Correlação entre os halos do disco difusão e MICs da microdiluição Sensititre YeastOne ® para voriconazol.....	62
Figura 15. Correlação entre os halos do disco difusão e MICs do Etest ® para fluconazol.....	63
Figura 16. Correlação entre os halos do disco difusão e MICs do Etest ® para voriconazol.....	63
Figura 17. Análise do coeficiente kappa para avaliação da concordância na discriminação de isolados sensíveis (S); sensível dependente da dose (SDD) e resistente (R), pelo método de microdiluição Sensititre YeastOne ® e Etest ® para fluconazol.....	65
Figura 18. Análise do coeficiente kappa para avaliação da concordância na discriminação de isolados sensíveis (S); sensível dependente da dose (SDD) e resistente (R), pelo método de microdiluição Sensititre YeastOne ® e Etest ® para itraconazol.....	65
Figura 19. Análise do coeficiente kappa para avaliação da concordância na discriminação de isolados sensíveis (S); sensível dependente da dose (SDD) e resistente (R), pelo método de microdiluição Sensititre YeastOne ® e disco difusão para fluconazol.....	66

Figura 20. Análise do coeficiente kappa para avaliação da concordância na discriminação de isolados sensíveis (S); sensível dependente da dose (SDD) e resistente (R), pelo método Etest ® e disco difusão para fluconazol.....	67
Figura 21. Análise do coeficiente kappa para avaliação da concordância na discriminação de isolados sensíveis (S); sensível dependente da dose (SDD) e resistente (R), pelo método de microdiluição Sensititre YeastOne ® e disco difusão para voriconazol.....	67
Figura 22. Análise do coeficiente kappa para avaliação da concordância na discriminação de isolados sensíveis (S); sensível dependente da dose (SDD) e resistente (R), pelo método de Etest ® e disco difusão para voriconazol.....	68

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 - Correlação entre metodologias utilizadas para identificação de leveduras. ...	14
Tabela 2- Valores de concentrações inibitórias mínimas estabelecidos para interpretação do teste de sensibilidade aos antifúngicos para <i>Candida</i> spp. segundo "Clinical Laboratory Standard Institute" Documentos M27 A3.....	37
Tabela 3- Diâmetros dos halos de inibição estabelecidos para interpretação do teste de sensibilidade aos antifúngicos para <i>Candida</i> spp. segundo "Clinical Laboratory Standard Institute" documento M 44 A.....	37
Tabela 4 - Ocorrência dos dez principais microrganismos isolados de hemocultura de 2006 no Hospital das Clínicas da FMUSP.....	43
Tabela 5 - Distribuição dos principais fungos isolados de hemocultura no ano de 2006 no Hospital das Clínicas da FMUSP.....	44
Tabela 6- Incidência e distribuição de <i>Candida</i> spp. isoladas de hemocultura por Instituto do Hospital das Clínicas da FMUSP em 2006.....	46
Tabela 7 - Distribuição de <i>Candida albicans</i> e <i>Candida</i> não <i>albicans</i> de acordo com doença de base dos 136 episódios de candidemia em 2006 no Hospital das Clínicas da FMUSP.....	47
Tabela 8 - Distribuição das espécies de <i>Candida</i> . isoladas em hemoculturas no ano de 2006 - Hospital das Clínicas da FMUSP.	48
Tabela 9 - Distribuição dos episódios de candidemia e das espécies de <i>Candida</i> segundo faixa etária no Hospital das Clínicas da FMUSP em 2006.	49

Tabela 10- Distribuição dos episódios de candidemia e das espécies de <i>Candida</i> segundo unidade de internação no complexo Hospital das Clínicas da FMUSP em 2006.....	50
Tabela 11 - Perfil de suscetibilidade das espécies de <i>Candida</i> isoladas de hemocultura pelo método de microdiluição Sensititre YeastOne ® no Hospital das Clínicas da FMUSP em 2006.....	52
Tabela 12 - Perfil de suscetibilidade das espécies de <i>Candida</i> isoladas de hemocultura pelo método Etest ® - Hospital das Clínicas da FMUSP no ano de 2006..	53
Tabela 13 - Perfil de suscetibilidade das espécies de <i>Candida</i> isoladas de hemocultura pelo método de disco difusão de acordo com o "Clinical Laboratory Standards Institute" CLSI no Hospital das Clínicas da FMUSP no ano de 2006.....	54
Tabela 14 - Concordância essencial, concordância categórica e tipos de erros observados entre as metodologias utilizadas para teste análise de suscetibilidade aos antifúngicos, microdiluição Sensititre YeastOne ® e Etest ®, para 100 cepas <i>Candida</i> spp. isoladas de hemoculturas no Hospital da Clínicas da FMUSP em 2006.....	55
Tabela 15- Concordância categórica e tipos de erros observados pelo método de disco difusão para avaliar o perfil de suscetibilidade ao fluconazol e voriconazol comparado com os métodos microdiluição Sensititre YeastOne e Etest frente a 100 cepas <i>Candida</i> spp. isoladas em hemoculturas no Hospital das Clínicas da FMUSP no ano 2006.....	56

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

PCR	Reação de Polimerase em Cadeia Métodos
HC- FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
ICHC	Instituto Central.
UTI	Unidade de terapia intensiva.
INCOR	Instituto do Coração.
ICR	Instituto da criança.
IOT	Instituto de ortopedia e trauma.
IPQ	Instituto de psiquiatria.
SIGH	Sistema Integrado de Gestão Hospitalar.
BHI	Brain Heart Infusion.
EUA	Estados Unidos da América.
RYID	"Rapid yeast identification"
UK	Reino Unido
AMB	anfotericina B
CAS	caspofungina
FLU	fluconazol
ITR	itraconazol
VOR	voriconazol
POS	posaconazol

MIC	concentração inibitória mínima
UFC	Unidade formadora de colônia
MOPS	Ácido morfolinepropanesulfônico
CLSI	"Clinical Laboratory Standards Institute"
ATCC	"American Type Culture Collection"
CE	Concordância essencial
CC	Concordância categórica
Me	Erro menor.
M	Erro maior
MG	Erro muito grave
CAP	College of American Pathologists
CDR	<i>Candida</i> drug resistance

RESUMO

Motta AL. **Análise da prevalência e perfil de suscetibilidade das espécies de *Candida*, isoladas em hemoculturas em 2006 Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo** [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2009.

INTRODUÇÃO: Embora a lista dos microrganismos envolvidos em fungemias esteja em expansão, as espécies de *Candida* permanecem como os principais agentes etiológicos, causando morbidade e mortalidade significativas. A introdução de novos antifúngicos na prática clínica tem reforçado a necessidade de estudos que monitorem mudanças na epidemiologia e no perfil de sensibilidade de *Candida* spp. a nível local e global. **OBJETIVO:** Avaliar a prevalência e incidência de candidemia no HC-FMUSP durante o ano de 2006 e determinar o perfil de suscetibilidade das espécies isoladas. **MÉTODOS:** Foi realizado um estudo retrospectivo no qual os pacientes identificados foram caracterizados de acordo com variáveis clínicas disponíveis nos sistemas laboratoriais. A concentração inibitória mínima (MIC) foi determinada pelo método de microdiluição Sensititre YeastOne[®], considerado como referência, além do Etest[®]. As seguintes drogas foram avaliadas: anfotericina B (AMB), caspofungina (CAS), fluconazol (FLU), itraconazol (ITR), voriconazol (VOR) e posaconazol (POS). O método de disco difusão (DD) também foi utilizado para FLU e VOR. Os resultados obtidos pelas três metodologias foram comparados entre si. **RESULTADOS:** A prevalência de *Candida* em hemocultura foi de 3,5%. Foram identificados 136 casos de candidemia e a incidência global foi de 1,87 casos/1.000 admissões hospitalares e 0,27 casos por 1.000 pacientes dia. A mediana de idade foi de 40 anos e 58,1% dos pacientes eram homens. Neoplasia foi a doença de base mais frequente. Na distribuição das espécies, *C. albicans* foi a espécie mais isolada (52,2%), seguida por *C. parapsilosis* (22,1%), *C. tropicalis* (14,8%) e *C. glabrata* (6,6%). O perfil de sensibilidade foi determinado em 100 cepas de *Candida*. Destas, 100% mostraram-se suscetíveis a AMB e CAS; 98 % ao VOR; 91%, ao FLU e 66% ao ITR. Para o POS, MIC₉₀ foi de 0,25 µg/mL. O percentual de concordância essencial (CE) e concordância categórica (CC) entre o teste de referência e o Etest[®] foi > 93%, exceto para o itraconazol (CE 80%, CC 70%). O percentual de CC para o fluconazol e voriconazol pelo DD *versus* Sensititre[®] e Etest[®] foi, respectivamente: FLU 94%, 95% e VOR 96%, 98%. **CONCLUSÃO:** A prevalência a incidência de candidemia encontrada e a distribuição das espécies concordaram com outros dados nacionais. Observou-se uma boa atividade *in vitro* da maioria das drogas para *Candida* spp., exceto itraconazol. Houve uma boa concordância essencial entre os métodos utilizados, exceto também para itraconazol. As discordâncias de categoria observadas entre os métodos resultaram em erros menores na maior parte dos casos.

SUMMARY

Motta AL. **Prevalence and susceptibility profile of *Candida* species isolated from blood culture in 2006 at Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo** [dissertation]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2009.

INTRODUCTION: Although the spectrum of fungi causing bloodstream infections continues to expand, *Candida* species remain responsible for the majority of cases, causing significant morbidity and mortality. The introduction of new antifungal agents in the clinical practice has increased the need for new studies for monitoring changes in the epidemiology and susceptibility profiles of candidemia at a local and global level. **PURPOSE:** To determine the prevalence and incidence of candidemia, species distribution and antifungal susceptibility patterns at large Brazilian tertiary public hospital during 2006. **METHODS:** Data were collected retrospectively. Patients were evaluated for selected variables. The minimal inhibitory concentrations (MIC) were determined using Sensititre YeastOne[®], considered the reference method, and Etest[®]. The following drugs were tested: amphotericin B (AMB); caspofungin (CAS); and posaconazole (POS), fluconazole (FLU) and voriconazole (VOR). The disk diffusion method was also employed for FLU and VOR. MIC results obtained by Etest[®], Sensititre YeastOne[®] and disk diffusion were compared. **RESULTS:** The prevalence of *Candida* spp. from blood cultures was 3,5%. One hundred and thirty-six cases of candidemia were identified. The overall incidence of candidemia was 1,87 cases per 1.000 admissions and 0,27 cases per 1.000 patient-days. 58.1% patients were male and the median age was 40 years. Cancer was the most frequent underlying disease. *C. albicans* was the most commonly identified species (52,2%), followed by *C. parapsilosis* (22,1%), *C. tropicalis* (14,8%) and *C. glabrata* (6,6%). The susceptibility profile of 100 *Candida* spp. isolates was: 100% to AMB B and CAS; 98 % to voriconazole; 91% to fluconazole; and 66% itraconazole. For posaconazole MIC₉₀ was 0,25 µg/mL. The percentage of essential agreement (EA) and categorical agreement (CA) between the reference and test methods was > 93%, except for itraconazole (EA 80%, CA 70%). The (CA) between Sensititre YeastOne[®] versus disk diffusion and Etest[®] versus disk diffusion were respectively: FLU (94%) (95%) and VOR (96%) (98%). Minor errors accounted for the majority of all categorical errors. **CONCLUSION:** The prevalence and incidence of candidemia found in this study were in agreement with previous national reports. There was a good *in vitro* activity for most drugs tested against *Candida* spp. except for itraconazole. A good EA was demonstrated between methods except again for itraconazole. Minor errors accounted for the majority of all categorical errors for between methods.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO.

1.1. Candidemias - Aspectos gerais

Nos últimos trinta anos vários estudos têm documentado o aumento da frequência e diversidade etiológica das infecções fúngicas invasivas relacionadas à assistência a saúde (Pfaller e Diekema, 2007).

Inúmeros fatores contribuíram para o aumento na incidência destas infecções : a) aumento da população de pacientes imunossuprimidos tais como pacientes com aids, oncológicos e diabéticos entre outros; b) avanços diagnósticos e terapêuticos da prática médica moderna, com a utilização de novas e agressivas estratégias no cuidado clínico e cirúrgico de pacientes, incluindo sistemas de suporte de vida, uso mais freqüente de antibióticos de amplo espectro, corticosteróide e drogas imunossupressoras c) o advento de transplante de órgãos e de células-tronco hematopoiéticas com maior sobrevida destes pacientes; d) o aumento da população de idosos, e) evoluções terapêuticas para o tratamento de recém-nascidos prematuros (Diamond, 1991; Morrison et al., 1994; Fridkin e Jarvis, 1996; Pfaller e Wenzel, 2003; Warnok , 2007).

Dentre as infecções fúngicas invasivas podemos destacar as infecções de corrente sanguínea pela alta morbidade e mortalidade a que estão associadas. Um estudo americano sobre sepse envolvendo cerca de 500 hospitais de diferentes regiões geográficas durante um período de 22 anos revelou um aumento de 207% dos casos de fungemia (Martin et al., 2000). Outro estudo dinamarquês de base populacional também

mostrou um aumento crescente dos episódios de fungemia de 1992 a 2004, documentando uma incidência de 11 casos por 100.000 habitantes e 0,49 por 1.000 altas hospitalares (Arendrup et al., 2005).

Embora a lista dos microrganismos envolvidos em fungemias esteja em expansão, as espécies de *Candida* permanecem como os agentes mais comumente associados a estas infecções. Estima-se que aproximadamente 5-15% das infecções de corrente sanguínea (Beck-Sague e Jarvis 1993, Wisplinghoff et al., 2004) e mais de 80% dos casos de fungemia sejam causados por *Candida* spp. (Trick et al., 2002; Eggimann et al., 2003; Wisplinghoff et al., 2004; Colombo et al., 2007; Almeida et al., 2008).

Candidemia tornou-se um problema persistente em inúmeros hospitais ao redor do mundo (McNeil et al., 2001; Wilson et al., 2001; Pfaller e Diekema, 2007). O diagnóstico precoce é difícil e os custos hospitalares decorrentes da internação prolongada são elevados (Girão et al. 2008). Aproximadamente 10.500 a 42.000 casos de candidemia ocorrem nos Estados Unidos anualmente com custos estimados de 44.536 dólares (Rents et al., 1998). Além disso, a despeito dos recentes avanços no cuidado e tratamento destas infecções, a mortalidade permanece a mesma de duas décadas atrás, em torno de 50%. (Wey et al., 1988; Gudlaugsson et al., 2003; Almirante et al., 2005).

A partir da década de 90 vários estudos de vigilância de base laboratorial e populacional foram constituídos num esforço conjunto para elucidação da epidemiologia de candidemia (Eggiman et al., 2003; Pfaller e Dieckema, 2007).

Estes e outros estudos têm revelado importantes diferenças geográficas quanto à incidência de candidemia e distribuição das espécies envolvidas. Alguns centros têm reportado aumento nas taxas de candidemia (Asmundsdottir et al., 2002; Voss et al.,

1996) enquanto que outros relataram uma estabilização (Morgan, 2005) ou diminuição da incidência desta infecção (Garbino et al., 2002).

Na América do Norte, a incidência de candidemia variou de 0,28 a 0,96 casos por 1.000 admissões hospitalares (Jarvis, 1995; Wisplinghoff et al., 2004). No Canadá a incidência de candidemia documentada foi de 0,45 por 1.000 admissões hospitalares. Estudos europeus revelam variações importantes entre os países: 0,28; 0,32; 0,38 casos por 1.000 admissões na França, Alemanha e Suécia, respectivamente e 0,53 casos por 1.000 altas hospitalares na Espanha (Richet et al., 2002; Macphail et al., 2002; Almirante et al., 2004; Tortorano et al., 2004). Na região asiática, as taxas relatadas variam de 1 a 12 casos por 1.000 admissões (Hsueh et al., 2002; Chakrabarti et al., 2008). Na Arábia Saudita um estudo realizado entre os anos 1996-2004, com 98 episódios de candidemia a incidência reportada foi de 0,76 casos por 1.000 altas hospitalares (Al-Tawfiq, 2006)

No Brasil, no maior estudo realizado até o momento, envolvendo 11 hospitais e 712 casos de candidemia, observou-se uma incidência geral de 2,49 casos por 1.000 admissões hospitalares (Colombo et al., 2006). Em 2007, um outro estudo realizado em quatro hospitais de nível terciário da cidade de São Paulo reportou taxas de 1,66 casos por 1.000 admissões hospitalares (Colombo et al., 2007). Mais recentemente, estudo realizado em um hospital de Recife documentou uma incidência de 3,9 casos por 1.000 admissões hospitalares, taxa bem mais elevada do que a reportada em outro hospital do Paraná, com 1,27 casos por 1.000 admissões hospitalares (França et al., 2008; Hinrichesen et al., 2008).

Estudos de base populacional demonstram uma incidência de candidemia de 1,9 a 11 casos/100.000 habitantes por ano na Europa, 6,0 – 24 casos/100.000 habitantes por ano nos Estados Unidos, 2,8 casos/100.000 habitantes ano no Canadá (Pfaller e Diekema, 2007), 2,4 casos/100.000 habitantes na Noruega (Sandven et al., 2006) e 1.81/100,000 na Austrália (Chen et al., 2006)

Em relação à distribuição das espécies de *Candida* envolvidas em fungemia, também foi possível observar diferenças relacionadas a região geográfica, idade e doença de base (Pfaller et al., 1998; Pfaller et al., 2000; Pfaller e Diekema, 2007). Cabe ressaltar que na última década houve um aumento do número de casos envolvendo espécies não-*albicans*. Contudo, *C. albicans* continua a espécie de *Candida* mais comumente isolada. Nos Estados Unidos, Europa e Canadá, *C. glabrata* e *C. parapsilosis* constituem as espécies não-*albicans* mais frequentes (Eggimman et al., 2003; Pfaller e Diekema, 2007, Tortorano et al., 2005) enquanto que no Brasil e América Latina, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* são predominantes (Pfaller et al., 1998; Godoy et al., 2003; Colombo et al., 2006; Colombo et al., 2007; França et al., 2008; Brito et al., 2008).

Quanto aos fatores de risco associados a candidemia, vários trabalhos identificaram a utilização prévia de antibióticos de amplo espectro, quimioterapia, câncer, colonização de mucosa por *Candida* spp., uso de dispositivos médicos, cirurgia gástrica prévia, nutrição parenteral, neutropenia, insuficiência renal prévia ou hemodiálise e prematuridade como fatores de risco independentes a análise multivariada (Nucci e Anaisse, 2001; Colombo et al., 2006; Brito et al., 2006; Colombo et al., 2007; Pfaller e Diekema, 2007).

Em relação ao tratamento destas infecções, por décadas anfotericina B deoxicolato permaneceu como única opção terapêutica. No entanto, nos últimos anos houve uma expansão considerável do arsenal terapêutico. No Brasil, segundo as recomendações do consenso brasileiro, anfotericina B, fluconazol e caspofungina constituem opções para o tratamento de candidemia. Além destas, o voriconazol aparece como alternativa para tratamento de espécies resistentes ao fluconazol (Hazen, Howell, 2007).

1.2. Aspectos microbiológicos de *Candida* spp.

Candida spp. faz parte de flora endógena do trato gastrointestinal dos seres humanos podendo ainda colonizar o trato genitourinário, a pele e mucosas (Dignani et al, 2003; Eggimann et al, 2003; Hazen e Howell, 2007) .

Atualmente existem aproximadamente 200 espécies de *Candida* descritas, sendo que apenas 10% estão envolvidas em infecções nos seres humanos. *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii*, *Candida krusei* e *Candida lusitaniae* constituem as espécies mais comumente associadas a infecções. Entretanto, outras espécies tais como *Candida famata*, *Candida dubliniensis*, *Candida pelliculosa*, *Candida norvergensis* e *C. rugosa* vêm sendo relatadas na literatura principalmente associadas a surtos hospitalares (Eggimann et al, 2003; Hazen e Howell, 2007).

Taxonomicamente as leveduras do gênero *Candida* spp. pertencem ao reino *Fungi*; Filum: *Ascomycota*; Subfilum: *Ascomycotina*; Classe: *Ascomycetes* Ordem:

Saccharomycetales; Família: *Saccharomycetaceae*. O gênero foi criado em 1923 com intuito de agrupar as leveduras associadas a animais de sangue quente e todas as outras que não classificáveis em nenhum outro gênero (Meyer et al., 1998; Dignani et al, 2003; Eggimann et al, 2003).

Estudos moleculares aplicados à taxonomia dos fungos vêm revelando as formas teleomórficas (sexuadas) de varias leveduras previamente desconhecidas e classificadas até então como *Candida* spp. Por conseguinte, tais leveduras tem sido excluídas da classe dos *basidiomicetos* e incorporadas no grupo dos *ascomicetos* que incluem os gêneros *Clavispora* spp. (*C. lusitaniae*), *Debaryomyces* spp. (*C. famata*), *Issatchenkia* spp., *Kluyveromyces* spp., *Pichia* spp., (*C. guilliermondii*), e *Yarrowia* spp. (*C. lipotlitica*) (Dignani et al, 2003; Eggimann et al, 2003; Hazen e Howel, 2007).

Da mesma forma, novas espécies também tem sido descritas. Como exemplo podemos citar *Candida dubliniensis*, caracterizada em 1995 e muito semelhante fenotipicamente a *C. albicans*. Também foram descritas *Candida bracarensis* e *Candida nivariensis*, que guardam estreita relação com *Candida glabrata* (Meyer et al., 1998; Dignani et al, 2003; Hazen e Howell, 2007; Bishop, et al., 2008). Cabe ainda destacar que *C. parapsilosis* é atualmente considerada um complexo de 3 espécies: *C. metapsilosis* (*C. parapsilosis* grupo III), *C. orthopsilosis* (*C. parapsilosis* grupo II) e *C. parapsilosis*, sendo a última a mais comumente isolada (Lockhart et al., 2008).

1.2.1. Biologia Celular e Fatores de virulência.

A expressão de glicoproteínas, secreção de enzimas, formação de hifas, resistência intrínseca aos azólicos e formação de biofilme são considerados importantes fatores de virulência. (Eggimann et al., 2003; Trofa et al., 2008)

A parede celular das leveduras do gênero *Candida* spp. é composta de polissacarídeos, mananas fosforiladas, glucanas e pequenas quantidades de quitina. Polipeptídios e proteínas estão ligados aos polissacarídeos, juntamente com fosfoglicopeptídeos e polímeros. A parede celular tem duas funções importantes: manutenção de integridade celular e interação do microrganismo com o ambiente ao qual está exposto. Esta estrutura é o ponto de contato entre o microrganismo e as células do hospedeiro, podendo também ser alvo de antimicrobianos e da resposta imune. *Candida* spp. tem capacidade de se aderir a tecidos e superfícies através de mecanismos como interação com receptores específicos, forças eletrostáticas de van der Waals e hidrofobicidade (Fidel et al., 1999; Dignani et al, 2003; Trofa et al., 2008).

As mananas atuam como fator de virulência pois favorecem a hidrofobicidade e suprimem a resposta imune do hospedeiro (Dignani et al, 2003; Kojic e Darouiche., 2004; Trofa et al ., 2008) . Enzimas como as do grupo aspartil proteinase tem capacidade de produzir proteólises nas células de defesa do hospedeiro e permitem a translocação das leveduras nos tecidos juntamente com as fosfolipases. As enzimas lípases, caracterizadas pela sua estabilidade em altas temperaturas e resistência à proteólise, têm como finalidade à digestão de lipídeos para aquisição de nutrientes, adesão nas células

do hospedeiro e tecido além da hidrólise inespecífica devido à atividade fosfolipídica entre outras (Eggimann et al 2003; Kojic e Darouiche., 2004; Trofa et al ., 2008).

A formação de hifas também está associada à virulência, favorecendo a infiltração da levedura durante a invasão tecidual (Eggimann et al 2003; Dignani et al, 2003 Kojic e Darouiche., 2004; Trofa et al ., 2008).

O biofilme é outro potente fator de virulência, relacionado a algumas espécies de *Candida*, que se desenvolve quando um microrganismo adere a uma superfície (célula do hospedeiro ou dispositivos externos), produzindo polímeros extracelulares que formam uma matriz, facilitando a adesão. A formação do biofilme ocorre em três etapas. A primeira fase consiste na aderência do microrganismo na superfície, a segunda é caracterizada pela formação da matriz, onde ocorre a mudança da levedura para forma de pseudo-hifa e a terceira por um aumento da matriz, com a formação de uma estrutura tridimensional (fase de maturação). Espécies de *Candida* que formam biofilme apresentam maior resistência às defesas do hospedeiro e também a terapia antifúngica, devido à limitada penetração dessas drogas através da matriz. *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. glabrata*, são espécies que tem capacidade de formar biofilme e nesses casos tem sido associados com dados mais altos de morbidade e mortalidade (Kojic e Darouiche., 2004; Trofa et al ., 2008). Um estudo realizado entre os anos de 2000 - 2004 com um total de 294 pacientes avaliados, a formação de biofilme ocorreu em 80 cepas, representando 27,2% dos casos de candidemia onde *C. tropicalis* foi a mais frequente, seguida de *C. glabrata*, *C. albicans* e *C. parapsilosis*. A mortalidade nos pacientes com formação de biofilme foi significativamente maior 70% versus 45,7% $P < 0,001$ (Tumbarello et al., 2007).

1.2.2. Patogenia.

Leveduras do gênero *Candida* spp. causam um amplo espectro de doenças variando desde infecções cutâneo-mucosas a infecções graves e disseminadas, principalmente em pacientes críticos e imunossuprimidos (Eggimann et al, 2003; Dignani et al, 2003).

Três fatores podem contribuir para o desenvolvimento de candidemia :

(i) Aumento da colonização por *Candida* spp.

a. via endógena: decorrente da utilização de antibióticoterapia de amplo espectro com subsequente supressão da microflora intestinal e supercrescimento de *Candida* spp.

b. via exógena: relacionada a hospitalização prolongada, com aumento do risco de aquisição exógena de *Candida* spp. através das mãos de profissionais de saúde, e/ou contaminação de insumos hospitalares e/ou uso de dispositivos como sondas ventiladores mecânicos e uso de catéter.

(ii) Alterações na integridade da mucosa intestinal levando ao aumento da translocação de *Candida* spp. especialmente em pacientes com neutropênia, mucosite por quimioterapia, desnutridos, queimados e submetidos à cirurgia de grande porte.

(iii) Imunossupressão local ou sistêmica (Eggimann et al, 2003; Dignani et al, 2003; Troffa et al., 2008).

As infecções invasivas causadas por *Candida* são normalmente precedidas de colonização, entretanto a origem exógena das candidemias também tem sido demonstrada (Troffa et al., 2008).

A colonização de pele e mucosas por *Candida* spp. ocorre em apenas 5-15% da população. Em ambiente hospitalar, 50 a 86% dos pacientes internados em UTI tornam-se colonizados por *Candida* spp. Destes, estima-se que cerca de 5 a 30% desenvolvam infecções invasivas por *Candida* spp. (Lunel et al, 1999; Viúdes et al, 2002; Blot et al., 2002, Eggimann et al 2003; Dignani et al 2003).

Um estudo de revisão da literatura que avaliou 21 trabalhos sobre a origem das candidemias, sendo que destes, 11 avaliaram amostras do trato gastrointestinal, 4 analisaram amostras de pele e 6 utilizaram ambas as fontes, concluiu que colonização de trato gastrointestinal é pré-requisito para desenvolver candidemia (Nucci e Anaisse, 2001). Outro estudo que descreve a aquisição nosocomial de fungemia por *C. parapsilosis* em seis recém-nascidos prematuros internados em uma UTI, neonatal na Itália, concluem após análise molecular, que transmissão horizontal ocorreu através da interação direta entre enfermeiras e recém nascidos. O isolado *C. parapsilosis* foi oriundo da conjuntiva de um desses pacientes que desenvolveu posterior candidemia por esta espécie. Esses achados esclarecem a possibilidade de colonização e ou infecção prévia de outros sítios, além do trato gastrointestinal como origem das candidemias (Lupetti et al., 2002).

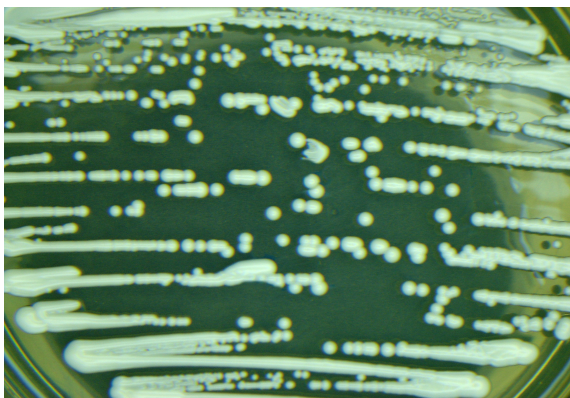
1.2.3. Diagnóstico laboratorial

Um diagnóstico precoce e rápido de candidemia é altamente desejável, podendo contribuir para instituição de terapêutica antifúngica adequada e diminuição de morbimortalidade. (Egimann et al., 2003; Guery et al 2008).

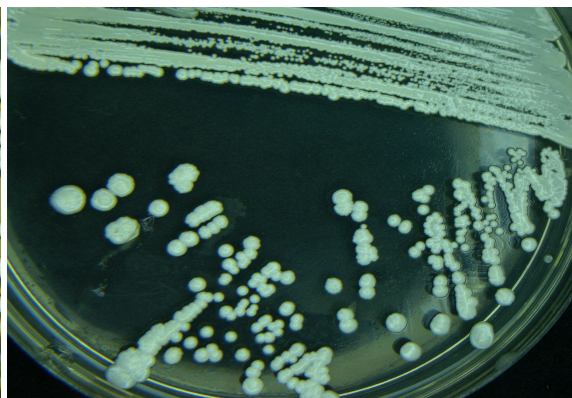
Contudo, mesmo com os avanços tecnológicos observados nos últimos anos, o diagnóstico das candidemias permanece um desafio, sendo feito tardiamente na maioria dos casos. Os sinais e sintomas dessas infecções são inespecíficos e os métodos microbiológicos tradicionais, amplamente utilizados nos laboratórios de rotina, apresentam sensibilidade limitada. (Egimmann et al., 2003; Guery et al 2008)

O isolamento em cultura com posterior identificação das leveduras do gênero *Candida* ainda é a metodologia mais utilizada e disponível na maioria dos laboratórios clínicos. Estima-se que mesmo os sistemas automatizados de hemocultura detectem apenas metade dos casos de candidemia (Egimmann et al., 2003; Ellepola e Morrison, 2005)

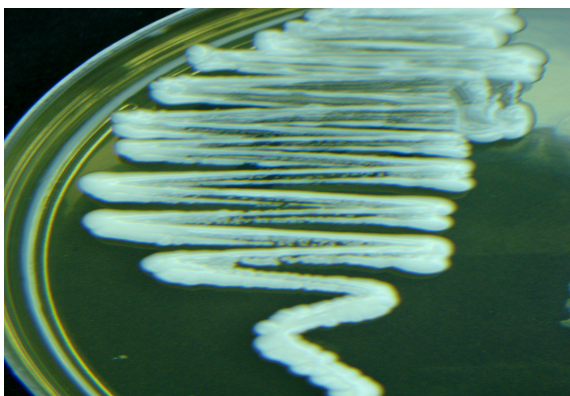
A identificação laboratorial das leveduras do gênero *Candida* leva em consideração características macro e micromorfológicas das colônias associadas ao perfil bioquímico. Macromorfológicamente apresentam colônias de coloração branca a creme, com texturas cremosas ou membranosas exibindo superfície variável de lisa a sulcada, brilhante ou opaca (Figura 1) (Egimmann et al., 2003; Dignani et al, 2003; Lacaz et al., 2002). Do ponto de vista micromorfológico formam pseudo-hifas e/ou hifas verdadeiras, sendo que o arranjo e disposição das estruturas em ágar fubá Tween 80, tais como os blastoconídios, (Figura 2) auxiliam na identificação das espécies (Dignani et al 2003; Lacaz et al, 2002).



C. albicans: Em ágar sabouraud, aparece com cor branca a creme, textura cremosa, superfície lisa e brilhante



C. parapsilosis: Em ágar sabouraud, as colônias aparecem na cor branca-creme, textura cremosa, superfície sulcada com aspecto “rendado” e bordas irregulares



C. glabrata: Em ágar sabouraud, as colônias são pequenas, aparecem na cor branca-creme, com textura cremosa, superfície lisa e brilhante e bordas regulares



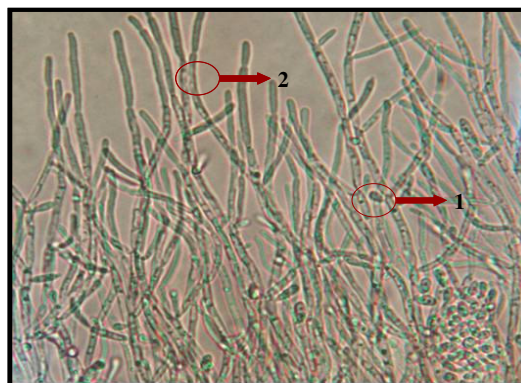
C. krusei: Em ágar sabouraud, as colônias aparecem na cor branca a creme, com textura veludosa, superfície umbilicada, seca e borda irregular

Figura 3. Características Macromorfológicas das principais *Candida* spp. Foto: Seção de Microbiologia do HC-FMUSP.



Candida albicans

1. Clamidósporos terminais: Estruturas redondas de parede espessa 2. Blastocónidios: São ovais e formam aglomerados no septo da pseudohifa



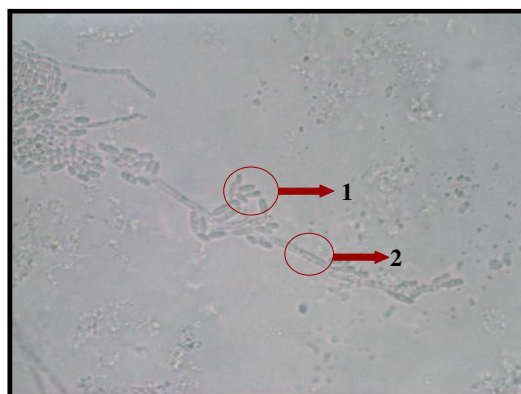
Candida parapsilosis

1 – Blastocónidios: Aparecem de forma única ou em pequenos aglomerados ao longo da pseudohifa. 2 – PSEUDOHIFA: aparência tortuosa ou curva, podendo aparecer pseudohifas largas denominadas células gigantes.



Candida tropicalis

1. Blastocónidios: Únicos ou em pequenos grupos ao longo de pseudohifa. 2 – Pseudohifa: Longa e delicada com rara produção de clamidósporos em forma de lágrima



Candida krusei

1. Blastocónideos dispostos verticalmente na constrição da pseudohifa. Tem forma alongada com aspecto de palitos de fósforo cruzados. 2. Pseudohifas: Alongadas, delgadas e ramificadas como galhos

Figura 4. Micromorfologia das principais *Candida* spp. Foto: Seção de Microbiologia HC-FMUSP.

Atualmente, a grande maioria dos testes comerciais implantados em laboratórios clínicos são baseados na assimilação de açúcares e outros substratos, como o nitrato e a uréia. Na Tabela 1 pode-se observar a performance de diferentes metodologias fenotípicas utilizadas para identificação e espécies de leveduras (Freydiere et al., 2001).

Tabela 1- Correlação entre metodologias utilizadas para identificação de leveduras.

Métodos automatizados				
Método identificação	Método de referência	Número de cepas/ número espécies	% de correlação com espécies comuns	% de correlação com espécies incomuns
Rapid id yeast plus	API 20 C AUX	447/36	95,7	79,1
VITEK YBC	API 20 C AUX	398/26	99,2	94,1
Biolog YT	Convencional	140	37	70
Métodos não automatizados				
Método identificação	Método de referência	Número de cepas/ número espécies	% de correlação com espécies comuns	% de correlação com testes complementares
API 20 C AUX	Convencional	506/21	88,5	96
API 20 C AUX	Convencional	1093/21	-	98
Fungifast	Convencional	202/19	91	-
API Candida	API 20 C AUX	198/16	71,7	91,4

Nota: Dados retirados da referência Freydiere et al., 2001

As limitações relacionadas ao diagnóstico tradicional das candidemias têm estimulado o desenvolvimento de novas técnicas diagnósticas. Métodos baseados na detecção de mananas, β -d-glucana e ácidos nucleicos tem sido avaliados com sensibilidade e especificidade variáveis. Em um estudo caso controle que avaliou a performance do teste β -d-glucana no diagnóstico provável ou possível de infecções

fúngicas invasivas, a sensibilidade e especificidade observada para candidemia foi de 69.9% e 87.1%, respectivamente. Houve ainda um elevado número de resultados falsos positivos tornando necessária uma maior padronização deste teste antes da implementação em rotina (Ostrosky-Zeichner et al, 2005).

Os resultados dos estudos baseados na detecção de manana exibem uma melhor performance quando comparados a β -d-glucana. E a análise combinada da detecção de antígenos e anticorpos demonstra dados de sensibilidade e especificidade de 80 e 93% respectivamente, aparecendo como uma alternativa promissora para o diagnóstico dessas infecções (Sendid et al., 2002; Guery et al., 2008). A detecção de oligomanoses combinada (α e β) demonstrou sensibilidade de 95%, e valor preditivo positivo e negativo de 79 e 97%, respectivamente. Esses achados evidenciam que a detecção desses epítomos durante a candidiase experimental e em humanos parecem contribuir com a melhora da sensibilidade e do tempo no diagnóstico das candidemias (Sendid et al., 2004).

A biologia molecular apresenta-se como uma ferramenta no diagnóstico das candidemias e a reação de polimerase em cadeia (PCR) é uma das metodologias utilizadas para amplificar o ácido desoxirribonucléico (DNA) dos fungos. Os alvos mais comumente utilizados para amplificação, as regiões 5.8S; 18S; 28S do ácido ribonucléico ribossomal (RNAr), a região "internal transcribed spacer" (ITS) ou a região "intergenic spacer" (IGS).

O PCR em tempo real consiste de duas sondas de DNA uma marcada na região 3' com fluoresceína e outra na 5' com um fluoróforo. E a diferenciação das espécies tem

sido feitas através da análise de curvas de fusão (melting-curves). Além disso técnicas de sequenciamento de DNA para fungos de importância médica incluindo *Candida* spp. tem sido utilizadas e podem ser uma alternativa aos microrganismos de identificação questionável (Ellepola e Morrison., 2005; Innings et al., 2007; Vollmer et al., 2008; Guery et al., 2008;)

1.2.4. Teste de suscetibilidade aos antifúngicos.

Com as relevantes taxas de incidência e mortalidade observadas para candidemia e com o aumento do número e consumo dos antifúngicos disponíveis para o tratamento e prevenção destas infecções (Pfaller e Diekema, 2007; Colombo et al., 2007), ganha importância o teste de sensibilidade aos antifúngicos. Com o antifungigrama é possível detectar e monitorar padrões de resistência de *Candida* spp. além de auxiliar os clínicos na escolha apropriada de terapêutica antifúngica (Kanafani e Perfect 2007).

Atualmente a metodologia de referência utilizada para realizar o antifungigrama é a diluição em caldo, padronizada pelo "Clinical Laboratory Standards Institute" (CLSI) em 1997, para leveduras do gênero *Candida* spp. *Cryptococcus*, apresentando uma boa reprodutibilidade intralaboratorial e interlaboratorial (Rex et al., 2001; Cuenca-Estrella et al., 2002) A diluição em caldo apresenta como desvantagem o fato de ser muito trabalhosa e de aplicação limitada na maioria dos laboratórios de rotina. Além disso, os resultados dos testes demoram 48 horas e a leitura é visual, o que pode levar a subjetividades na determinação do MIC, particularmente para drogas azólicas que são sabidamente fungistáticas.

Após a padronização do teste, houve a necessidade de desenvolver metodologias alternativas mais aplicáveis na rotina clínica laboratorial. Atualmente, sistemas comerciais têm sido avaliados comparativamente com a diluição em caldo com resultados satisfatórios, dependendo da metodologia avaliada. O Etest[®] (AB Biodisk, Sweden) e Sensititre Yeast One[®] (Trek, UK), são exemplos de testes comerciais aprovados pelo "Food Drug Administration" (FDA) (FDA, 2003), que apresentam uma boa correlação com a metodologia de referência, variando entre 75% a 100%, dependendo da associação antifúngico testado *versus* espécie de *Candida* avaliada (Chang et al., 2001; Chryssanthou, 2001; Morace et al., 2002; Catón et al., 2006; Magill et al., 2006; Alexander et al., 2007; Diekema et al., 2007; Pfaller et al., 2008c). Estes dois métodos apresentam como vantagem a determinação da concentração inibitória mínima (MIC) em 24 horas. Em 2004, o CLSI padroniza o método de disco difusão para *Candida* spp, documento M 44A, com de pontos de corte estabelecidos apenas fluconazol e voriconazol (CLSI, 2004).

Vários estudos nacionais e internacionais referentes ao perfil de sensibilidade de *Candida* spp, frente aos antifúngicos utilizando diferentes metodologias tem sido publicados. Na tabela 2 estão sumarizados os resultados de estudos referentes ao perfil de suscetibilidade realizados no Brasil e no mundo.

Tabela 2- Estudos de perfil de suscetibilidade de *Candida* spp.

Referência/ País	Número de cepas	Drogas	% de cepas resistentes	% de cepas sensíveis
Colombo et al., 2006/Brasil	712	Anfotericina B	0	-
		Fluconazol	0,4	-
		Itraconazol	1,8	-
		5 flucitosina	1,1	-
		Voriconazol	0,1	-
Colombo et al., 2007/Brasil	274	Anfotericina B	0,6	-
		Fluconazol	1,5	-
		Itraconazol	0,6	-
		5 flucitosina	1,1	-
Pfaller et al 2008/ 100 centros no mundo	10.000	Fluconazol	2,5	-
		Voriconazol	0,9	-
		Posaconazol*	1,2	-
Pfaller et al, 2008/ 91 centros no mundo	5.346	Caspofungina	0,1	-
		Anidulafungina	1,2	-
		Micafungina	0	-
Peman et al., 2005/ Espanha	293	Anfotericina B	-	91
		5 Flucitosina	-	99
		Fluconazol	-	87
		Itraconazol	-	61
		Voriconazol	-	92
Ostrosky-Zeichner/EUA	2.000	Anfotericina B	0,8	-
		5 Flucitosina	3	-
		Fluconazol	6	-
		Itraconazol	18	-
Almitante et al., 2005/Espanha	345	Anfotericina B	-	100
		5 Flucitosina	-	0
		Fluconazol	-	93
Pfaller et al 2001/ EUA	589	Fluconazol	-	90
		Ravuconazol*	-	98
		Voriconazol	-	98
Pfaller et al 2001/ América Latina	132	Fluconazol	-	98
		Ravuconazol*	-	99
		Voriconazol	-	99
Pfaller et al 2001/ Europa	302	Fluconazol	-	90
		Ravuconazol*	-	98
		Voriconazol	-	99

Apesar de não existirem pontos de corte publicados para essas drogas os autores consideraram isolados sensíveis, quando os MIC \leq 1 μ g/mL

1.2.5. Resistência a drogas antifúngicas.

O conceito de resistência é um fenômeno que ocorre *in vitro* e que pode estar relacionado com falha terapêutica. Contudo, esse fator isolado não é componente único que ocasiona a não resposta clínica. Fatores relacionados a farmacocinética e farmacodinâmica da droga em questão assim como fatores relacionados ao hospedeiro (situação imune; sítio de infecção; severidade da infecção; uso de dispositivos externos e doença da base) associados ainda a fatores da espécie causadora de infecção (tipo de células; sorotipos; capacidade de formar biofilme; morfologia; estabilidade genômica; tamanho da população e MIC da espécie) podem resultar em isolado com aparente sensibilidade *in vitro* e ausência de resposta clínica (Pfaller et al., 2006).

1.2.6. Mecanismos de resistência

Azólicos: Fluconazol e os demais azólicos agem inibindo o citocromo P 450, que ativa a enzima 14- α -demetilase convertendo o lanosterol em ergosterol. Com isso, ocorre a destruição da síntese da membrana celular da célula fúngica (Figura 3).

Os mecanismos de resistência para compostos azólicos estão relacionados a modificações na quantidade e qualidade da enzima, reduzindo o acesso ao alvo da droga que pode acontecer por diferentes mecanismos.

Mutações no gene ERG 11, gene responsável por codificar a 14- α -demetilase, levam a formação de um alvo alterado, com conseqüente decréscimo de afinidade aos azólicos. Outro mecanismo de resistência é superexpressão do gene ERG 11, levando a

um aumento na concentração da enzima alvo, sendo necessário uma maior quantidade do azol para inibir a síntese da membrana celular.

Além destes, bombas de efluxo retiram a droga de dentro da célula através da ativação de dois tipos de sistema de transporte: o codificado por genes "multi-drug resistance" (MDR) e outro codificado pelos genes "*Candida*-drug-resistance" (CDR). A super-regulação dos genes MDR₁ leva ao aumento dos MICs apenas para fluconazol, enquanto que a super-regulação de genes MDR resulta em MICs elevados a múltiplos azólicos e resistência cruzada entre as drogas dessa classe (Pfaller et al., 2006; Yang et al., 2006; Kanafani e Perfect 2007; Espinel-Ingroff, 2008).

Equinocandinas: As equinocandinas agem inibindo a síntese da 1,3-β-d-glucan da parede celular da célula fungica resultando na lise celular (Figura 3). Existem atualmente três drogas pertencentes a essa classe: anidulafungina, caspofungina e micafungina, todas com atividade fungicida contra espécies de *Candida* spp, incluindo espécies com resistência aos azólicos e poliênos .

Dois mecanismos de resistência tem sido descritos para essas drogas. O primeiro está relacionado a mutações na região "hot spot" do gene FKS₁, que codifica componentes do complexo de enzimas da síntese da glucana. O segundo é resultado da superexpressão da Sbe2p, uma proteína envolvida no transporte dos componentes da parede celular. O primeiro mecanismo está mais associado a cepas com MICs maiores que 2 mg/mL para caspofungina (Balashov et al., 2006; Park et al., 2005; Baixench et al., 2007; Perlin, 2007; Kahn et al., 2007; Clearly et al., 2008; Efron-Garcia et al., 2008; Espinel-Ingroff, 2008).

Poliênos: Anfotericina B, age na síntese do ergosterol com consequente formação de uma porina e destruição da membrana celular da célula fúngica (Figura 3).

Resistência a esses compostos parece ser associada à quantidade e qualidade do ergosterol que parecem estar associados aos genes ERG 2, ERG 3 (Pfaller et al., 2006; Kanafani e Perfect, 2007; Espinel-Ingroff, 2008).

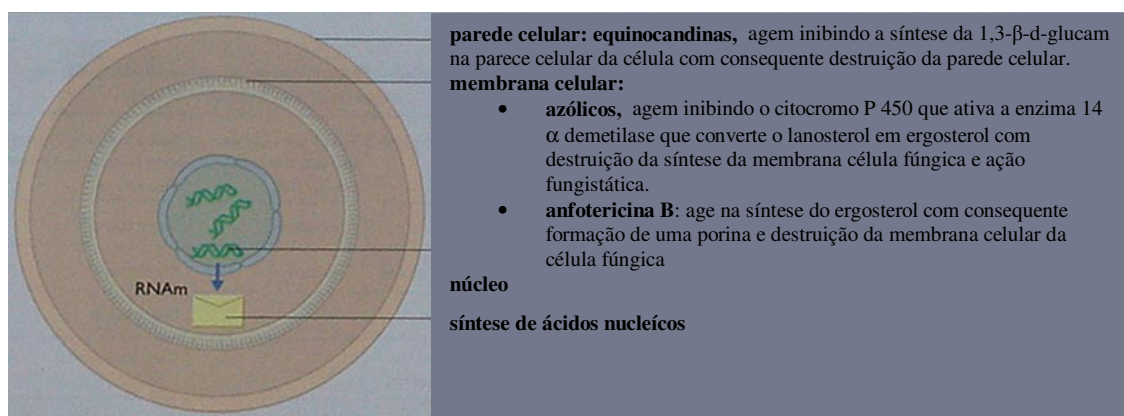


Figura 5. Mecanismo de ação das principais drogas antifúngicas

1.3. Justificativa.

Inúmeros estudos epidemiológicos sobre candidemia têm revelado variações nas taxas de incidência de candidemia e distribuição das espécies de acordo com a região geográfica, ressaltando a importância do conhecimento epidemiológico local para o controle e tratamento destas infecções.

O HC-FMUSP um hospital público, terciário é o maior complexo hospitalar da América Latina. O conhecimento dos dados de prevalência, incidência e distribuição de

espécies de *Candida* isoladas de sangue, bem como seus respectivos perfis de suscetibilidade, são dados relevantes mas ainda não disponíveis em nosso serviço.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Principais.

- Avaliar a prevalência de *Candida* spp. isoladas de hemocultura no Hospital das Clínicas (HC) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) no ano de 2006.
- Analisar a distribuição das espécies de *Candida* isoladas de hemocultura.
- Determinar o perfil de suscetibilidade para anfotericina B, caspofungina, fluconazol, itraconazol e voriconazol pelo método de microdiluição em caldo.
- Caracterizar a atividade *in vitro* do posaconazol.

2.2. Objetivos secundários.

- Determinar a incidência de candidemia no HC-FMUSP e nos diferentes institutos que compõe o complexo.
- Comparar os resultados obtidos de três métodos de sensibilidade aos antifúngicos.

3. MÉTODOS

3. MÉTODOS.

3.1. Local do estudo.

O estudo foi realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), um hospital público universitário, de nível terciário, com aproximadamente 2500 leitos. O complexo HC-FMUSP engloba cinco hospitais que proporcionam atendimento multidisciplinar a uma população diversa, incluindo pacientes imunossuprimidos. O Instituto Central (ICHC) é o maior deles, com 1061 leitos de enfermarias e 111 leitos de unidade de terapia intensiva (UTI). No ICHC são acompanhados pacientes transplantados de órgãos sólidos (rim, fígado, rim-pâncreas) e transplantados de células-tronco hematopoiéticas. No prédio anexo ao Instituto estão localizadas as unidades de atendimento ambulatorial e hospital-dia para pacientes sob quimioterapia. Os seguintes hospitais também fazem parte do complexo HC-FMUSP: Instituto do Coração (INCOR), hospital especializado em pacientes com cardiopatias, com 496 leitos de enfermarias e 145 leitos de UTI, onde são realizados transplantes de coração e pulmão; Instituto da Criança (ICR), hospital pediátrico com 236 leitos de enfermaria e 85 de UTI; Instituto de Ortopedia (IOT) com 176 leitos, sendo 12 leitos de UTI e o Instituto de Psiquiatria (IPQ), com 129 leitos de enfermarias. O HC-FMUSP conta ainda com uma rede de hospitais auxiliares, incluindo: Hospital Estadual do Sapopemba, Hospital Auxiliar do Cotoxó e Hospital Auxiliar de Suzano.

3.2. Desenho do estudo.

O estudo realizado foi do tipo retrospectivo, baseado em resultados laboratoriais, no qual todas as cepas de *Candida* spp. isoladas de hemocultura na Seção de Microbiologia do HC-FMUSP no período compreendido de 1 janeiro a 31 de dezembro de 2006 foram avaliadas quanto à epidemiologia e perfil de suscetibilidade para drogas antifúngicas.

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para análise de projetos de pesquisa do HC-FMUSP.

3.3. Localização dos Casos.

Os pacientes atendidos no Complexo HC-FMUSP com hemocultura positiva para *Candida* spp. foram identificados a partir dos registros do banco de dados do sistema de informação laboratorial. Durante o período do estudo, dois sistemas laboratoriais foram utilizados: sistema HC-LAB - de 01 de janeiro a 19 de novembro de 2006 - e Sistema Integrado de Gestão Hospitalar (SIGH) - de 20 de novembro a 31 de dezembro de 2006.

3.4. Definições e variáveis de interesse.

Candidemia foi definida como isolamento de *Candida* spp. em uma ou mais hemoculturas. Apenas uma amostra por paciente foi incluída no estudo, exceto quando o mesmo paciente apresentou isolamento de mais de uma espécie de *Candida*, ou ainda

quando houve isolamento do mesmo microrganismo 30 dias após a primeira hemocultura positiva.

Após identificação dos pacientes com candidemia, foram coletados os seguintes dados: instituto do complexo onde se encontrava o paciente no momento da primeira hemocultura positiva para *Candida* spp., clínica de origem (ambulatório, enfermaria e unidade de terapia intensiva - UTI), dados demográficos e doença de base.

Para os cálculos de densidade de incidência, utilizamos os dados de admissões hospitalares e pacientes-dia, que foram obtidos junto às comissões de controle de infecção nosocomial dos respectivos institutos ou através de solicitação através do serviço de arquivo médico.

3.5. Microbiologia.

3.5.1. Processamento das amostras de sangue.

Todas as hemoculturas coletadas a critério clínico foram processadas em sistema automatizado Bactec 9240 ® (Becton Dickinson, EUA) utilizando-se os frascos Bactec ® Plus + Aerobic/F, Plus + Anaerobic/F e PEDS-Plus/F. Os balões coletados foram incubados a 35 °C por 5 dias de acordo com protocolo da Seção de Microbiologia do HC-FMUSP. Posteriormente, todos os frascos positivos foram submetidos à coloração de Gram e semeados concomitante em ágar sangue (Oxoid, EUA), ágar chocolate (Oxoid, EUA) ágar MacConkey (Oxoid, EUA). A observação de leveduras à

microscopia foi sucedida de semeadura em meios específicos para fungos, a saber, ágar Sabouraud (Oxoid, EUA) e/ou meio cromogênico para espécies de *Candida* (CHROMagar Microbiology, EUA).

3.5.2. Identificação das cepas.

As cepas de *Candida* spp. isoladas de hemocultura foram inicialmente identificadas de acordo com a rotina da Seção de Microbiologia através do sistema automatizado Microscan ® painel "Rapid yeast identification" RYID (Dade Bohering, EUA), e/ou API 20C AUX ® (BioMerieux, França). Provas bioquímicas adicionais e análise micromorfológica das colônias foram realizadas quando necessário. Após identificação, os isolados foram armazenados no banco de cepas em freezer a -80° C, em caldo "Brain Heart Infusion" - BHI (Oxoid, EUA) com 2% de ágar (BBL, EUA) e 40% de glicerol (Nuclear, Brasil).

Posteriormente, todas as cepas estocadas durante o período do estudo foram repicadas em ágar cromogênico (CHROMagar Microbiology, EUA) e incubadas por 24-48 horas a 37° C, protegidas da luz, para verificação de viabilidade e pureza. Todas as cepas puras e viáveis foram submetidas aos testes do tubo germinativo e micromorfologia em ágar fubá tween 80 (Oxoid, EUA). Quanto tubo germinativo negativo e micromorfologia em ágar fubá tween 80 (Oxoid, EUA), não evidenciou a presença de clamidósporos, espécies foram reidentificadas através do sistema API 20C AUX ® (BioMerieux, França).

3.6. Teste de suscetibilidade aos antifúngicos.

O perfil de suscetibilidade aos antifúngicos foi determinado frente a 100 isolados viáveis de *Candida* spp. para os seguintes antifúngicos: anfotericina B (AMB), caspofungina (CAS), fluconazol (FLU), itraconazol (ITR), voriconazol (VOR), posaconazol (POS) e através das metodologias de microdiluição Sensititre YeastOne[®] (TREK, - UK), considerada padrão ouro no presente estudo, Etest[®] (AB Biodisk, Sweden) e disco difusão, neste caso apenas para (FLU) e (VOR).

O teste de suscetibilidade aos antifúngicos, foi realizado em 5 lotes, (20 cepas por lote) após re-identificação e suspensão das cepas.

Para todas as metodologias utilizadas na determinação do perfil de suscetibilidade, as leituras para determinação das concentrações inibitórias mínimas (MICs) e diâmetros dos halos de inibição, foram realizados de forma independente por dois técnicos previamente treinados.

3.6.1. Preparo da suspensão padrão de leveduras.

Cepas puras e viáveis com crescimento em até 24 horas em ágar Sabouraud (Oxoid, EUA) foram suspensas em 5 mL de solução salina a 0,85% para o Etest[®] e disco difusão e em 5 mL água destilada para microdiluição Sensititre YeastOne[®]. Cada suspensão foi agitada vigorosamente e sua densidade ótica ajustada até o padrão 0,5 da escala de McFarland que corresponde a um inóculo de 1×10^7 a 1×10^8 unidades

formadoras de colônia UFC/ml, através da utilização de um turbidímetro (Hach Company, EUA).

3.6.2. Microdiluição em caldo - Sensititre YeastOne ®.

Considerada metodologia de referência no presente estudo, a microdiluição em caldo foi realizada através do sistema colorimétrico Sensititre YeastOne ® (Trek, UK),.

O Sensititre YeastOne ® é um painel de microdiluição em caldo comercial, no qual a placa de microtitulação contém um indicador colorimétrico de crescimento denominado azul de alamar juntamente com os seguintes antifúngicos liofilizados em diluições seriadas (\log_2): (A) Posaconazol (0,008-8 $\mu\text{g/mL}$); (B) Anfotericina B (0,008-16 $\mu\text{g/mL}$); (C) Fluconazol (0,125-256 $\mu\text{g/mL}$); (D) Itraconazol (0,008-16 $\mu\text{g/mL}$); (E) Cetoconazol (0,008-16 $\mu\text{g/mL}$); (F) 5-Flucitosina (0,03-64 $\mu\text{g/mL}$); (G) Voriconazol (0,008-16 $\mu\text{g/mL}$); e (H) Caspofungina (0,008-16 $\mu\text{g/mL}$). A figura 4 ilustra painel Sensititre YeastOne ® demonstrando a sequência das drogas com suas respectivas concentrações e a determinação das concentrações inibitórias mínimas (MICs) destacadas através das setas.

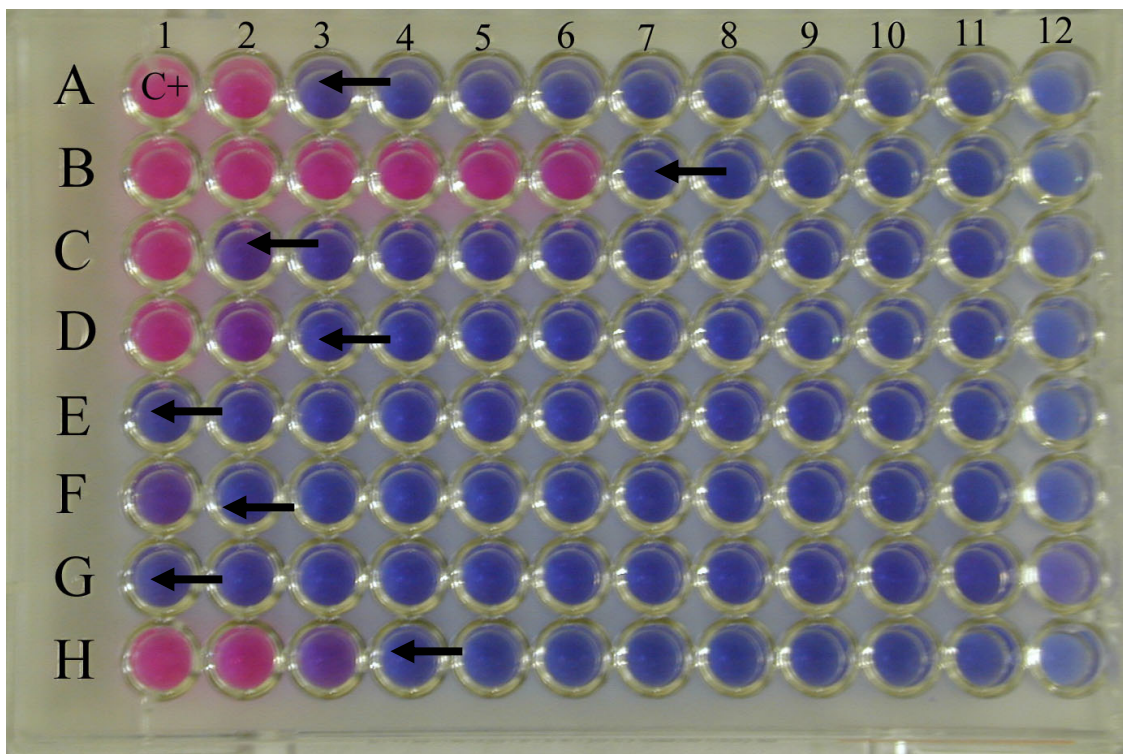


Figura 6. Placas Sensititre YeastOne® (Trek, UK). Nas linhas de A - H encontram-se as seguintes drogas em diluições seriadas (\log_2): (A) Posaconazol (0,008-8 $\mu\text{g/mL}$); (B) Anfotericina B (0,008-16 $\mu\text{g/mL}$); (C) Fluconazol (0,125-256 $\mu\text{g/mL}$); (D) Itraconazol (0,008-16 $\mu\text{g/mL}$); (E) Cetoconazol (0,008-16 $\mu\text{g/mL}$); (F) 5-Flucitosina (0,03-64 $\mu\text{g/mL}$); (G) Voriconazol (0,008-16 $\mu\text{g/mL}$); e (H) Caspofungina (0,008-16 $\mu\text{g/mL}$); (C+) Controle positivo. As setas indicam os pontos no qual foram determinadas as concentrações inibitórias mínimas (MIC).

O procedimento foi realizado de acordo com as recomendações do fabricante, no qual: Após preparo da suspensão de leveduras conforme item (3.6.1), 20 μL dessa suspensão foi adicionada em 11 mL do caldo YeastOne® (Trek, UK) composto de meio RPMI 1640, tamponado com ácido morfolinepropanesulfônico (MOPS). Posteriormente, o conteúdo desse inóculo foi dispensado em caneta estéril e com o auxílio de uma micropipeta de 12 canais, 100 μL dessa solução foi transferida para os poços da placa de microdiluição. O inóculo final obtido correspondeu a uma concentração de 1,5 a 5×10^3

células /mL. Em seguida, os painéis foram incubados a 35° C e analisados após 24 horas. Para os casos em que não houve crescimento da cepa no poço controle positivo, a leitura do teste foi realizada após 48 horas de incubação.

O MIC ($\mu\text{g/mL}$) foi determinado na menor concentração do antifúngico que inibiu o crescimento do microrganismo detectado visualmente através da mudança da cor rosa ou púrpura para a cor azul (Figura 4).

Os valores de MICs obtidos para as drogas 5 Flucitosina e cetoconazol não foram avaliados no presente estudo.

3.6.3. Gradiente de Difusão em ágar - Etest ®.

O Etest ® é um método elipsométrico de gradiente difusão em ágar, que consiste em uma fita plástica impregnada com diferentes concentrações das drogas capaz de determinar MICs ($\mu\text{g/mL}$).

O Etest foi preparado de acordo com as instruções do fabricante que descreve: após preparo da suspensão de leveduras, conforme item 3.6.1, com o auxílio de um swab, a mesma foi semeada em meio RPMI 1640 tamponado (MOPS), suplementado com 1,5% de ágar e 2% de glicose (Probac, Brasil) em três direções de forma a cobrir toda a superfície do ágar por duas vezes. Após 15 minutos a temperatura ambiente, as fitas de Etest ® (AB Biodisk, Sweden) (4 fitas por placa de 150 mm) foram aplicadas na superfície do meio e as placas foram incubadas a 35 ° C. Após 24 horas de incubação ou 48 horas para os casos em que não houve crescimento na primeira leitura. Os valores de

MICs ($\mu\text{g/mL}$) para anfotericina B foram determinados na concentração onde a elipse interceptou a fita do Etest $\text{\textcircled{R}}$ no ponto onde ocorreu 100% de inibição do crescimento (Figura 5 A). Para os azólicos e caspofungina, os valores de MICs ($\mu\text{g/mL}$) foram determinados na concentração onde a elipse interceptou a fita do Etest $\text{\textcircled{R}}$ no ponto onde ocorreu 80% de inibição do crescimento (Figuras 5 B e C).

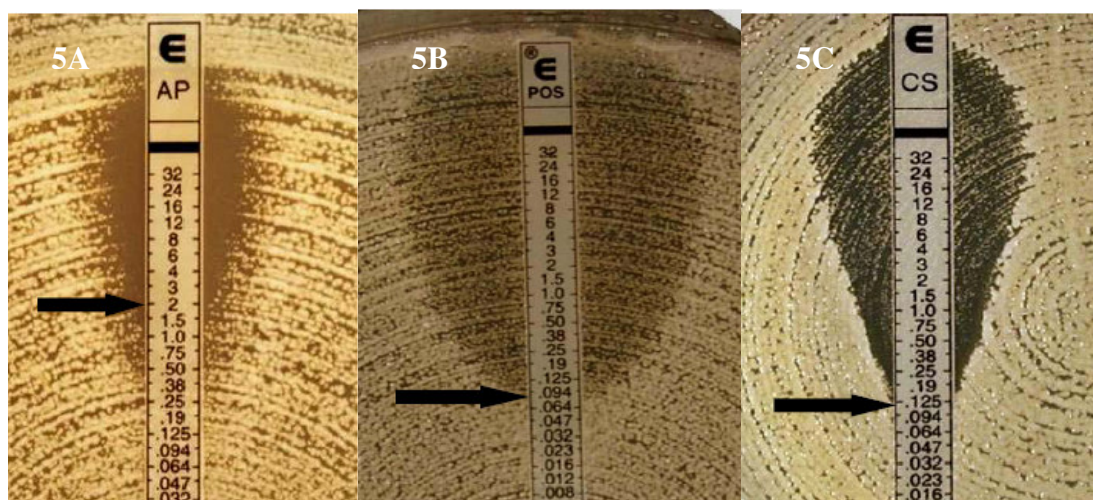


Figura 7. Interpretação do MIC através da fita Etest (AB Biodisk, Slona, Sweden) A - Anfotericina B; B- Azólicos e C -Caspofungina. B.

3.6.4. Disco Difusão.

O teste de suscetibilidade aos antifúngicos pelo método de disco difusão foi realizado conforme descrito no documento M 44 A, padronizado pelo "Clinical Laboratory Standards Institute" CLSI (CLSI, 2004). Após preparo da suspensão de leveduras, conforme item 3.6.1, com o auxílio de um swab, a mesma foi semeada em meio de Mueller-Hinton (Oxoid, EUA) suplementado com 2% de glicose e $0,5\mu\text{g/mL}$ de azul de metileno. Posteriormente, após 15 minutos a temperatura ambiente, discos de

fluconazol - 25 µg/mL (Oxoid, EUA) e voriconazol - 1 µg/mL (Oxoid, EUA), foram aplicados nas placas, que em seguida foram incubadas a 35 °C, por 24 horas. Leituras de 48 horas só foram realizadas quando não ocorreu crescimento dos isolados em 24 horas.

A leitura do diâmetro do halo foi considerada na região onde ocorreu redução proeminente do crescimento marcado pela diminuição do tamanho e densidade das colônias.

3.6.5. Pontos de corte utilizados para categorização dos isolados.

De acordo com os pontos de corte estabelecidos, segundo CLSI, as cepas podem ser categorizadas como sensível (S), sensível dependente da dose (SDD), resistente (R) e não sensível (NS) (CLSI, 2004; CLSI, 2008).

Para categorização dos isolados através de metodologias de microdiluição Sensititre YeastOne® e Etest®, utilizamos os pontos de corte descritos no documento M 27 A3 (CLSI, 2008) - Tabela 3, para a metodologia de disco difusão utilizamos os pontos de corte descritos no documento M 44A, (CLSI, 2004) - Tabela 4. Segundo CLSI documento M 27 A3 (CLSI, 2008) para Anfotericina B - não existem pontos de corte estabelecidos, contudo isolados com MICs > 1µg/mL parecem ser resistentes a essa droga conforme proposto por (Nguyen et al., 1998). Para caspofungina isolados com MICs > 2 µg/mL são caracterizados como não suscetível. Para posaconazol devido à ausência de critérios interpretativos, a droga foi avaliada apenas quanto à atividade *in vitro*.

Tabela 3- Valores das concentrações inibitórias mínimas estabelecidos para interpretação do teste de sensibilidade aos antifúngicos para *Candida* spp. segundo "Clinical Laboratory Standard Institute" Documentos M27 A3.

Drogas antifúngicas	MIC ($\mu\text{g/mL}$)			
	S	SDD	R	NS
Caspofungina	≤ 2	-	-	> 2
Fluconazol	≤ 8	16 - 32	≥ 64	-
Itraconazol	≤ 0.125	0.25 - 0.5	≥ 1	-
Voriconazol	≤ 1	2	≥ 4	-

Nota: (MIC $\mu\text{g/mL}$) - Concentração inibitória mínima em microgramas por mililitro; (S) - sensível; (SDD) - sensível dependente da dose; (R) resistente; (NS) - não sensível.

Tabela 4- Diâmetros dos halos de inibição estabelecidos para interpretação do teste de sensibilidade aos antifúngicos para *Candida* spp. segundo "Clinical Laboratory Standard Institute" documento M 44 A.

Drogas antifúngicas	Halos em mm		
	S	SDD	R
Fluconazol	≥ 19	15 - 18	≤ 14
Voriconazol	≥ 17	14 - 16	≤ 13

Nota: (S) - sensível; (SDD) - sensível dependente da dose; (R) resistente; (mm) milímetros cúbicos.

3.7. Controle de qualidade.

O controle de qualidade foi realizado para cada bateria de teste de suscetibilidade para as três metodologias com as cepas padrão "American Type Culture Collection" ATCC recomendadas pelo CLSI, *C. parapsilosis* ATCC 22019 e *C. krusei* ATCC 6258.

Também foi realizado um controle do inóculo para as diferentes metodologias. Para o teste de microdiluição Sensititre YeastOne®, 10 μL do poço controle positivo de cada cepa testada foi semeado em uma placa de ágar sabouraud dextrose e incubado a 35 °C por 48 horas. O inóculo foi considerado adequado quando houve o crescimento de 15

a 80 UFC em cada placa. Para o Etest[®] e disco difusão, uma diluição prévia de 1:1000 do inóculo em solução salina 0.85% foi realizado e posteriormente 10 µL dessa diluição final foi semeado e incubado como descrito anteriormente. O inóculo foi considerado adequado quando houve crescimento de 10 a 50 UFC por placa. Quando verificado discrepâncias no inóculo, os testes foram repetidos.

3.8. Definições utilizadas para análise de concordância entre os métodos utilizados para determinar o perfil de sensibilidade.

Para comparação entre o Etest[®] com o método de microdiluição em caldo Sensititre YeastOne[®], todos os valores de MICs obtidos através do Etest[®], que estiveram entre duas diluições seriadas (\log_2), tiveram seus resultados aproximados para a diluição mais alta (Alexander et al., 2007).

Na comparação entre duas metodologias, utilizadas para determinar o perfil de suscetibilidade, leituras foram consideradas concordantes quando não houve variação entre valores de MICs obtidos entre a metodologia de referência (microdiluição Sensititre YeastOne[®]) e a metodologia teste (Etest[®] e disco difusão) maior que duas diluições ou ainda quando não ocorreu mudança entre as categorias de interpretação de susceptibilidade (S, SDD, R, NS) aos antifúngicos testados. Quando detectado uma ou ambas situações, discrepâncias foram submetidas a repetição e/ou releitura dos testes.

Posteriormente os métodos avaliados foram classificados em concordância essencial e categórica que foram definidas como:

Concordância essencial (CE), foi considerada quando o resultado do MIC obtido através do método de referência (Sensititre YeastOne ®- Trek, UK) e método teste (Etest ®) diferiram entre si em até no máximo duas diluições.

Concordância categórica (CC), foi considerada quando o resultado obtido nos métodos testes (Etest ® e disco difusão) e o método de referência (microdiluição Sensititre YeastOne ®) foram classificados dentro da mesma categoria (S, SDD, R, NS), segundo pontos de corte do CLSI, documentos M 27A3, (CLSI, 2008) ou M 44A, (CLSI, 2004).

Quando observado resultados discordantes em relação à categorias de suscetibilidade estas discordâncias foram classificadas em erros.

- Erro menor EM (minor errors): para isolados categorizados como S ou R pela metodologia de referência e resultado SDD pelos métodos testes , ou ainda quando, obtido resultado SDD pela metodologia de referência e resultado S ou R pelo método teste .
- Erro grave EG (major errors): para isolados classificados como S pela metodologia de referência e R pelo método teste (falsa resistência).
- Erro muito grave EMG (very major errors): para isolados classificados como R pela metodologia de referência e S pelo método teste - (falsa sensibilidade).

3.9. Análise estatística.

Dados categóricos foram analisados através dos testes do qui quadrado ou Fischer, quando apropriado. Foi considerado resultado estatisticamente significativo quando o valor do $p < 0,005$.

Dados de incidência, foram calculadas pelo número de casos de candidemia no numerador, dividido pelo número de admissões hospitalares ou pacientes dia no denominador vezes 1.000.

Os resultados obtidos através de dois testes, utilizados na análise do perfil de suscetibilidade foram comparados entre si, calculando a porcentagem de:

- CE - obtida pelo número de isolados com MICs concordantes, segundo critério definido no item 3.8 no numerador dividido pelo número de isolados testados no denominador.
- CC - Obtida pelo número de isolados concordantes em categorias no numerador dividido pelo número de isolados testados no denominador.
- EM - Obtida pelo número de isolados discordantes em uma categoria no numerador dividido pelo número de isolados testados no denominador.
- EG - Obtida pelo número de isolados falsamente resistentes no numerador dividido pelo número de isolados testados no denominador.
- EMG - Obtida pelo número de isolados falsamente sensíveis no numerador dividido pelo número de isolados testados no denominador.

A análise de regressão linear através do coeficiente de Pearson foi utilizada para avaliar a correlação entre os resultados obtidos entre:

- Os valores de MICs encontrados na microdiluição Sensititre YeastOne ® *versus* Etest ®.
- O diâmetro dos halos de inibição observados para o voriconazol e fluconazol *versus* valores de MICs para estas drogas obtidos pelo Etest ® e pela microdiluição Sensititre YeastOne ®.

Essas análises foram realizadas através do software Whonet versão 5.4.

O índice de concordância entre os resultados obtidos após categorização (S, SDD, R e NS) foi obtido através da análise kappa realizada no software Minitab versão 15.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS.

4.1. Prevalência.

Durante o período de estudo foram analisadas 3.937 hemoculturas positivas. A presença de fungos foi observada em 4,0% (158/3.937) das amostras. *Candida* spp., apresentou uma prevalência de 3,5% (136/3.937) sendo o nono microrganismo mais comumente isolados de sangue (Tabela 5). Dentre as 158 hemoculturas positivas para fungos, 86,1 % (136/158) corresponderam a *Candida* spp., 4,4% *Cryptococcus* spp. (7/158) e 3,2% Fungos filamentosos (5/158) (Tabela 6).

Tabela 5 - Ocorrência dos dez principais microrganismos isolados de hemocultura em 2006 no Hospital das Clínicas da FMUSP.

<i>Candida</i> spp.	Número (%)
<i>Staphylococcus</i> coagulase negativo (SCN)	1.031 (26,2)
<i>Staphylococcus aureus</i>	529 (13,4)
<i>Klebsiela pneumoniae</i>	239 (6,1)
<i>Acinetobacter baumani</i>	216 (5,5)
<i>Escherichia coli</i>	200 (5,1)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	193 (4,9)
<i>Enterobacter cloacae</i>	170 (4,3)
<i>Enterococcus faecalis</i>	139 (3,5)
<i>Candida</i> spp.	136 (3,5)
<i>Streptococcus</i> grupo <i>viridans</i>	87 (2,2)
Outros	997 (25,3)
Total	3.937 (100)

Tabela 6 - Distribuição dos principais fungos isolados de hemocultura no ano de 2006 no Hospital das Clínicas da FMUSP.

Fungos isolados de sangue	n (%)
<i>Candida</i> spp.	136 (86,1)
<i>Cryptococcus</i> spp.	7 (4,4)
Fungos filamentosos	5 (3,2)
<i>Rhodotorula</i> spp.	4 (2,5)
<i>Pichias</i> spp.	3 (1,9)
Outras leveduras	3 (1,9)
Total	158 (100)

O isolamento concomitante entre *Candida* spp. e bactérias ocorreu em 8,8% (12/136) dos episódios de candidemia. As bactérias envolvidas nestes casos foram: *Staphylococcus* coagulase negativo (5 casos); *Enterococcus faecalis* (1 caso); *Enterococcus faecium* (1 caso); *Pantotea agglomerans* (1 caso); *Staphylococcus aureus* (1 caso); *Stenotrophomonas maltophilia* (1 caso); *Streptococcus* grupo *viridans* (1 caso) e *Bacillus* spp. (1 caso). Isolamento entre espécies diferentes de fungos, aconteceu em 3% (4/136) das candidemias, a saber: 1 caso de *C. albicans* com *C. glabrata*, 1 caso de *C. albicans* com *C. tropicalis* e 2 casos de *C. albicans* com *C. parapsilosis*.

4.2. Incidência.

Cento e trinta casos de candidemia foram documentados nos 5 hospitais que pertencem ao HC-FMUSP. Além desses, tivemos 6 casos isolados de pacientes internados nos hospitais auxiliares, totalizando 136 episódios de candidemia.

A incidência de candidemia no complexo foi de 1,87 (122/65.276) casos por 1.000 admissões hospitalares e 0,27 (122/455.546) por 1.000 pacientes dia. Para análise dos dados de incidência, foram excluindo os pacientes ambulatoriais três casos do Hospital

do Sapopemba, pois não foi possível obter os números referentes a admissões ou pacientes dia. Os dados de incidência por instituto do complexo HC-FMUSP variaram até 7,26 casos por 1.000 admissões hospitalares, sendo o Instituto da Criança o hospital onde foi observado a maior incidência de candidemia (Figura 6).

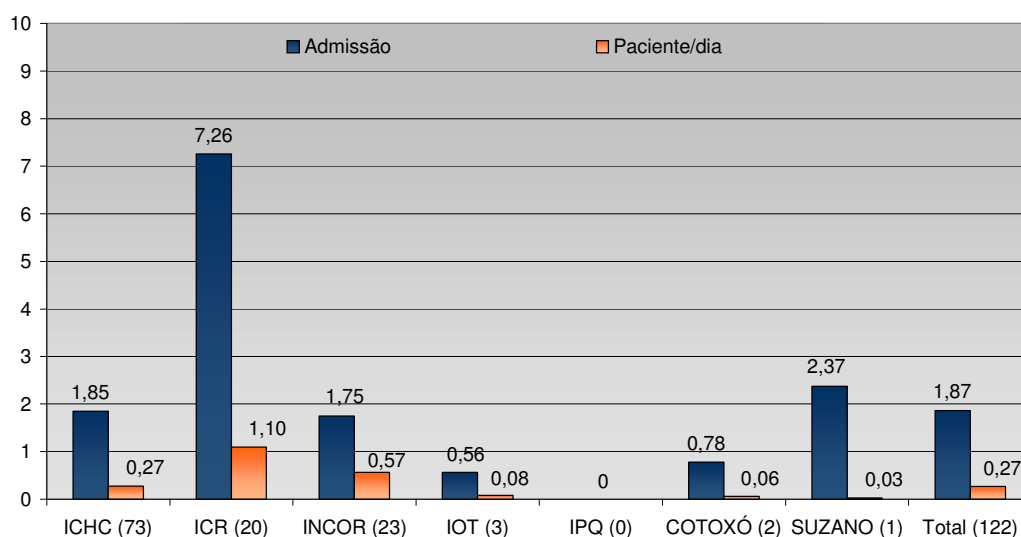


Figura 8. Incidência de candidemia em 2006 nos diferentes hospitais do complexo Hospital das Clínicas da FMUSP.

C. albicans e espécies não-*albicans*, tiveram incidência de 1,00 e 0,87 casos por 1.000 admissões, respectivamente. *C. parapsilosis* foi a segunda espécie de mais incidente (0,37/1.000 admissões) seguida de *C. tropicalis* (0,28/1.000 admissões) e *C. glabrata* (0,14/1.000 admissões). Quando analisamos os dados de incidência por espécie de *Candida* spp. nos hospitais do complexo podemos observar algumas diferenças que estão sumarizados na Tabela 7.

Tabela 7- Incidência e distribuição de *Candida* spp. isoladas de hemocultura por Instituto do Hospital das Clínicas da FMUSP em 2006.

<i>Candida</i> spp	ICHC		ICR		INCOR		IOT		Cotoxó		Suzano		Total	
	ADM	Pac/dia	ADM	Pac/dia	ADM	Pac/dia	ADM	Pac/dia	ADM	Pac/dia	ADM	Pac/dia	ADM	Pac/dia
<i>C. albicans</i> (66)	1,01	0,15	3,63	0,55	0,91	0,31	0,38	0,05	0	0	2,37	0,03	1,0	0,17
<i>C. parapsilosis</i> (26)	0,27	0,05	2,90	0,44	0,30	0,10	0	0	0,39	0,03	0	0	0,37	0,05
<i>C. tropicalis</i> (18)	0,25	0,04	0,73	0,11	0,38	0,12	0	0	0,39	0,03	0	0	0,28	0,04
<i>C. glabrata</i> (9)	0,20	0,03	0	0	0,08	0,02	0	0	0	0	0	0	0,14	0,02
<i>C. krusei</i> (2)	0,03	0	0	0	0,08	0,02	0	0	0	0	0	0	0,03	0,004
<i>C. guilliermondii</i> (1)	0,03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,02	0,002
<i>C. lusitanae</i> (1)	0,03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,02	0,002
<i>C. pelliculosa</i> (1)	0	0	0	0	0	0	0,18	0,03	0	0	0	0	0,02	0,002
<i>C. utilis</i> (1)	0,03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,02	0,002
Total (125)	1,85	0,27	7,26	1,10	1,75	0,57	0,56	0,08	0,78	0,06	2,37	0,03	1,87	0,27
Admissões (ADM)	39397		2755		13113		5313		2563		422		65276	
Pacientes dia (Pac/dia)	265774		18251		40585		38369		33936		39887		455546	

Nota: Instituto Central (ICHC); Instituto da Criança (ICR); Instituto do Coração (IOT); Instituto de Ortopedia (IOT).

4.3. Dados demográficos dos pacientes com candidemia

A maioria dos pacientes eram homens (58,1%), a idade variou entre menor que um mês a 87 anos, a média de idade dos pacientes foi de 34,4 anos, mediana de 40 anos e moda menor que um ano de idade.

Foi possível encontrar a doença de base em 95,5% (126/132) dos pacientes com candidemia. Neoplasia foi à doença de base mais freqüente (30,9%) seguida de prematuridade (13,2%). A Tabela 8 demonstra que não houve diferença significativa entre a distribuição de *C. albicans* e *C. não albicans* em relação a nenhuma doença de base.

As variáveis avaliadas nesse estudo para os pacientes com candidemia, estão descritas no anexo I.

Tabela 8 - Distribuição de *Candida albicans* e *Candida* não *albicans* de acordo com doença de base dos 136 episódios de candidemia em 2006 no Hospital das Clínicas da FMUSP.

Sexo	<i>C. albicans</i>	<i>C. não albicans</i>	Total	Valor de P
Neoplasias órgão sólido	14	11	25	0,67
Prematuridade	9	9	18	0,84
Neoplasias Onco-hematologias	7	10	17	0,33
Doenças cardíacas	8	6	14	0,69
Doenças neurológicas	4	4	8	0,89
Transplante de órgãos	4	3	7	0,79
Doenças auto-imunes	3	3	6	0,91
Doenças gastro - intestinais	4	2	6	0,47
Doenças pulmonares	4	1	5	0,20
Doenças de pele e partes moles	1	4	5	0,14
Doenças vasculares	1	3	4	0,27
HIV	2	2	4	0,93
Politrauma	3	1	4	0,35
Doenças genéticas hereditárias	2	1	3	0,61
Doenças renais	2	0	2	0,17
Tuberculose	1	0	1	0,33
Diabetes Mellitus	1	0	1	0,33
Doença de base não encontrada	1	5	6	NA

NA: não avaliado

4.4. Distribuição das espécies de *Candida*

A distribuição de todas as espécies de *Candida* isoladas durante o período do estudo está sumarizada na Tabela 9, sendo *C. albicans* 52,2% (71/136), *C. parapsilosis* 22,1% (30/136); *C. tropicalis* 14,8 % (20/136) e *C. glabrata* 6,6 % (9/136), as quatro espécies mais comumente isoladas de sangue.

Tabela 9 - Distribuição das espécies de *Candida*. isoladas de hemoculturas no ano de 2006 - Hospital das Clínicas da FMUSP.

<i>Candida</i> spp	n (%)
<i>C. albicans</i>	71 (52,2)
<i>C. parapsilosis</i>	30 (22,1)
<i>C. tropicalis</i>	20 (14,8)
<i>C. glabrata</i>	9 (6,6)
<i>C. krusei</i>	2 (1,5)
<i>C. guilliermondii</i>	1 (0,7)
<i>C. lusitanae</i>	1 (0,7)
<i>C. pelliculosa</i>	1 (0,7)
<i>C. utilis</i>	1 (0,7)
Total	136 (100)

Para análise da distribuição das espécies de *Candida* spp. segundo faixa etária, observamos que *C. albicans* foi a espécie mais comumente encontrada em todos os grupos, entretanto espécies não-*albicans* tiveram uma ocorrência de 50,0% (16/32) em pacientes menores de 1 ano, 52,6 % (10/19) em crianças entre 1 e 15 anos; 44,6% (36/65) nos adultos entre 16 a 65 anos; 50,0% (10/20) para pacientes com 65 anos ou mais, com isso não houve diferença estatisticamente significativa na distribuição de *C. albicans* e *C. não albicans* quando analisadas por faixa etária.

A Tabela 10 demonstra distribuição dos episódios de candidemia e das espécies de *Candida* segundo faixa etária onde entre as espécies não *albicans*, *C. tropicalis* foi a mais comumente isolada em todos os grupos exceto em crianças menores de um ano onde *C. parapsilosis* esteve associada em 46,9% (15/32) dos casos de candidemia.

Tabela 10 - Distribuição dos episódios de candidemia e das espécies de *Candida* segundo faixa etária no Hospital das Clínicas da FMUSP em 2006.

Candidemia/idade n (%)	32 (23,5)	19 (14,0)	65 (47,8)	20 (14,7)
<i>Candida</i> spp.	< 1 ano	≥ 1 a ≤ 15	≥ 16 a ≤ 64	≥ 65
	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)
<i>C. albicans</i>	16 (50)	9 (47,4)	36 (55,4)	10 (50)
<i>C. parapsilosis</i>	15 (46,9)	4 (21,1)	9 (13,9)	2 (13,0)
<i>C. tropicalis</i>	0 (0)	5 (26,3)	10 (15,4)	5 (25,0)
<i>C. glabrata</i>	1 (3,1)	0 (0)	6 (9,2)	2 (10)
<i>C. krusei</i>	0 (0)	0 (0)	2 (3,1)	0 (0)
<i>C. guilliermondii</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2)
<i>C. lusitanaeae</i>	0 (0)	1 (5,2)	0 (0)	0 (0)
<i>C. pelliculosa</i>	0 (0)	0 (0)	1 (1,5)	0 (0)
<i>C. utilis</i>	0 (0)	0 (0)	1 (1,5)	0 (0)

Com relação à distribuição das espécies de *Candida* por unidade de internação, *Candida albicans* foi a espécie mais frequentemente isolada nos pacientes internados. A frequência de espécies não-*albicans* foi de 54,5% (6/11) nos pacientes ambulatoriais, 47,3% (43/91) para os pacientes internados em enfermarias e 47,1% (16/18) em UTIs, sendo *C. glabrata* a segunda espécie não *albicans* mais frequente, encontrada em diferentes UTI, com 3 casos no mês de junho, 1 caso do mês de julho, agosto e outubro (Tabela 11).

Tabela 11- Distribuição dos episódios de candidemia e das espécies de *Candida* segundo unidade de internação no complexo Hospital das Clínicas da FMUSP em 2006.

Candidemia/unidade n (%)	11 (8,0)	91 (67,0)	34 (25,0)
<i>Candida</i> spp.	Ambulatório n (%)	Enfermaria n (%)	UTI n (%)
<i>C. albicans</i>	5 (45,5)	48 (52,7)	18 (52,9)
<i>C. parapsilosis</i>	4 (36,4)	19 (20,9)	7 (20,6)
<i>C. tropicalis</i>	2 (18,1)	16 (17,6)	2 (5,9)
<i>C. glabrata</i>	0 (0)	3 (3,3)	6 (17,7)
<i>C. krusei</i>	0 (0)	2 (2,2)	0 (0)
<i>C. guilliermondii</i>	0 (0)	1 (1,1)	0 (0)
<i>C. lusitaneae</i>	0 (0)	1 (1,1)	0 (0)
<i>C. pelliculosa</i>	0 (0)	1 (1,1)	0 (0)
<i>C. utilis</i>	0 (0)	0 (0)	1 (2,9)

Nota: UTI - Unidade de terapia intensiva

4.5. Identificação das cepas viáveis de *Candida* spp.

Inicialmente, o sistema de identificação automatizado MicroScan ®, foi utilizado para identificar os 136 isolados de *Candida* spp. Somente 100 cepas viáveis foram submetidas a reavaliação. Os testes utilizados com esta finalidade: crescimento em meio cromogênico, teste do tubo germinativo, características micro e macromorfológicas e teste de assimilação de carboidratos através do teste API 20C AUX ®, confirmaram os resultados anteriores (Anexo II), com 100% de concordância.

4.6. Perfil de suscetibilidade.

Os resultados do perfil de suscetibilidade para 100 cepas de *Candida* spp., incluindo: 56 *C. albicans*, 21 *C. parapsilosis*, 14 *C. tropicalis*, 4 *C. glabrata*, 2 *C. krusei* e 1 cepa de *C. guilliermondii*, *C. pelliculosa* e *C. lusitaniae* avaliadas individualmente através das metodologias Sensititre YeastOne[®], Etest[®] e disco difusão estão descritos nos Anexos III e IV.

A porcentagem de isolados sensíveis (S), assim como os valores das concentrações inibitórias mínimas (MICs) que inibiram 90% e 50% dos isolados (MIC₉₀), (MIC₅₀) e intervalo de variação dos MICs (ranges), obtidos para cada antifúngico por espécie de *Candida* através da metodologia de microdiluição Sensititre YeastOne[®] e Etest[®], podem ser observados nas Tabelas 12 e 13 respectivamente e o perfil de suscetibilidade segundo disco difusão está descrito na Tabela 14.

Nos resultados obtidos pela microdiluição Sensititre YeastOne[®], anfotericina B e caspofungina apresentaram 100% dos isolados (S). Para os azólicos, voriconazol foi a droga que apresentou maior número de isolados sensíveis (98%) com 1 isolado de *C. glabrata* e outro de *C. tropicalis* classificados como sensível dependente da dose (SDD) e itraconazol foi a droga que apresentou maior número de isolados resistente (R) e SDD com 8% (8/100) e 26% (26/100) de ocorrência, respectivamente. O posaconazol demonstrou boa atividade *in vitro* com MIC₉₀ de 0,25 µg/mL MICs e mais elevados encontrados para *C. glabrata* (32 µg/mL) e *C. guilliermondii* (4 µg/mL).

Tabela 12 - Perfil de suscetibilidade das espécies de *Candida* isoladas de hemocultura pelo método de microdiluição Sensititre YeastOne[®] no Hospital das Clínicas da FMUSP em 2006.

Espécie (n) Drogas	S	SDD	R	MIC ₉₀	MIC ₅₀	Range
	n (%)	n (%)	n (%)	µg/mL	µg/mL	
<i>C. albicans</i> (56)						
Anfotericina B	56 (100)	0 (0)	0 (0)	1	0,5	0,125-1
Caspofugina	56 (100)	0 (0)	0 (0)	0,5	0,064	0,016-2
Fluconazol	55 (98,2)	1 (1,8)	0 (0)	1	0,5	0,125-16
Itraconazol	48 (85,7)	8 (14,3)	0 (0)	0,25	0,064	0,008-0,5
Voriconazol	56 (100)	0 (0)	0 (0)	0,016	0,008	0,008-0,5
Posaconazol	NC	NC	NC	0,064	0,032	0,016-0,25
<i>C. parapsilosis</i> (21)						
Anfotericina B	21 (100)	0 (0)	0 (0)	1	0,5	0,032 - 1
Caspofugina	21 (100)	0 (0)	0 (0)	1	0,5	0,032 - 1
Fluconazol	17 (81,0)	4 (19,0)	0 (0)	16	2	0,125 - 16
Itraconazol	11 (52,3)	9 (42,9)	1 (4,8)	0,25	0,125	0,008 - 1
Voriconazol	21 (100)	0 (0)	0 (0)	0,125	0,032	0,008 - 0,125
Posaconazol	NC	NC	NC	0,125	0,064	0,016 - 0,25
<i>C. tropicalis</i> (14)						
Anfotericina B	14 (100)	0 (0)	0 (0)	1	0,5	0,25-1
Caspofugina	14 (100)	0 (0)	0 (0)	0,25	0,064	0,016-0,5
Fluconazol	14 (100)	0 (0)	0 (0)	4	2	0,25-8
Itraconazol	3 (21,4)	7 (50)	4 (28,6)	1	0,25	0,016-16
Voriconazol	13 (92,9)	1 (7,1)	0 (0)	0,5	0,125	0,008-2
Posaconazol	NC	NC	NC	1	0,25	0,016-1
<i>C. glabrata</i> (4)						
Anfotericina B	4 (100)	0 (0)	0 (0)	—	0,5	0,5-1
Caspofugina	4 (100)	0 (0)	0 (0)	—	0,25	0,125 - 1
Fluconazol	2 (50)	1 (25,0)	1 (25,0)	—	8	1,0-64
Itraconazol	1 (25,0)	1 (25,0)	2 (50)	—	0,5	0,064-16
Voriconazol	3 (75,0)	1 (25,0)	0 (0)	—	0,125	0,016 - 2
Posaconazol	NC	NC	NC	—	4	1,0-32
<i>C. krusei</i> (2)*						
Anfotericina B	2 (100)	0 (0)	0 (0)	—	1	1,00
Caspofugina	2 (100)	0 (0)	0 (0)	—	0,25	0,5-0,25
Fluconazol	0 (0)	0 (0)	2 (100)	—	64	64-128
Itraconazol	1 (50)	1 (50)	0 (0)	—	0,125	0,125-0,5
Voriconazol	2 (100)	0 (0)	0 (0)	—	0,032	0,032-0,5
Posaconazol	NC	NC	NC	—	0,25	0,25-1
Outras (3)						
Anfotericina B	3 (100)	0 (0)	0 (0)	—	0,5	0,25 - 0,5
Caspofugina	3 (100)	0 (0)	0 (0)	—	0,032	0,032 - 2
Fluconazol	3 (100)	0 (0)	0 (0)	—	1	0,5 - 4
Itraconazol	2 (66,7)	0 (0)	1 (33,3)	—	0,032	0,008 - 16
Voriconazol	3 (100)	0 (0)	0 (0)	—	0,008	0,008 - 0,125
Posaconazol	NC	NC	NC	—	0,064	0,016 - 4
Total (100)						
Anfotericina B	100 (100)	0 (0)	0 (0)	1	0,5	0,032-1
Caspofugina	100 (100)	0 (0)	0 (0)	0,5	0,064	0,016-2
Fluconazol	91 (91,0)	6 (6,0)	3 (3,0)	8	0,5	0,125-128
Itraconazol	66 (66,0)	26 (26,0)	8 (8,0)	0,5	0,125	0,008-16
Voriconazol	98 (98,0)	2 (2,0)	0 (0)	0,125	0,008	0,008-2
Posaconazol	NC	NC	NC	0,25	0,032	0,016-32

Nota: (S) Sensível; (SDD) Sensível dependente da dose; (R) Resistente; (NC) Não categorizado uma vez que não existem pontos de corte estabelecidos para posaconazol; (MIC) Concentração inibitória mínima. MIC₉₀ foi calculado apenas para isolados com n de cepas maior que 10. * Cepa com resistência intrínseca para o fluconazol.

Tabela 13 - Perfil de suscetibilidade das espécies de *Candida* isoladas de hemocultura pelo método Etest® - Hospital das Clínicas da FMUSP no ano de 2006.

Espécie (n) Drogas	S	SDD	R	MIC ₉₀	MIC ₅₀	Range
	n (%)	n (%)	n (%)	µg/mL	µg/mL	µg/mL
C. albicans (56)						
Anfotericina B	56 (100)	0 (0)	0 (0)	0,5	0,125	0,016-1
Caspofungina	56 (100)	0 (0)	0 (0)	1	0,125	0,016-1
Fluconazol	56 (100)	0 (0)	0 (0)	0,5	0,125	0,125-4
Itraconazol	49 (87,5)	6 (10,7)	1 (1,8)	0,25	0,016	0,008-1
Voriconazol	56 (100)	0 (0)	0 (0)	0,064	0,008	0,008-0,125
Posaconazol	NC	NC	NC	0,064	0,008	0,008-0,064
C. parapsilosis (21)						
Anfotericina B	21 (100)	0 (0)	0 (0)	0,125	0,125	0,032 - 0,5
Caspofungina	19 (90,5)	0 (0)	2 (9,5)	2	1	0,064 - 4
Fluconazol	21 (100)	0 (0)	0 (0)	4	0,5	0,125 - 8
Itraconazol	16 (76,2)	3 (14,3)	2 (9,5)	0,5	0,032	0,008 - 1
Voriconazol	21 (100)	0 (0)	0 (0)	0,064	0,016	0,008 - 0,125
Posaconazol	NC	NC	NC	0,25	0,016	0,016 - 0,5
C. tropicalis (14)						
Anfotericina B	14 (100)	0 (0)	0 (0)	1	0,125	0,016 - 1
Caspofungina	14 (100)	0 (0)	0 (0)	1	0,125	0,064 - 2
Fluconazol	14 (100)	0 (0)	0 (0)	1	0,25	0,125 - 1
Itraconazol	11 (78,6)	1 (7,1)	2 (14,3)	1	0,016	0,008 - 32
Voriconazol	14 (100)	0 (0)	0 (0)	0,032	0,016	0,008-0,032
Posaconazol	NC	NC	NC	0,25	0,064	0,008 - 0,125
C. glabrata (4)						
Anfotericina B	4 (100)	0 (0)	0 (0)	1	-	0,125-1
Caspofungina	4 (100)	0 (0)	0 (0)	1	-	0,125 - 1
Fluconazol	2 (50)	1 (25,0)	1 (25,0)	256	-	0,125 - 256
Itraconazol	1 (25,0)	0 (0)	3 (75,0)	32	-	0,016 - 32
Voriconazol	3 (75,0)	0 (0)	1 (25,0)	0,125	-	0,008 - 4
Posaconazol	NC	NC	NC	32	-	0,008 - 32
C. krusei (2)						
Anfotericina B	2 (100)	0 (0)	0 (0)	0,25	-	0,032 - 0,25
Caspofungina	2 (100)	0 (0)	0 (0)	0,5	-	0,064- 0,5
Fluconazol	1 (50)	0 (0)	1 (50)	64	-	0,125 - 64
Itraconazol	2 (100)	0 (0)	0 (0)	0,125	-	0,016 - 0,125
Voriconazol	2 (100)	0 (0)	0 (0)	0,125	-	0,008 - 0,125
Posaconazol	NC	NC	NC	0,25	-	0,064 - 0,25
Outras (3)						
Anfotericina B	3 (100)	0 (0)	0 (0)	0,5	-	0,016 - 0,5
Caspofungina	3 (100)	0 (0)	0 (0)	2	-	0,016 - 2
Fluconazol	3 (100)	0 (0)	0 (0)	4	-	0,032 - 4
Itraconazol	2 (66,7)	0 (0)	1 (33,3)	32	-	0,008 - 32
Voriconazol	3 (100)	0 (0)	0 (0)	0,064	-	0,008 - 0,064
Posaconazol	NC	NC	NC	4	-	0,008 - 4
Total (100)						
Anfotericina B	100 (100)	0 (0)	0 (0)	0,5	0,125	0,016-1
Caspofungina	98 (98,0)	0 (0)	2 (2,0)	1	0,125	0,016-4
Fluconazol	97 (97,0)	1 (1,0)	2 (2,0)	4	0,25	0,125-256
Itraconazol	81 (81,0)	10 (10)	9 (9,0)	0,5	0,032	0,008-32
Voriconazol	99 (99,0)	0 (0)	1 (1,0)	0,064	0,008	0,008-4
Posaconazol	NC	NC	NC	0,25	0,016	0,008-32

Nota: (S) Sensível; (SDD) Sensível dependente da dose; (R) Resistente; (NC) Não categorizado uma vez que não existem pontos de corte estabelecidos para posaconazol; (MIC) Concentração inibitória mínima. MIC₉₀ foi calculado apenas para isolados com n de cepas maior que 10. * Cepa com resistência intrínseca para o fluconazol.

Tabela 14 - Perfil de suscetibilidade das espécies de *Candida* isoladas de hemocultura pelo método de disco difusão de acordo com o "Clinical Laboratory Standards Institute" CLSI no Hospital das Clínicas da FMUSP no ano de 2006.

Espécies (n)	Fluconazol			Voriconazol		
	S	SDD	R	S	SDD	R
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
<i>C. albicans</i> (56)	55 (98,2)	1 (1,8)	0 (0)	56 (100)	0 (0)	0 (0)
<i>C. parapsilosis</i> (21)	19 (90,5)	2 (9,5)	0 (0)	21 (100)	0 (0)	0 (0)
<i>C. tropicalis</i> (14)	14 (100)	0 (0)	0 (0)	14 (100)	0 (0)	0 (0)
<i>C. glabrata</i> (4)	1 (25)	2 (50)	1 (25)	1 (25)	2 (50)	1 (25)
<i>C. krusei</i> * (2)	0 (0)	1 (50)	1 (50)	2 (100)	0 (0)	0 (0)
Outras (3)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	0 (0)
Total (100)	92 (92)	6 (6)	2 (2)	97 (97)	2 (2)	1 (1)

Nota: **C. krusei* apresenta resistência intrínseca ao Fluconazol.

4.7. Concordância entre os testes utilizados para avaliar o perfil de suscetibilidade.

Na Tabela 15 verificamos que o percentual de concordância essencial (CE) para todas as espécies de *Candida* na comparação entre os resultados obtidos nos testes de microdiluição Sensititre YeastOne[®] e Etest[®] foi de maior que 90 % para todos os antifúngicos exceto para itraconazol com as concordâncias mais baixas associados a *C. tropicalis* e *C. glabrata*. Para os dados de concordância categórica (CC) também foi observada concordância maior que 90% para todas as drogas e mais uma vez o itraconazol demonstrou as concordâncias mais baixas, com 26% de erros menores, 1 % de erros graves e 3 % de erros muito graves. A Tabela 16 sumariza dos dados de CC observada para os antifúngicos fluconazol e voriconazol avaliados pelos testes de quantitativos *versus* disco difusão

Tabela 15 - Concordância essencial, concordância categórica e tipos de erros observados entre as metodologias utilizadas para análise de suscetibilidade aos antifúngicos, microdiluição Sensititre YeastOne® e Etest®, para 100 cepas *Candida* spp. isoladas de hemoculturas no Hospital da Clínicas da FMUSP em 2006.

Espécie (n)/Droga	Concordância n (%)		Erros n (%)		
	Essencial	Categórica	Menor	Grave	Muito grave
<i>C. albicans</i> (56)					
Anfotericina B	52 (92,9)	56 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Caspofungina	53 (94,6)	56 (100)	0	0 (0)	0 (0)
Fluconazol	55 (98,2)	55 (98,2)	1 (1,8)	0 (0)	0 (0)
Itraconazol	55 (98,2)	48 (85,7)	8 (14,3)	0 (0)	0 (0)
Voriconazol	56 (100)	56 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Posaconazol	55 (98,2)	NA	NA	0 (0)	0 (0)
<i>C. parapsilosis</i> (21)					
Anfotericina B	21 (100)	21 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Caspofungina	20 (95,2)	19 (90,5)	0 (0)	2 (9,5)	0 (0)
Fluconazol	21 (100)	17 (80,9)	4 (19,1)	0 (0)	0 (0)
Itraconazol	19 (90,5)	12 (57,1)	8 (38,9)	0 (0)	1 (4,8)
Voriconazol	21 (100)	21 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Posaconazol	20 (95,2)	NA	NA	NA	NA
<i>C. tropicalis</i> (14)					
Anfotericina B	13 (92,9)	14 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Caspofungina	13 (92,9)	14 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Fluconazol	11 (78,6)	14 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Itraconazol	9 (64,3)	4 (28,6)	8 (57,1)	0 (0)	2 (4,3)
Voriconazol	13 (92,9)	13 (92,9)	1 (7,1)	0 (0)	0 (0)
Posaconazol	9 (64,3)	NA	NA	NA	NA
<i>C. glabrata</i> (4)					
Anfotericina B	4 (100)	4 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Caspofungina	4 (100)	4 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Fluconazol	4 (100)	4 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Itraconazol	1 (25)	2 (50)	1 (25)	1 (25)	0 (0)
Voriconazol	4 (100)	3 (75)	1 (25)	0 (0)	0 (0)
Posaconazol	4 (100)	NA	NA	NA	NA
<i>C. krusei</i> (2)					
Anfotericina B	1 (50)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Caspofungina	2 (100)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Fluconazol	1 (50)	1 (50)	0 (0)	0 (0)	1 (50)
Itraconazol	1 (50)	1 (50)	1 (50)	0 (0)	0 (0)
Voriconazol	2 (100)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Posaconazol	2 (100)	NA	NA	NA	NA
Outras (3)					
Anfotericina B	3 (100)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Caspofungina	3 (100)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Fluconazol	3 (100)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Itraconazol	3 (100)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Voriconazol	3 (100)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Posaconazol	3 (100)	NA	NA	NA	NA
Total (100)					
Anfotericina B	94 (94)	100 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Caspofungina	95 (95)	98 (98)	0 (0)	2 (2)	0 (0)
Fluconazol	94 (94)	94 (94)	5 (5)	0 (0)	1 (1)
Itraconazol	88 (88)	70 (70)	26 (26)	1 (1)	3 (3)
Voriconazol	99 (99)	98 (98)	2 (2)	0 (0)	0 (0)
Posaconazol	99 (99)	NA	NA	NA	NA

Tabela 16- Concordância categórica e tipos de erros observados pelo método de disco difusão para avaliar o perfil de suscetibilidade ao fluconazol e voriconazol comparado com os métodos microdiluição Sensititre YeastOne e Etest frente a 100 cepas *Candida* spp. isoladas em hemoculturas no Hospital das Clínicas da FMUSP no ano 2006.

Droga	Microdiluição versus disco difusão				Etest versus disco difusão			
	CC n (%)	EM n (%)	EG n (%)	EMG n (%)	CC n (%)	EM n (%)	EG n (%)	EMG n (%)
Fluconazol								
<i>C. albicans</i> (56)	54 (96,4)	2 (3,6)	0 (0)	0 (0)	55 (98,2)	1 (1,8)	0 (0)	0 (0)
<i>C. parapsilosis</i> (21)	19 (90,5)	2 (9,5)	0 (0)	0 (0)	19 (90,5)	2 (9,5)	0 (0)	0 (0)
<i>C. tropicalis</i> (14)	14 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	14 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>C. glabrata</i> (4)	3 (75)	1 (25)	0 (0)	0 (0)	3 (75)	1 (25)	0 (0)	0 (0)
<i>C. krusei</i> (2)	1 (50)	1 (50)	0 (0)	0 (0)	1 (50)	1 (50)	0 (0)	0 (0)
Outras (3)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Total (100)	94 (94)	6 (6)	0 (0)	0 (0)	95 (95)	5 (5)	0 (0)	0 (0)
Voriconazol								
<i>C. albicans</i> (56)	56 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	56 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>C. parapsilosis</i> (21)	21 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	21 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>C. tropicalis</i> (14)	13 (92,9)	1 (7,1)	0 (0)	0 (0)	14 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>C. glabrata</i> (4)	1 (25)	3 (75)	0 (0)	0 (0)	2 (50)	2 (50)	0 (0)	0 (0)
<i>C. krusei</i> (2)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Outras (3)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Total (100)	96 (96)	4 (4)	0 (0)	0 (0)	98 (98)	2 (2)	0 (0)	0 (0)

Nota: (CC) Correlação categórica; (M) erro menor; (EG) erro grave; (EMG) erro muito grave.

4.7.1. Comparação entre os valores dos MICs obtidos através dos testes de microdiluição Sensititre YeastOne[®] versus Etest[®].

A curva de regressão linear obtida pela comparação entre a microdiluição Sensititre YeastOne[®] e Etest[®] demonstrou correlação entre os valores de MICs obtidos por ambos os testes.

A pior associação entre os resultado de MICs foi encontrada para anfotericina com $r = 0,13$ enquanto a melhor correlação foi para o posaconazol $r = 0,89$. As Figuras de 7 a 12, ilustram os gráficos de regressão, os valores de r de Pearson para os 100 isolados de *Candida* spp., para cada antifúngico testado. Os dados de r de Pearson por espécie de *Candida* esta descrito no Anexo VI.

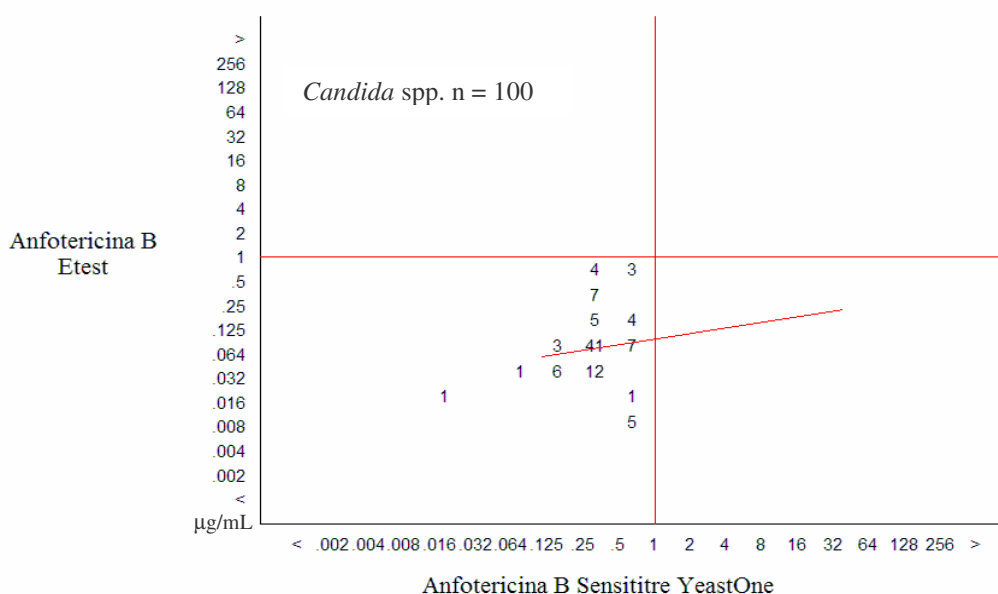


Figura 9. Correlação entre os MIC de Etest[®] e microdiluição Sensititre YeastOne[®] para anfotericina B. Equação: $\log_2(\text{Etest } \text{®}) = -2,71 + 0,23 \log_2(\text{Microdiluição Sensititre YeastOne } \text{®})$ $r = 0,13$.

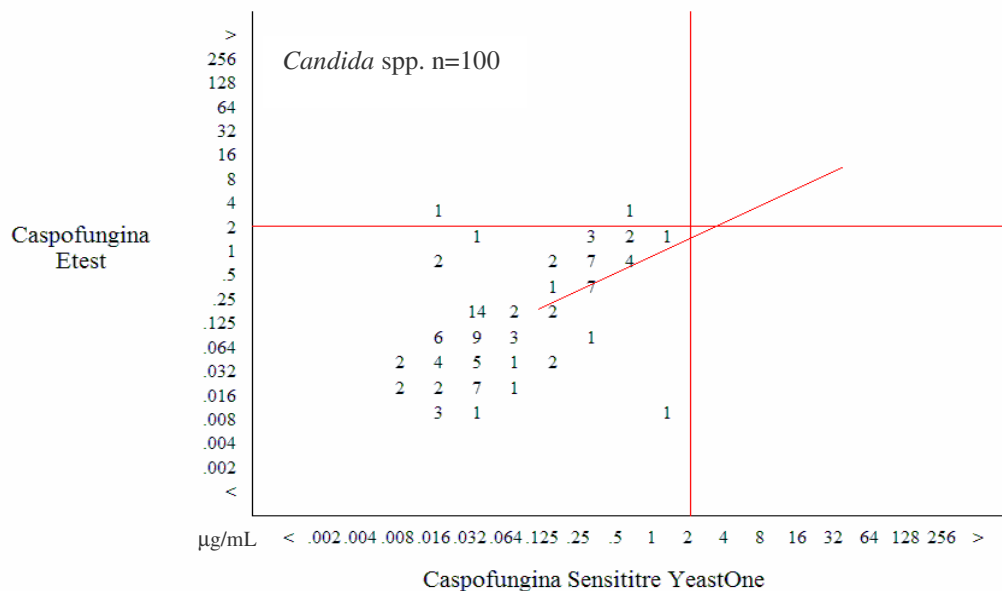


Figura 10. Correlação entre os MIC de Etest ® e microdiluição Sensititre YeastOne ® para caspofungina. Equação: $\log_2(\text{Etest } \text{®}) = -0,15 + 0,71 \log_2(\text{Microdiluição Sensititre YeastOne } \text{®})$ $r = 0,62$

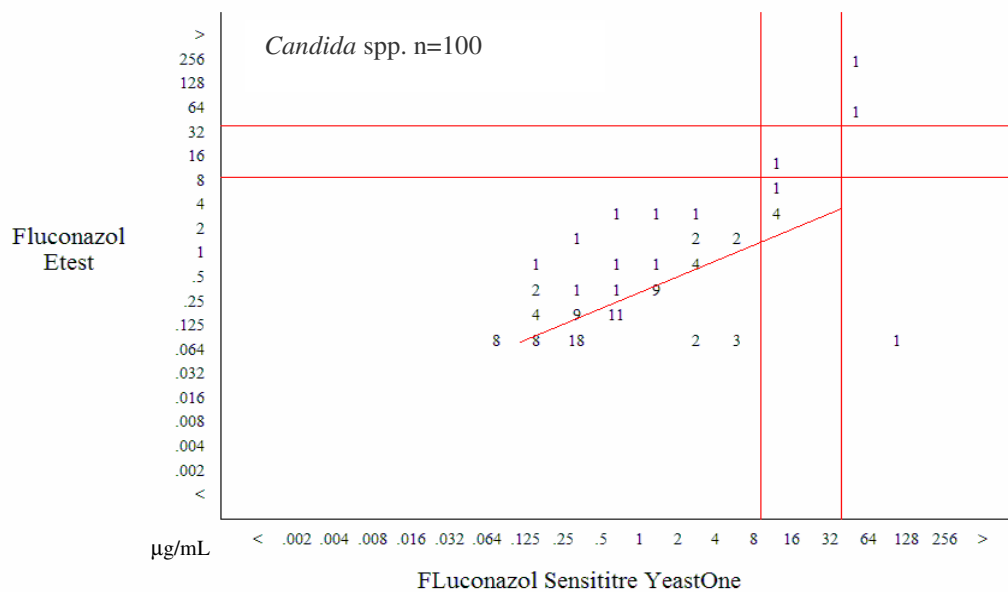


Figura 11. Correlação entre os MIC de Etest ® e microdiluição Sensititre YeastOne ® para fluconazol. Equação: $\log_2(\text{Etest } \text{®}) = -1,44 + 0,66 \log_2(\text{Microdiluição Sensititre YeastOne } \text{®})$ $r = 0,69$.

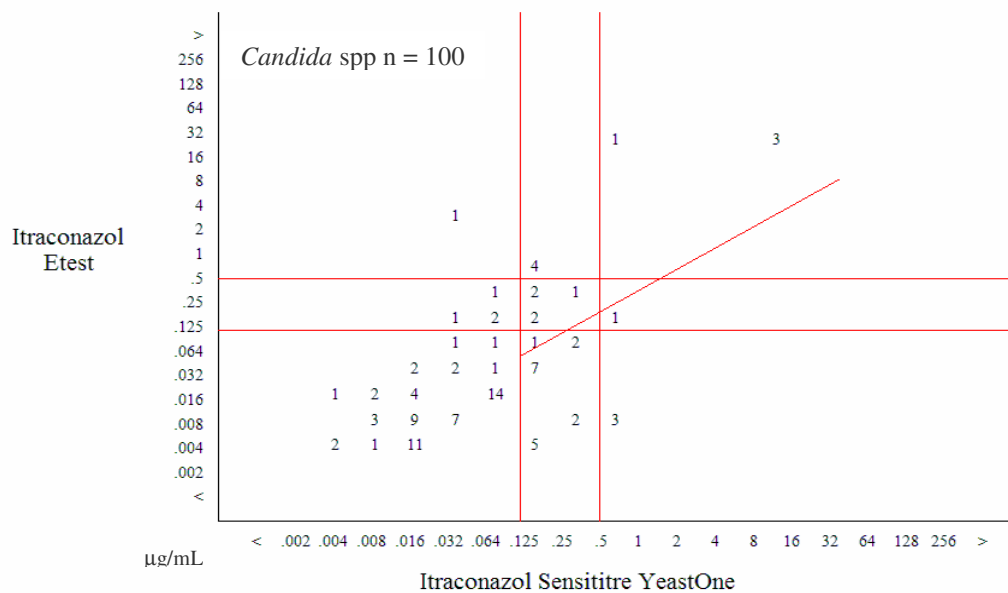


Figura 12. Correlação entre os MIC de Etest ® e microdiluição Sensititre YeastOne ® para itraconazol. Equação: $\log_2(\text{Etest } \text{®}) = -1,54 + 0,87 \log_2(\text{Microdiluição Sensititre YeastOne } \text{®})$ $r = 0,66$.

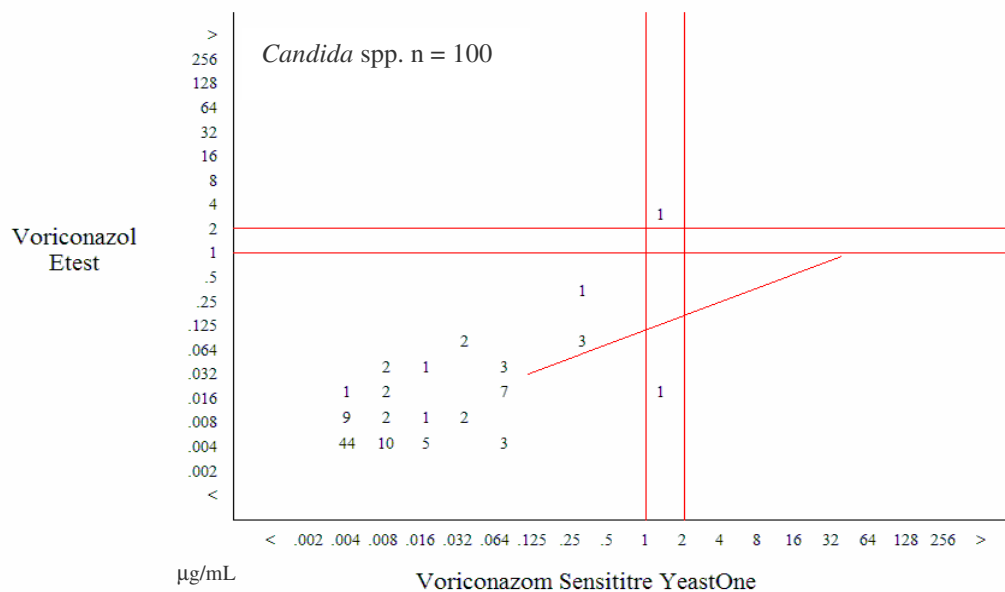


Figura 13. Correlação entre os MIC de Etest ® e microdiluição Sensititre YeastOne ® para voriconazol. Equação: $\log_2(\text{Etest } \text{®}) = -2,83 + 0,58 \log_2(\text{Microdiluição Sensititre YeastOne } \text{®})$ $r = 0,74$.

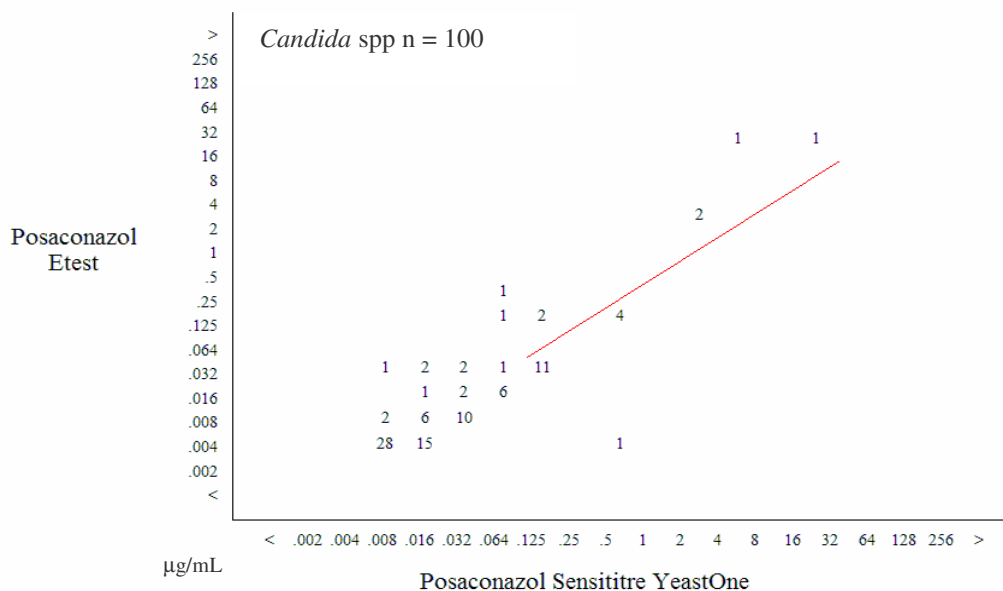


Figura 14. Correlação entre os MIC de Etest ® e microdiluição para posaconazol Sensititre YeastOne ®. Equação: $\log_2 (\text{Etest } \text{®}) = -1,4 + 0,97 \log_2 (\text{Microdiluição Sensititre YeastOne } \text{®})$ $r = 0,89$.

4.7.2. Comparação entre os valores de MICs obtidos entre metodologias quantitativas *versus* disco difusão.

Através da análise da curva de regressão os valores de MICs obtidos na metodologia de microdiluição Sensititre YeastOne ® comparadas aos diâmetros dos halos de inibição produzidos pelo disco difusão demonstrou uma correlação inversa entre os métodos tanto para fluconazol como voriconazol.

A curva de regressão linear produzida para o fluconazol quando avaliamos a microdiluição Sensititre YeastOne ® e disco difusão demonstrou que houve dispersão nos valores dos halos inibitórios em quase toda a faixa de MICs principalmente entre os valores de 0,125 a 0,25 µg/mL produzindo um índice de Pearson de $r = -0,55$ (Figura 13)

. Para voriconazol também foi possível observar dispersão de resultados entre toda faixa de MICs obtidos especialmente no valor 0,004 µg/mL com um índice de Pearson de $r = -0,49$ (Figura 14).

A curva de regressão produzida para representar os valores de MICs obtidos através da metodologia do Etest® e diâmetros dos de inibição produzidos através da metodologia do disco difusão, também demonstrou uma correlação inversa entre os métodos para fluconazol e voriconazol. Fluconazol demonstrou uma curva de regressão linear com dispersão nos valores dos halos inibitórios em quase toda a faixa de MICs (Figura 15). principalmente entre nos MICs de 0,064 e 0,125 µg/mL. Para voriconazol também foi possível observar dispersão de resultados dos diâmetros dos halos obtidos entre todas as faixas de MICs (Figura 16) especialmente no MIC de 0,004 µg/mL. O valor do índice de Person encontrado para fluconazol e voriconazol foram $r = -0,61$ e $r = -0,55$, respectivamente.

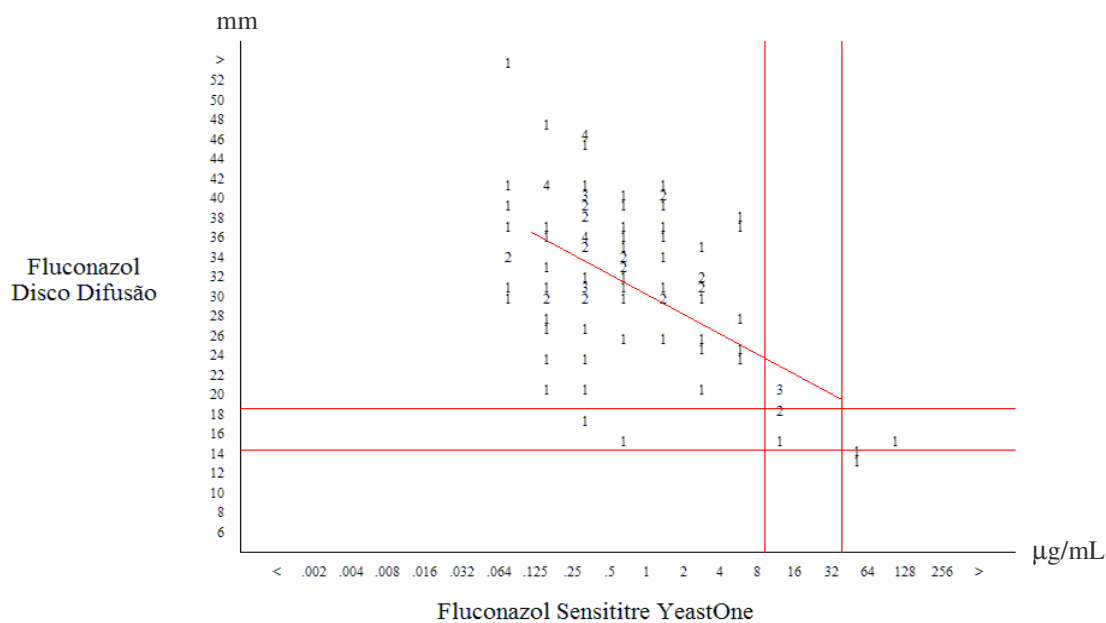


Figura 15. Correlação entre os halos do disco difusão e MICs da microdiluição Sensititre YeastOne ® para fluconazol. Equação: Disco = $31,67 - 2,05 \log_2$ (Microdiluição Sensititre YeastOne ®) $r = -0,55$.

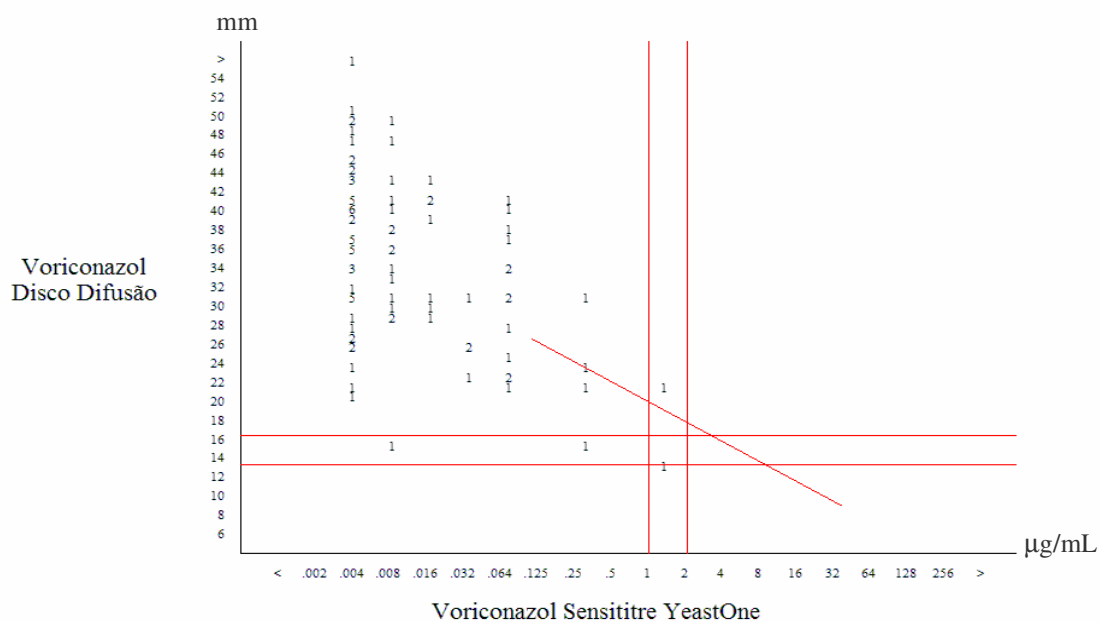


Figura 16. Correlação entre os halos do disco difusão e MICs da microdiluição Sensititre YeastOne ® para voriconazol. Equação: Disco = $21,95 - 2,11 \log_2$ (Microdiluição Sensititre YeastOne ®) $r = -0,49$.

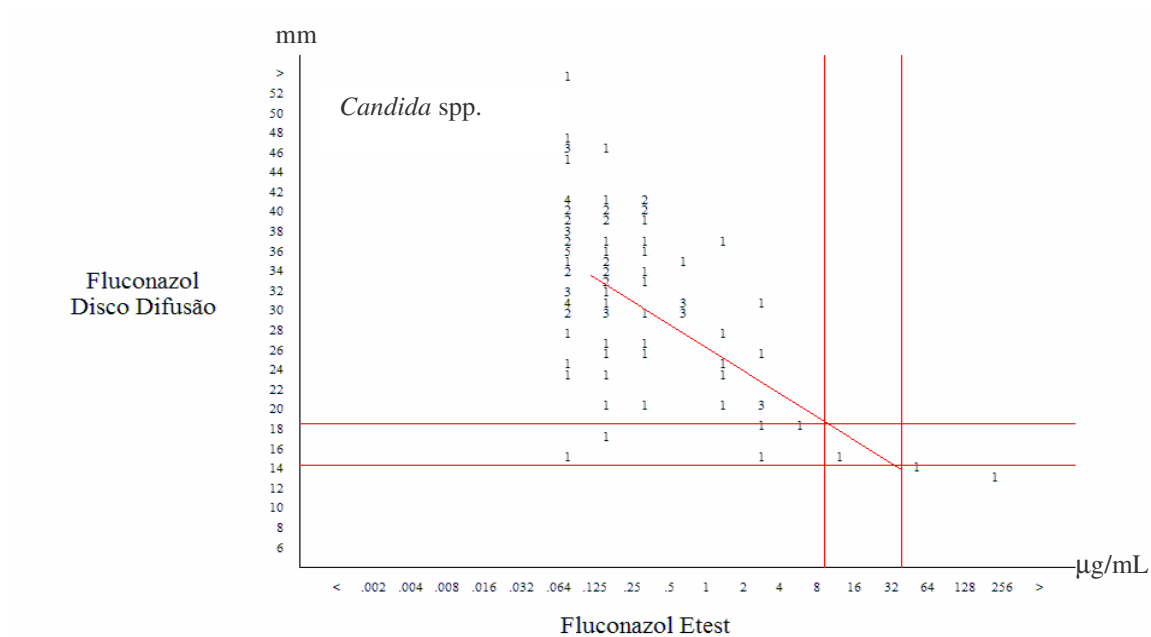


Figura 17. Correlação entre os halos do disco difusão e MICs do Etest[®] para fluconazol. Equação: Disco = 28,24-2,37 log₂ (Etest[®]) r = -0,61.

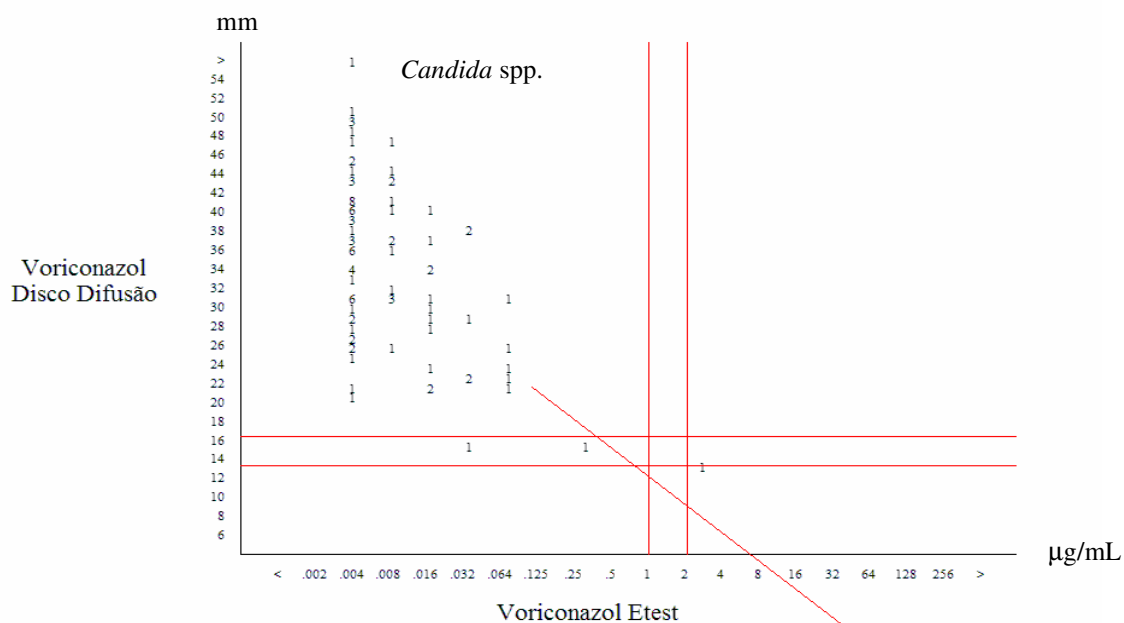


Figura 18. Correlação entre os halos do disco difusão e MICs do Etest[®] para voriconazol Equação: Disco = 15,45-3,02 log₂ (Etest[®]) r = -0,55.

4.7.3. Análise de concordância na definição dos isolados classificados como S; SDD ou R.

As figuras 17 e 18 ilustram a distribuição dos dados categóricos obtidos através dos métodos da microdiluição Sensititre YeastOne[®] e Etest[®], de acordo com as definições S, SDD e R e os valores de concordância entre as categorias por ambos os testes, através da análise do coeficiente kappa, apenas para ara fluconazol, itraconazol, uma vez que as outras drogas não tivemos isolados classificados nas três categorias (S, SDD, R). Os mesmos dados por espécie de *Candida* spp. estão descritos no Anexo VII.

Fluconazol Etest		R			2	Acordo esperado: 0,88 Acordo observado: 0,94 Coeficiente kappa: 0,49
		I			1	
		S	91	5	1	
			S	I	R	
		Fluconazol Sensititre YeastOne				

Figura 19. Análise do coeficiente kappa para avaliação da concordância na discriminação de isolados sensíveis (S); sensível dependente da dose (SDD) e resistente (R), pelo método de microdiluição Sensititre YeastOne® e Etest® para fluconazol.

Itraconazol Etest		R	1%	4%	4%	Acordo esperado: 0,57 Acordo observado: 0,70 Coeficiente kappa: 0,31
		I	4%	5%	1%	
		S	61%	17%	3%	
			S	I	R	
		Itraconazol Sensititre YeastOne				

Figura 20. Análise do coeficiente kappa para avaliação da concordância na discriminação de isolados sensíveis (S); sensível dependente da dose (SDD) e resistente (R), pelo método de microdiluição Sensititre YeastOne® e Etest® para itraconazol.

Os resultados da análise de concordância entre categorias obtidos através dos testes quantitativos como o disco difusão através do valor do coeficiente kappa para os 100 isolados de *Candida* spp. em relação ao fluconazol e voriconazol, encontram-se descritos nas figuras 19 a 22. No Anexo IV encontram-se os mesmos dados descritos por espécie.

Fluconazol Disco Difusão	S	89	3	
	I	2	3	1
	R			2
		S	I	R
		Fluconazol Sensititre YeastOne		

Acordo esperado: 0,84
Acordo observado: 0,94
Coeficiente kappa: 0,62

Figura 21. Análise do coeficiente kappa para avaliação da concordância na discriminação de isolados sensíveis (S); sensível dependente da dose (SDD) e resistente (R), pelo método de microdiluição Sensititre YeastOne® e disco difusão para fluconazol.

		Fuconazol Estest			Acordo esperado: 0,89 Acordo observado: 0,95 Coeficiente kappa: 0,53
		S	I	R	
Fuconazol Disco Difusão	S	92			
	I	5	1		
	R			2	
		S	I	R	

Figura 22. Análise do coeficiente kappa para avaliação da concordância na discriminação de isolados sensíveis (S); sensível dependente da dose (SDD) e resistente (R), pelo método Ettest® e disco difusão para fluconazol.

		Voriconazol Sensititre YeastOne			Acordo esperado: 0,95; Acordo observado: 0,96 Coeficiente kappa: 0,18
		S	I	R	
Voriconazol Disco Difusão	S	96	1		
	I	2			
	R		1		
		S	I	R	

Figura 23. Análise do coeficiente kappa para avaliação da concordância na discriminação de isolados sensíveis (S); sensível dependente da dose (SDD) e resistente (R), pelo método de microdiluição Sensititre YeastOne® e disco difusão para voriconazol.

Voriconazol Disco Difusão	S	97			Acordo esperado: 0,96 Acordo observado: 0,98 Coeficiente kappa: 0,50
	I	2			
	R			1	
		S	I	R	
		Voriconazol Etest			

Figura 24. Análise do coeficiente kappa para avaliação da concordância na discriminação de isolados sensíveis (S); sensível dependente da dose (SDD) e resistente (R), pelo método de Etest® e disco difusão para voriconazol.

5. DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO.

A partir da década de 80, as infecções de corrente sanguínea causadas por espécies de *Candida* emergiram como um importante problema em diversos hospitais, particularmente os de complexidade terciária (McNeil et al., 2001; Wilson et al., 2001; Pfaller e Diekema, 2007). A morbidade e mortalidade associadas a estas infecções permanecem elevadas, a despeito da expansão do arsenal terapêutico observado nos últimos anos (Wey et al., 1988; Gudlaugsson et al., 2003; Almirante et al., 2005).

Inúmeros estudos epidemiológicos sobre candidemia revelaram variações tanto nas taxas de incidência quanto na distribuição das espécies de acordo com a região geográfica, ressaltando a importância do conhecimento epidemiológico local para o controle e tratamento destas infecções (Pfaller et al., 1998; Pfaller et al., 2001; Pfaller et al., 2000; Godoy et al., 2003; Tortorano et al., 2005; Colombo et al., 2006; Pfaller e Diekema, 2007).

No Brasil ainda temos um número limitado de estudos epidemiológicos sobre candidemia. No presente estudo, avaliamos a prevalência, incidência, distribuição das espécies e perfil de suscetibilidade aos antifúngicos de espécies de *Candida* isoladas de hemocultura durante o ano de 2006 envolvendo 8 hospitais pertencentes ao complexo HC-FMUSP, maior hospital público universitário de nível terciário da América Latina. Os pacientes identificados foram caracterizados de acordo com variáveis disponíveis nos sistemas de

informação laboratorial e as cepas viáveis foram submetidas ao teste de sensibilidade aos antifúngicos utilizando três metodologias distintas.

Consistente com os registros históricos do laboratório de microbiologia, a prevalência de *Candida* spp. isolada de hemocultura foi de 3,5%. (Almeida et al., 2001; Motta et al., 2005; Motta et al., 2007). Em um estudo nacional envolvendo 4 centros de nível terciário na cidade de São Paulo entre março de 2002 a fevereiro de 2003, a prevalência de candidemia foi de 4% e essas leveduras foram a quarta causa de infecção de corrente sanguínea (Colombo et al., 2007). Nos Estados Unidos da América (EUA), *Candida* spp., foi responsável por 8 - 15% das infecções de corrente sanguínea, sendo o quarto microrganismo mais comumente isolado em sangue (Pfaller e Wenzel, 2003; Wisplinghoff et al., 2004). Em nosso estudo, *Candida* spp. foi o nono microrganismo isolado de sangue. Estas diferenças estão provavelmente relacionadas ao fato de termos avaliado a frequência global dos microrganismos isolados de hemocultura. Contudo, dados de Comissão de Infecção Hospitalar do Instituto Central (dados não publicados) também documentaram uma posição inferior de *Candida* spp. no ranking dos microrganismos causadores de infecção de corrente sanguínea.

Isolamento concomitante de *Candida* spp. e bactéria ocorreu em 8,8 % dos casos, valor dentro do intervalo reportado em um estudo de revisão sobre frequência de candidemia polimicrobiana. O diagnóstico dessas infecções em sangue é importante pois a taxa de mortalidade parece ser superior (Klots et al., 2007). Já fungemia com dois ou mais fungos foi um evento infrequente, fato que também foi documentado por outros autores (Pulimood et al., 2002; GI-Yera et

al., 2004; Klots et al., 2007).

A incidência geral de candidemia observada neste estudo, 1,87 casos por 1000 admissões hospitalares, é concordante com dados de outros trabalhos nacionais que mostraram taxas de 1,27 a 3,9 casos por 1.000 admissões hospitalares (Aquino et al., 2005; Colombo et al., 2006; Colombo et al., 2007; França et al., 2008, Chang 2008).

Na comparação de dados de incidência observados em diferentes trabalhos há que se considerar as diferenças entre as populações estudadas, assim como os denominadores utilizados. Não obstante, os dados de incidência de candidemia no Brasil apontam para uma maior frequência desta infecção em nosso meio quando comparado a outros países. Nos EUA, os números documentados variam 0,28 a 0,96 casos por 1.000 admissões hospitalares (Wisplinghoff et al., 2004; Zilberberg MD et al., 2008), no Canadá de 0,45 casos por 1.000 admissões e na Europa de 0,28 a 0,38 casos por 1.000 admissões, com variações importantes entre os países (Richet et al., 2002; Macphail et al., 2002; Almirante et al., 2004; Tortorano et al., 2004). Os fatores associados a maior incidência de candidemia no Brasil não são completamente esclarecidos. Contudo, é provável que dificuldades na implementação das medidas de controle de infecção hospitalar aliadas ao limitado número de profissionais da saúde assistindo um grande número de pacientes e práticas menos agressivas de profilaxia e terapia empírica nos pacientes de risco para desenvolver infecções fúngicas contribuam para explicar tal achado (Colombo et al., 2006; Lobo et al., 2006; Colombo et al., 2007; Girão et al, 2008).

Em relação às diferenças observadas na incidência de candidemia entre os hospitais do HC-FMUSP é provável que estejam associadas ao tipo de população assistida. No ICR, por exemplo, a incidência de candidemia documentada foi quase quatro vezes maior quando comparado à incidência geral. Além disso, verificamos que nessa instituição *Candida albicans* e *Candida* não-*albicans* tiveram a mesma taxa de incidência, sendo *C. parapsilosis* a espécie não-*albicans* mais freqüente, responsável por aproximadamente 50% das candidemias. A distribuição temporo espacial dos casos não sugeriu a presença de surto. Já no IOT observou-se a menor incidência de candidemia (aproximadamente 3 vezes menor que a incidência geral). Durante o período de estudo, candidemia foi observada em 132 pacientes. Concordante com a literatura, a grande maioria desses doentes (95,5%) apresentava doença de base, sendo neoplasia a mais frequente. Pacientes imunossuprimidos constituíram quase a metade da população estudada. Tal fato não é surpreendente dado que a presença de neoplasia e de imunossupressão foram identificados como fatores de risco independentes para candidemia em análise multivariada em diferentes estudos (Krcmeryb e Barnes, 2002; Tortorano et al., 2004; Almirante et al., 2005; Colombo et al., 2006). Para estes pacientes, a ocorrência mais frequente de espécies não-*albicans* vem sendo relatada na literatura (Nucci et al 1998; Pfaller e Diekema, 2007; Trofa et al., 2008; Hinrichen et al) al., 2008; Chang et al., (2008). No entanto, nossos resultados não revelaram tal diferença o que pode estar relacionado a duração do período avaliado.

A importância do aumento da frequência de espécies não-*albicans* esta

relacionada ao fato de que algumas dessas espécies apresentam sensibilidade reduzida ou resistência intrínseca a drogas antifúngicas. O aumento do consumo de fluconazol é apontado por alguns autores como responsável por esta mudança epidemiológica. Entretanto, o assunto permanece controverso com resultados conflitantes até o momento (Lin et al., 2005; Bassetti et al., 2006; Pfaller e Diekema, 2007; Girão et al., 2008; Pasqualotto et al., 2008). Por outro lado, existem evidências na literatura de que diferenças geográficas na distribuição das espécies de *Candida* envolvidas em candidemia existem, ainda que não sejam conhecidos todos os fatores que expliquem tais achados.

No presente estudo, *C. albicans* foi a espécie mais frequentemente isolada, seguida de *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*. Essa distribuição confirma os achados de outros autores brasileiros (Colombo, 2000; Aquino et al., 2005; Medrano et al 2006; Colombo et al., 2007; Hinrichesen et al., 2008). Em estudo multicentrico realizado por Colombo et al 2006, apesar de *C. tropicalis* ter sido mais prevalente que *C. parapsilosis*, ambas apresentaram uma ocorrência muito semelhante, 20,9% e 20,5%, respectivamente. Dados da Seção de Microbiologia dos últimos 11 anos demonstram que *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* alternam-se como as espécies não-*albicans* mais frequentes (Almeida et al, 2000; Almeida et al., 2003; Motta et al., 2006; Motta et al., 2007). Na América Latina, a distribuição das espécies de *Candida* associadas a candidemia é semelhante aos dados brasileiros (Pfaller et al 2000; Godoy et al., 2003). Por outro lado, estudos epidemiológicos de candidemia conduzidos nos EUA e em alguns países da Europa demonstram uma distribuição diferente com predomínio de *C. glabrata* e

C. parapsilosis (Pfaller et al., 2000; Eggimann et al 2003; Tortorano et al., 2004; Richet et al., 2002; Malmirante et al 2003; Pfaller et al., 2001; Pfaller et al., 2008d).

Em relação faixa etária, verificamos que em todos os grupos avaliados *C. albicans* foi mais frequente. *C. tropicalis* foi a espécie não-*albicans* mais comumente isolada, exceto em pacientes menores de 1 ano, onde *C. parapsilosis* apresentou maior ocorrência. A participação expressiva de crianças menores de um ano no estudo influenciou os resultados da distribuição geral das espécies e na média de idade (34,4 anos e mediana de 40 anos). No projeto multicentrico de candidemia no Brasil, 21,0% dos casos ocorreram nessa população e a mediana de idade foi igual ao nosso resultado. Nos estudos internacionais a ocorrência de candidemia em crianças menores de 1 ano é menos frequente e a média de idade observada é mais alta do que os valores reportados no Brasil. (Pfaller et al., 2002; Tortorano et al., 2004)

Candidemia por *C. parapsilosis* em crianças menores que 1 ano resulta de colonização previa da pele e trato gastro intestinal, com posterior invasão tecidual. Também pode decorrer de transmissão horizontal através das mãos de profissionais de saúde, uso de dispositivos intravasculares ou soluções contaminadas (Pfaller et al., 2002; Levin et al., 1998; Clerihew et al., 2007; Trofa et al., 2008). Com o auxilio de técnicas moleculares, surtos causados por esta espécie com fonte de origem exógena identificadas tem sido documentados (van Asbeck et al., 2007; Reissa et al., 2008).

Em relação a distribuição das espécies e origem dos pacientes, chamou

atenção que apenas 25% dos casos encontravam-se internados em UTI, local onde frequentemente são descritos casos de candidemia. A distribuição de *Candida* spp. em pacientes de enfermarias foi igual a distribuição geral. Entretanto, avaliando os pacientes internados em UTI, *C. glabrata* foi a segunda espécie não-*albicans* mais frequente. Entre os 9 casos de candidemia associados a essa espécie, 67,0% (6/9) eram originalmente de pacientes internados em diferentes UTIs do ICHC. É possível que este achado esteja relacionado ao maior uso de antifúngicos nessa população. Em um estudo recente realizado nas UTIs do ICHC avaliando candidemia nosocomial e consumo de antifúngico (fluconazol e caspofungina) durante um período de 7 anos, os autores concluíram que apesar do consumo ter aumentado significativamente durante o período, não houve aumento de candidemia por espécies não *albicans* (Girão et al., 2008). Da mesma forma, no maior estudo de candidemia realizado no Brasil por Colombo et al. (2006), esta correlação também não foi documentada. Por outro lado, mais recentemente Pasqualotto et al. (2008) mostraram pela primeira vez em nosso país, um aumento de candidemia por *C. glabrata* relacionado ao aumento no uso de fluconazol em um hospital terciário no Rio Grande do Sul.

Tendo em vista as diferenças em relação ao perfil de suscetibilidade das espécies de *Candida*, a identificação correta dessas leveduras pode auxiliar não só no conhecimento da epidemiologia local como também na introdução de terapêutica adequada, uma vez que existem espécies com resistência intrínseca a alguns antifúngicos, como por exemplo *C. krusei* e fluconazol. Outras espécies podem ainda apresentar maior predisposição a aquisição de resistência, como

descrito na associação *C. glabrata* e fluconazol, *C. lusitaniae* e anfotericina B e *C. parapsilosis* e equinocandinas (Borst et al., 2005; Sanguinetti et al., 2005; Johnson., 2008; Pfaller e Diekema 2007; Bradley et al., 2008).

Atualmente existem inúmeras metodologias comerciais fenotípicas com a finalidade de identificar *Candida* spp. Esses testes são baseados no perfil bioquímico de assimilação de carboidratos e na produção de enzima. O Api 20 C AUX ®, metodologia confirmatória na identificação das espécies de *Candida* spp, foi o teste utilizado no presente estudo. Embora apresente algumas limitações, como por exemplo, resultados disponíveis somente após 48-72 horas de incubação e interpretação visual da assimilação dos substratos, o API 20C AUX ® é considerado um método de referência para identificação de leveduras (Freydiere et al., 2001; Ellepola e Morrison, 2005).

Em relação ao perfil de suscetibilidade aos antifúngicos, com a crescente expansão do arsenal de drogas utilizadas no tratamento e prevenção das micoses invasivas, incluindo candidemias, o monitoramento dos microrganismos isolados frente a essas drogas faz-se necessário, uma vez que resistência *in vitro* , intrínseca ou adquirida, pode estar relacionada a falha terapêutica (Andredrup et al., 2005; Borst et al., 2005; Baixench et al., 2007; Bradley et al., 2008; Cleary et al., 2008).

A metodologia de referência utilizada para realizar o teste de suscetibilidade aos antifúngicos é a diluição em caldo, padronizada pelo "Clinical Laboratory Standards Institute" (CLSI) em 1997 para as leveduras do gênero *Candida* e

Cryptococcus. A última versão do documento foi publicada em 2008 (M 27A3) e incluiu pontos de corte para o voriconazol e caspofungina. Embora seja considerada padrão-ouro, esta metodologia é trabalhosa o que limita sua utilização de rotina na grande maioria dos laboratórios clínicos.

Atualmente, existem metodologias alternativas cujo desenvolvimento foi baseado no CLSI. Dentre elas, podemos citar o método de gradiente de difusão em ágar Etest[®], e o método de microdiluição colorimétrico comercial Sensititre YeastOne[®]. Todas metodologias aprovadas pelo "Food and Drug Administration" FDA após estudos de validação (FDA., 2003) que demonstraram a capacidade de ambos os testes em detectar isolados resistentes de *Candida* spp., inclusive aos novos antifúngicos (voriconazol, posaconazol e caspofungina) (Barry et al., 2002; Magil et al., 2006; Alexander et al., 2007; Catón et al., 2006; Desnos-Ollivier et al., 2008b). Em 2004 o CLSI, aprova também a metodologia de disco difusão *Candida* spp. estando atualmente padronizada apenas para o fluconazol e voriconazol.

Tanto o Etest[®] quanto o Sensititre YeastOne[®] apresentam boa correlação com a metodologia proposta pelo CLSI, podendo variar de acordo com o tipo de antifúngico usado em relação à espécie de *Candida* avaliada (Barry et al., 2002; Magil et al., 2006; Alexander et al., 2007; Catón et al., 2006; Desnos-Ollivier et al., 2008b). Discordâncias entre o Etest[®] e o método de microdiluição convencional podem ocorrer devido ao fenômeno de heteroresistência (Alexander et al., 2007) que acontece devido a superexpressão dos genes "Candida drug

resistance" (CDR) e também devido ao fenômeno do trailing, que pode acontecer em aproximadamente 5% dos isolados de *Candida* com azólicos (Marr et al., 2001; Alexander et al., 2007; CLSI., 2008)

As vantagens de metodologias como Etest® e Sensititre YeastOne®, estão relacionadas a: maior facilidade de execução, capacidade de quantificar diretamente os valores de MIC em 24 horas e eliminação de algumas variáveis associadas à diluição em caldo, como por exemplo, peso molecular de drogas e solubilidade aquosa limitada. Além disso, devido à estreita faixa de MICs obtidos na diluição em caldo para anfotericina B de acordo com CLSI, permanece em discussão a habilidade deste método para detecção de resistência. Há ainda algumas evidências de que o Etest® parece ser mais eficaz (Krogh Madsen et al., 2006) na determinação dos MICs para essa droga.

Sensititre YeastOne® é uma metodologia que tem sido amplamente utilizada nos EUA, com excelentes resultados de reprodutibilidade e acurácia em testes de controle de qualidade externo realizados pelo "College of American Pathologists" (CAP). O objetivo desse grupo é fornecer amostras para proficiência externa e monitorar a performance de quase 3.000 laboratórios que realizam teste de suscetibilidade aos antimicrobianos, incluindo antifúngicos. O Sensititre YeastOne® foi o teste mais comumente utilizado pelos participantes para determinar o perfil de suscetibilidade de leveduras, com 96% de acurácia (Pfaller et al., 2006). No entanto, essa metodologia ainda não está disponível comercialmente no Brasil.

Neste estudo, avaliamos o perfil de sensibilidade de 100 isolados de *Candida* spp. isoladas de sangue pelo método Sensititre YeastOne[®] - considerado como referência, como também pelo Etest[®] e disco difusão (fluconazol e voriconazol).

Com relação a anfotericina B, não encontramos nenhum isolado de *Candida* spp. resistente em nenhuma das metodologias utilizadas. Os MICs mais elevados para essa droga foram encontrados nos isolados de *C. glabrata*, que apresentaram MICs de 1 µg/mL, ou seja, no limite após o qual as cepas são geralmente consideradas não sensíveis. Estes valores estão em concordância com a literatura nacional e internacional. Nestes estudos é possível verificar um pequeno intervalo de variação de MICs obtidos para anfotericina B na grande maioria das espécies de *Candida*, independente da região geográfica. Estudos de vigilância de suscetibilidade aos antifúngicos também não verificaram mudanças temporais no perfil de suscetibilidade de *Candida* spp. frente a esta droga. (Colombo et al., 2007; Péman et al., 2005; Godoy et al., 2003; Ostrosky-Zeichner et al., 2005; Pfaller et al 2000). A detecção de resistência pela metodologia proposta pelo CLSI parece problemática devido à estreita faixa de MICs discriminados. (Park et al., 2006; Pfaller e Diekema 2007). Apesar da alta sensibilidade observada *in vitro* para *Candida* spp. há relatos de falha clínica com cepas exibindo valores de MICs menores do que 1 µg/mL. Desta forma, permanece em discussão a habilidade de se definir resistência para essa droga (Pfaller e Diekema, 2007).

Com relação a caspofungina verificamos uma alta sensibilidade, 100% pela

microdiluição e 98% pelo Etest[®]. Apenas duas cepas de *C. parapsilosis* foram categorizadas como não susceptíveis através do Etest[®], ambas exibindo MICs de 4 µg/mL. Um estudo brasileiro que avaliou 282 episódios de fungemia, também demonstrou MICs elevados de caspofungina para *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii* ambas com MIC₉₀ de 2 µg/mL (Colombo et al., 2007). Resultados similares, também foram encontrados em um estudo realizado por Pfaller e al (2008b), que avaliou 5.346 isolados de *Candida* spp. frente as equinocandinas, evidenciando decréscimo de sensibilidade a caspofungina para isolados de *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii*, 92.5% e 90.2% respectivamente. Parece não haver correlação clínica entre cepas de *C. parapsilosis* com MICs altos para caspofungina uma vez que, mesmo com MICs elevados, *C. parapsilosis* responde clinicamente as equinocandinas (Pfaller et al., 2008c). Vale lembrar que atualmente *C. parapsilosis* é considerado um grupo que inclui três espécies: *C. metapsilosis*, *C. orthopsilosis* e *C. parapsilosis*. Trabalhos recentes sugerem que as duas primeiras espécies são responsáveis por aproximadamente 10% das fungemias associadas ao grupo *C. parapsilosis* e que ambas apresentam MICs mais baixos para anfotericina B e equinocandinas. Já no caso de *C. parapsilosis* como espécie do grupo, foram descritos MICs mais elevados para caspofungina (Lockhart et al., 2008)..

Em relação ao fluconazol, nosso estudo confirmou a elevada atividade *in vitro* da droga no nosso meio. A sensibilidade ao fluconazol foi maior que 90% para as três metodologias sendo que os isolados resistentes ficaram restritos à *C.*

glabrata e *C. krusei* na maioria das vezes. Outros estudos nacionais demonstraram taxas de sensibilidade de 95% a 100% sendo que os casos de resistência também ficaram restritos a *C. glabrata* (Pfaller et al., 2000; Pfaller et al., 2001; Aquino et al., 2005; Colombo et al., 2007 Godoy et al., 2003; Brito et al., 2006). Um estudo multicentrico internacional que avaliou o perfil de suscetibilidade de 78.463 isolados de *Candida* spp. ao fluconazol envolvendo 115 instituições de 35 países encontrou 89.6% de isolados sensíveis para esta droga. As espécies com maior sensibilidade foram: *C. albicans* (97.8%); *C. parapsilosis* 93.2%; e *C. lusitanae* 93.3%. Observou-se um decréscimo de suscetibilidade em isolados de *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. guilliermondii* com 66.7%, 9.4% e 73.3%, de sensibilidade respectivamente (Pfaller et al., 2005). Em países europeus, o fluconazol apresentou dados de sensibilidade variável de 87% a 98% (Ostrosky-Zeichner et al., 2005; Almirante et al., 2005; Péman et al., 2005; Pfaller et al., 2001). Os dados descritos acima sugerem uma ampla variação geográfica em relação a frequência de resistência ao fluconazol que esta diretamente associada à epidemiologia de *C. glabrata*. Por isso onde a espécie é menos comum como na América latina e a Ásia observamos menor porcentagem de resistência a esta droga. (Pfaller et al., 2005; Pfaller e Diekema; 2007).

Na análise de concordância entre os métodos utilizados para determinar o perfil de suscetibilidade do fluconazol foram identificadas duas cepas categorizadas como SDD, a saber *C. albicans* e *C. parapsilosis*, pelas metodologias de microdiluição Sensititre YeastOne® e disco difusão. Essas

discordâncias entre Sensititre YeastOne[®] *versus* Etest[®] e disco difusão *versus* Etest[®] permaneceram mesmo após a repetição dos testes e verificação do inóculo mas resultaram apenas em erros menores quanto à categorização dos isolados.

Vale também ressaltar que o Etest[®] categorizou um isolado de *C. krusei* como sensível, produzindo o único erro muito grave associado ao fluconazol. Contudo, esse resultado não desabilita o teste, uma vez que o próprio CLSI, documenta que tal fenômeno *in vitro* e não recomenda o teste de rotina para espécies para espécies com resistência intrínseca a um determinado antifúngico.

O percentual de sensibilidade ao itraconazol observado foi de 66% pela metodologia Sensititre YeastOne[®], porém resultados obtidos pelo Etest[®] mostraram 81% de sensibilidade. Houve pouca diferença entre as metodologias Sensititre YeastOne[®] e Etest[®] no percentual de resistência 8% e 9% respectivamente, no entanto, Sensititre YeastOne[®] apresentou 26% das cepas categorizadas como SDD enquanto o Etest[®] apresentou resultado 10% de SDD. O decréscimo de sensibilidade encontrado para o itraconazol nesse estudo, pode estar relacionado a limitações da metodologia Sensititre YeastOne[®]. Segundo Alexander et al, que comparou Sensititre YeastOne[®] e Etest[®], *versus* microdiluição CLSI, as discrepâncias para itraconazol e Sensititre YeastOne[®], parecem estar associados ao fenômeno do trailing, que pode levar a uma elevação dos MICs. Com relação ao Etest[®] a autora reporta uma situação inversa uma vez que os MICs obtidos por essa metodologia foram menores mesmo apesar da

dificuldade de interpretação do Etest[®] na presença do trailing (Alexander et al., 2007).

O perfil de suscetibilidade para itraconazol documentado no presente estudo está discordante de publicações latino americanas que demonstram altos níveis de sensibilidade a esta droga (Colombo et al., 2006; Colombo et al., 2007; Brito 2005; Godoy et al 2003). Essa discordância pode estar associada ao número de isolados caracterizados como SDD. O presente trabalho, quando comparados a estudos europeus e norte-americanos o perfil de sensibilidade foi semelhante (Ostrosky-Zeichner et al., 2005; Espinel-Ingroff et al., 2005).

Em relação ao voriconazol observamos uma sensibilidade maior que 97% por todas as metodologias, sendo a *C. glabrata* a espécie mais comumente caracterizada como R ou SDD. Em concordância com outros estudos que documentaram altas taxas de sensibilidade a esta droga variando de 92% a 100% (Pfaller et al., 2001; Espinel-Ingroff et al., 2005; Pfaller et al., 2005; Pfaller et al., 2008d).

O MIC₉₀ para posaconazol foi de 0,25 µg/mL por ambas as metodologias confirmando uma elevada atividade *in vitro* desta droga. Entretanto, valores de MICs elevados foram observados para uma cepa de *C. glabrata* (MIC=32 µg/mL) e outra de *C. guilliermondii* (MIC= 4 µg/mL). Pfaller et al, (2008b) reportou MIC₉₀ para posaconazol quatro vezes maior que o reportado no HC-FMUSP, sendo a *C. glabrata* e a *C. krusei* as espécies com maiores valores de

MIC. Cuenca-Estrella, et al., (2006) também apontam *C. kefyr* e *C. pelliculosa* como espécies que apresentam MICs altos para a droga.

Dois isolados de *Candida* spp. apresentaram resistência entre antifúngicos de uma mesma classe, a saber: uma cepa de *C. glabrata* com resistência a todos os azólicos e MIC elevado para posaconazol (32 µg/mL) e outra de *C. guilliermondii* com resistência ao itraconazol e MIC de 4,0 µg/mL para posaconazol, vale ainda destacar que esse isolado apresentou MIC de 2,0 µg/mL para caspofungina. Esses resultados sugerem resistência cruzada entre os antifúngicos de uma mesma classe, uma vez que caspofungina não apresenta resistência cruzada com antifúngicos de outras classes (Pfaller et al, 2008c). Relatos de resistência *in vitro* para azólicos, anfotericina B e caspofungina vem sendo documentados na literatura (Andredup et al., 2005; Borst et al., 2005; Moudgal et al., 2005; Cornelius et al., 2006; Krogh-Madsen et al., 2006; Bradley et al., 2008; Thompson et al., 2008).

Os dados de comparação entre as metodologias Etest® *versus* Sensititre YeastOne®, traduzidas em porcentagem de correlação essencial (CE) e correlação categórica (CC) o, foi maior que 90% para todas as drogas testadas exceto para itraconazol onde CE e CC foram de 88% e 77% respectivamente, com 26% de erros menores e 3% de erros muito graves.

Para todas as outras drogas o percentual de erros graves e muito graves foi considerado adequado de acordo com o FDA que define como aceitável até 3% de erros graves e 1,5% de erros muito graves (FDA., 2003), contudo alguns autores

sugerem critérios menos rigorosos, com aceitação de até 5% de erros graves e muito graves (Jorgensen 1993; Alexander 2007).

A correlação entre os valores de MICs de caspofungina apresentou coeficiente de Person de 0,62 para caspofungina e de 0,69 a 0,89 para azólicos. Para anfotericina B apesar dos dados de CE e CC terem sido altos, a correlação entre os valores de MIC produziu um valor baixo de r de Person = 0,13, indicando pobre correlação entre os MICs obtidos pelo Sensititre YesatOne[®] comparados com Etest[®]. Isso aconteceu porque o Etest[®] apresentou os isolados distribuídos mais uniformemente em uma faixa de MICs (entre 0,016 µg/mL a 1 µg/mL) a enquanto a microdiluição Sensititre YeastOne[®], teve 89% dos seus MICs entre 0.5 - 1.0 µg/mL.

Na análise de comparação entre as metodologias quantitativas (Sensititre YeastOne[®] e Etest[®].) *versus* disco difusão para fluconazol e voriconazol, obtivemos maior concordância CC, quando comparadas às metodologias de difusão em ágar (Etest *versus* disco difusão) para ambas as drogas, com apenas 5% de erros menores para fluconazol e 2% para voriconazol sem ocorrências de erros graves e/ou muito graves. Quando comparados os MICs obtidos através da metodologias quantitativas com os diâmetros dos halos de inibição, a combinação Etest[®] *versus* disco difusão, também produziram valores de r de Person mais elevados, se comparadas com Sensititre YeastOne[®] *versus* disco difusão

6. CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES.

- A prevalência de *Candida* spp. isoladas de hemocultura no HC-FMUSP em 2006, esta de acordo com os registros históricos do laboratório de microbiologia e com os dados reportados na literatura nacional.
- A incidência geral de candidemia no HC-FMUSP em 2006 foi concordante com outros estudos nacionais.
- Foram observadas variações importantes na incidência desta infecção entre os diferentes hospitais do complexo.
- A maioria dos pacientes era do sexo masculino, internados em enfermaria e com doença de base, sendo que os imunossuprimidos representaram quase metade da população do estudo.
- *Candida albicans* foi a espécie mais frequente *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis* alternando-se como as espécies não-*albicans* de maior ocorrência de acordo com o hospital, unidade de internação ou faixa etária.
- Não houve diferença quanto a distribuição de *Candida albicans* e espécies não *albicans* em relação a doença de base e unidade de internação.

- *Candida parapsilosis* foi a espécie não-*albicans* mais frequente devido ao grande número de pacientes menores de um ano em nossa casuística.
- O perfil de suscetibilidade demonstrou altos índices de sensibilidade geral para todas as drogas em todas as metodologias, exceto para itraconazol.
- *C. glabrata* foi a espécie que apresentou menor porcentagem de isolados sensíveis aos azólicos.
- Houve alta concordância essencial e categórica geral entre os resultados das concentrações inibitórias mínimas realizados através do Etest® e Sensititre YeastOne®, exceto para o itraconazol.
- A discordância categórica resultou em erros menores na maior parte dos casos.
- Para voriconazol e fluconazol houve alta concordância categórica geral entre os resultados obtidos por disco difusão quando comparados as metodologias quantitativas.

7. ANEXOS

Anexo I - Dados demográficos e doença de base dos pacientes com candidemia no ano de 2006 no Hospital das Clínicas da FMUSP.

Paciente	Sexo	Idade	Origem	Instituto	Resultado	Doença de base
3063872	M	51.3	A	ICHC	<i>C. albicans</i>	Transplantados de órgãos
13478323J	M	79.0	U	ICHC	<i>C. glabrata</i>	Neoplasias onco-hematológicas
13485235G	F	59.5	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Cardiopatias
13504580I	F	47.1	E	ICHC	<i>C. parapsilosis</i>	Neuropatias
13529912H	M	66.1	A	ICHC	<i>C. parapsilosis</i>	Cardiopatias
13578533C	F	45.7	E	Outros	<i>C. albicans</i>	Politrauma
1359317F	F	54.5	U	ICHC	<i>C. parapsilosis</i>	Autoimune
13608771I	M	57.5	E	ICHC	<i>C. parapsilosis</i>	Neoplasias onco-hematológicas
13610651I	M	61.1	UTI	ICHC	<i>C. glabrata</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
13659586G	M	2.2	E	ICHC	<i>C. tropicalis</i>	Doenças genéticas
13670587F	F	58.1	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Neoplasias onco-hematológicas
13702883A	M	60.3	a	ICHC	<i>C. tropicalis</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
13705578G	M	0.4	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Prematuridade
13711605H	M	18.6	E	Outros	<i>C. tropicalis</i>	Neoplasias onco-hematológicas
13711817F	M	71.3	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Doenças de pele e anexos
13712321B	F	35.3	U	ICHC	<i>C. albicans</i>	Hepatopatias
13715345J	M	36.9	U	ICHC	<i>C. albicans</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
13717688F	M	48.2	U	ICHC	<i>C. utilis</i>	Neoplasias onco-hematológicas
13718009D	F	35.6	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Neoplasias onco-hematológicas
13718157I	M	35.1	U	ICHC	<i>C. albicans</i>	HIV
13718843J	M	33.5	E	ICHC	<i>C. parapsilosis</i>	Neoplasias onco-hematológicas
13719820C	F	49.4	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
13720763I	F	20.6	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Neoplasias onco-hematológicas
13723376D	F	35.8	E	ICHC	<i>C. krusei</i>	Neoplasias onco-hematológicas
13728664E	F	42.5	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Autoimune
13730429J	M	69.9	E	ICHC	<i>C. tropicalis</i>	Doenças onco-hematológicas
13732779F	F	79.8	U	ICHC	<i>C. albicans</i>	Hepatopatias
13733152E	F	45.2	U	ICHC	<i>C. parapsilosis</i>	Neuropatias
13736172F	M	60.5	U	ICHC	<i>C. glabrata</i>	HIV
13736237I	F	34.0	U	ICHC	<i>C. albicans</i>	Neuropatias
13737365D	F	51.0	U	ICHC	<i>C. albicans</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
13738477A	F	1.4	E	ICHC	<i>C. tropicalis</i>	Neuropatias
13739064G	M	58.9	U	ICHC	<i>C. glabrata</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
13740701F	M	28.5	E	ICHC	<i>C. tropicalis</i>	Autoimune
13745080H	F	61.7	U	ICHC	<i>C. albicans</i>	Pneumopatias

"Continua"

Anexo I - "Continuação". Dados demográficos e de doença de base dos pacientes com candidemia no ano de 2006 no Hospital das Clínicas da FMUSP.

Paciente	Sexo	Idade	Origem	Instituto	Resultado	Doença de base
13745610E	M	51.5	E	INCOR	<i>C. albicans</i>	Neoplasias onco-hematológicas
13745637C	M	0.2	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Neuropatias
13746553K	F	0.9	E	ICHC	<i>C. glabrata</i>	Transplantados de órgãos
55390883B	F	38.1	E	INCOR	<i>C. albicans</i>	Pneumopatias
55394562A	M	62.1	E	INCOR	<i>C. tropicalis</i>	Transplantados de órgãos
55438620I	M	73.7	E	INCOR	<i>C. glabrata</i>	Sem informação
55439188I	M	0.2	E	INCOR	<i>C. parapsilosis</i>	Cardiopatias
55439599K	F	26.2	E	INCOR	<i>C. albicans</i>	Cardiopatias
55441442E	M	44.9	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Neoplasias onco-hematológicas
55441442E	M	44.8	A	ICHC	<i>C. parapsilosis</i>	Neoplasias onco-hematológicas
55444540J	M	58.6	E	INCOR	<i>C. albicans</i>	Cardiopatias
55444759A	M	0.0	E	INCOR	<i>C. parapsilosis</i>	Sem informação
55446204I	F	85.2	E	INCOR	<i>C. albicans</i>	Sem informação
55446588B	M	85.4	E	INCOR	<i>C. albicans</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
55452281B	M	51.1	E	INCOR	<i>C. tropicalis</i>	Doenças vasculares
55700444K	F	80.7	E	INCOR	<i>C. parapsilosis</i>	Cardiopatias
6027369I	F	18.0	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Doenças hereditárias
6078534B	M	8.9	E	ICR	<i>C. parapsilosis</i>	Autoimune
6080684F	M	4.1	E	ICR	<i>C. tropicalis</i>	Doença Neuwman
6089975F	M	11.0	E	ICR	<i>C. albicans</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
6105465B	F	5.6	A	IOT	<i>C. albicans</i>	Nefropatias
6109492I	F	1.7	A	ICR	<i>C. albicans</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
6113991C	F	5.8	A	ICR	<i>C. albicans</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
6115371A	M	0.8	A	ICHC	<i>C. albicans</i>	Neuropatia
6116743I	M	0.2	E	ICR	<i>C. albicans</i>	Prematuridade
6117033B	M	0.2	E	ICR	<i>C. parapsilosis</i>	Prematuridade
6117341K	M	0.1	E	ICR	<i>C. albicans</i>	Prematuridade
6117508H	F	1.1	E	ICR	<i>C. albicans</i>	Nefropatias
6117950G	F	0.0	E	ICR	<i>C. albicans</i>	Prematuridade
6118526J	F	0.1	E	ICR	<i>C. albicans</i>	Prematuridade
6118693J	F	6.5	A	ICHC	<i>C. tropicalis</i>	Prematuridade
6118754F	M	5.0	E	ICHC	<i>C. lusitaniae</i>	Doença de pele e anexos
6119970B	M	0.7	E	ICR	<i>C. albicans</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
6120752I	M	1.4	E	ICR	<i>C. tropicalis</i>	Prematuridade
6121169G	M	0.1	E	ICR	<i>C. parapsilosis</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
6121821J	M	0.1	A	ICR	<i>C. parapsilosis</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
6122415I	M	0.4	E	ICR	<i>C. albicans</i>	Pneumopatias
6123496A	M	0.1	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Prematuridade
6123600D	M	1.2	E	ICR	<i>C. parapsilosis</i>	Sem informação
6124608B	M	0.4	E	Outros	<i>C. parapsilosis</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
6125456C	M	0.1	U	ICHC	<i>C. parapsilosis</i>	Prematuridade
6125804D	M	1.9	E	ICR	<i>C. parapsilosis</i>	Pneumopatias

"Continua"

Anexo I - "Continuação". Dados demográficos e de doença de base dos pacientes com candidemia no ano de 2006 no Hospital das Clínicas da FMUSP.

Paciente	Sexo	Idade	Origem	Instituto	Resultado	Doença de base
6125826G	M	0.4	E	ICR	<i>C. albicans</i>	Doenças genéticas
6126428E	F	0.1	E	ICR	<i>C. parapsilosis</i>	Prematuridade
13746553K	F	1.0	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Transplantados de órgãos
13751287G	M	41.9	U	ICHC	<i>C. glabrata</i>	Hepatopatias
1375627C	F	42.0	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Autoimune
13759864G	M	24.7	U	ICHC	<i>C. tropicalis</i>	Neoplasias onco-hematológicas
2128720A	F	56.5	E	ICHC	<i>C. glabrata</i>	Transplantados de órgãos
2234938K	M	65.5	E	INCOR	<i>C. albicans</i>	Cardiopatias
2512696H	F	62.5	E	IOT	<i>C. pelliculosa</i>	Infecção de pele e anexos
2539869C	M	68.5	E	ICHC	<i>C. tropicalis</i>	Infecção de pele e anexos
2593139A	M	50.6	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Transplantados de órgãos
2674227B	F	43.9	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Autoimune
2699654I	F	66.0	E	INCOR	<i>C. tropicalis</i>	Cardiopatias
2753332J	M	87.2	E	INCOR	<i>C. tropicalis</i>	Doenças vasculares
2777007E	F	54.6	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Pneumopatias
2913204I	F	85.9	U	ICHC	<i>C. albicans</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
2967683H	M	62.4	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Transplantados de órgãos
3087938E	F	54.7	E	ICHC	<i>C. parapsilosis</i>	Neoplasias onco-hematológicas
3095996D	M	67.8	E	ICHC	<i>C. guilliermondii</i>	Politrauma
3106380B	M	24.3	E	ICHC	<i>C. tropicalis</i>	Hepatopatias
3113837J	F	67.1	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Hepatopatias
3192311J	F	86.3	U	ICHC	<i>C. albicans</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
3269239I	M	42.9	E	ICHC	<i>C. tropicalis</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
3283254D	F	42.9	E	INCOR	<i>C. albicans</i>	Diabetes Mellitus
3283505F	M	8.0	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Doenças vasculares
3323706D	M	58.3	U	ICHC	<i>C. albicans</i>	Tuberculose
3331393K	M	52.9	E	INCOR	<i>C. albicans</i>	Cardiopatias
3379456G	M	46.9	U	ICHC	<i>C. tropicalis</i>	HIV
3379456G	M	47.0	U	ICHC	<i>C. albicans</i>	HIV
3381205J	F	55.9	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
4076039J	M	58.1	U	ICHC	<i>C. parapsilosis</i>	Doenças vasculares
44111878J	M	49.0	E	ICHC	<i>C. tropicalis</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
44112494H	F	59.1	E	IOT	<i>C. albicans</i>	Politrauma
44114129D	F	39.1	U	ICHC	<i>C. albicans</i>	Neoplasias onco-hematológicas
44115318F	M	71.0	E	IOT	<i>C. albicans</i>	Politrauma
5162677I	F	60.4	E	INCOR	<i>C. parapsilosis</i>	Cardiopatias
5182390J	M	13.0	E	INCOR	<i>C. albicans</i>	Cardiopatias
5184313J	F	81.4	E	INCOR	<i>C. tropicalis</i>	Infecção de pele e anexos
5197854K	M	64.1	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
5214368C	M	49.3	E	INCOR	<i>C. albicans</i>	Cardiopatias
5230410H	M	58.8	E	INCOR	<i>C. krusei</i>	Cardiopatias
5355853J	M	64.5	E	INCOR	<i>C. albicans</i>	Cardiopatias

"Continua"

Anexo I - "Conclusão". Dados demográficos e de doença de base dos pacientes com candidemia no ano de 2006 no Hospital das Clínicas da FMUSP.

Paciente	Sexo	Idade	Origem	Instituto	Resultado	Doença de base
55382641I	M	73.6	E	ICHC	<i>C. albicans</i>	Neoplasias onco-hematológicas
6126500D	M	0.0	U	ICHC	<i>C. albicans</i>	Prematuridade
6127741K	M	0.1	E	ICR	<i>C. parapsilosis</i>	Sem informação
6127786E	F	0.1	E	ICR	<i>C. albicans</i>	Hepatopatias
6128291K	F	0.1	U	ICHC	<i>C. albicans</i>	Prematuridade
6128291K	F	0.1	U	ICHC	<i>C. parapsilosis</i>	Prematuridade
6128313G	F	0.1	U	ICHC	<i>C. parapsilosis</i>	Prematuridade
6129107I	M	0.1	E	ICR	<i>C. parapsilosis</i>	Prematuridade
6129436K	M	0.1	A	ICR	<i>C. parapsilosis</i>	Prematuridade
7044371I	F	28.4	U	ICHC	<i>C. albicans</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
77075878C	F	10.0	U	ICHC	<i>C. albicans</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
88500584G	F	50.4	U	ICHC	<i>C. glabrata</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
89016194K	M	0.3	E	Outros	<i>C. parapsilosis</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
89020687D	M	3.8	E	Outros	<i>C. parapsilosis</i>	Neoplasias de órgãos sólidos
89027495I	F	0.1	U	Outros	<i>C. albicans</i>	Prematuridade
89028415F	M	0.1	U	ICHC	<i>C. albicans</i>	Neuropatias
89029020H	F	0.0	U	ICHC	<i>C. parapsilosis</i>	Neuropatias

Nota: (ICHC) Instituto Central; (ICR) Instituto da Criança (INCOR) Instituto do Coração; (IOT) Instituto de Ortopedia. (Outros) Hospitais Sapopemba, Cotoxó, Suzano; (A) Ambulatório; (E) Enfermaria; (UTI) Unidade de terapia intensiva; (F) feminino; (M) Masculino.

Anexo II - Resultados obtidos na re-identificação das cepas viáveis de *Candida* spp. isoladas de hemoculturas no Hospital das Clínicas da FMUSP em 2006.

N. da cepa	Resultado da identificação prévia	Tubo Germinativo	Crescimento em meio cromogênico	Clamidósporo em ágar fubá tween 80	Identificação em API 20C AUX
1	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
2	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
3	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
4	<i>C. glabrata</i>	-	Lilás	-	<i>C. glabrata</i>
5	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>
6	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
7	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
8	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
9	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
10	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
13	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
14	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
15	<i>C. tropicalis</i>	-	Azul	-	<i>C. tropicalis</i>
16	<i>C. tropicalis</i>	-	Azul	-	<i>C. tropicalis</i>
17	<i>C. tropicalis</i>	-	Azul	-	<i>C. tropicalis</i>
18	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
19	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
21	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
22	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
23	<i>C. krusei</i>	-	Rosa aveludada	-	<i>C. krusei</i>
24	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>
25	<i>C. tropicalis</i>	-	Azul	-	<i>C. tropicalis</i>
26	<i>C. tropicalis</i>	-	Azul	-	<i>C. tropicalis</i>
28	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
29	<i>C. tropicalis</i>	-	Azul	-	<i>C. tropicalis</i>
30	<i>C. krusei</i>	-	Rosa aveludada	-	<i>C. krusei</i>
32	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
33	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
34	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
36	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
38	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
39	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>
40	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>
41	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>
42	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
43	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
44	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>
45	<i>C. tropicalis</i>	-	Azul	-	<i>C. tropicalis</i>
46	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
47	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>

"Contunua"

Anexo II - "Continuação". Resultados obtidos na re-identificação das cepas viáveis de *Candida* spp. isoladas de hemoculturas no Hospital das Clínicas da FMUSP em 2006.

N. da cepa	Resultado da identificação prévia	Tubo Germinativo	Crescimento em meio cromogênico	Clamidósporo em ágar fubá tween 80	Identificação em API 20C AUX
48	<i>C. tropicalis</i>	-	Azul	-	<i>C. tropicalis</i>
50	<i>C. tropicalis</i>	-	Azul	-	<i>C. tropicalis</i>
51	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
52	<i>C. glabrata</i>	-	Lilás	-	<i>C. glabrata</i>
53	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>
54	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
55	<i>C. glabrata</i>	-	Lilás	-	<i>C. glabrata</i>
56	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>
57	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
58	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
59	<i>C. krusei</i>	-	Rosa aveludada	-	<i>C. krusei</i>
61	<i>C. pelliculosa</i>	-	Branca	-	<i>C. pelliculosa</i>
63	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>
64	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
66	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
67	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>
69	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
70	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
71	<i>C. tropicalis</i>	-	Azul	-	<i>C. tropicalis</i>
72	<i>C. tropicalis</i>	-	Azul	-	<i>C. tropicalis</i>
73	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
74	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>
75	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
76	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
77	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
78	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
79	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>
80	<i>C. glabrata</i>	-	Lilás	-	<i>C. glabrata</i>
81	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>
82	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>
83	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
84	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
85	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
86	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
87	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>
88	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
89	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
90	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>
91	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>

"Contunua"

Anexo II - "Conclusão". Resultados obtidos na re-identificação das cepas viáveis de *Candida* spp. isoladas de hemoculturas no Hospital das Clínicas da FMUSP em 2006.

N. da cepa	Resultado da identificação prévia	Tubo Germinativo	Crescimento em meio cromogênico	Clamidósporo em ágar fubá tween 80	Identificação em API 20C AUX
92	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
94	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
95	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>
97	<i>C. tropicalis</i>	-	Azul	-	<i>C. tropicalis</i>
104	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
105	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
110	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
111	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
113	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
116	<i>C. guilliermondii</i>	-	Branca/Bege	-	<i>C. guilliermondii</i>
117	<i>C. tropicalis</i>	-	Azul	-	<i>C. tropicalis</i>
118	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
119	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
124	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
128	<i>C. tropicalis</i>	-	Azul	-	<i>C. tropicalis</i>
130	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>
131	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
133	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>
134	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
135	<i>C. albicans</i>	+	Verde	+	<i>C. albicans</i>
136	<i>C. parapsilosis</i>	-	Branca/Rosa	-	<i>C. parapsilosis</i>

Anexo III - Perfil de suscetibilidade das espécies de *Candida* isoladas de hemocultura através das metodologias Sensititre YeastOne® e Etest®, no Hospital das Clínicas da FMSUP no ano de 2006.

N. da cepa	Cepa	Fluconazol		Voriconazol		Itraconazol		Anfotericina		Posaconazol		Caspofungina	
		MIC (µg/mL)		MIC (µg/mL)		MIC (µg/mL)		MIC (µg/mL)		MIC (µg/mL)		MIC (µg/mL)	
		Etest	Micro	Etest	Micro	Etest	Micro	Etest	Micro	Etest	Micro	Etest	Micro
1	<i>C. albicans</i>	1	0.25	0.032	0.008	0.032	0.032	0.064	0.5	0.008	0.016	0.064	0.032
2	<i>C. albicans</i>	0.125	0.25	0.016	0.008	0.016	0.016	0.125	1	0.008	0.016	0.125	0.064
3	<i>C. albicans</i>	0.25	0.5	0.016	0.008	0.016	0.032	0.125	0.5	0.008	0.016	0.25	0.064
4	<i>C. glabrata</i>	256	64	4	2	32	16	1	1	32	8	1	0.25
5	<i>C. parapsilosis</i>	4	2	0.032	0.016	0.032	0.032	0.125	0.25	0.016	0.064	0.25	0.064
6	<i>C. albicans</i>	0.25	1	0.008	0.016	0.016	0.016	0.016	1	0.008	0.016	0.125	0.064
7	<i>C. albicans</i>	0.125	0.25	0.008	0.008	0.016	0.064	0.016	1	0.008	0.032	0.125	0.064
8	<i>C. albicans</i>	0.125	0.25	0.008	0.008	0.016	0.032	0.125	0.5	0.008	0.016	0.064	0.064
9	<i>C. albicans</i>	0.25	0.5	0.016	0.008	0.016	0.032	0.064	0.25	0.008	0.032	0.125	0.032
10	<i>C. albicans</i>	0.125	0.125	0.008	0.008	0.016	0.032	0.064	0.25	0.008	0.032	0.064	0.032
13	<i>C. albicans</i>	0.125	0.125	0.008	0.008	0.032	0.032	0.064	0.25	0.008	0.016	0.125	0.064
14	<i>C. albicans</i>	0.25	0.25	0.008	0.016	0.016	0.032	0.064	0.5	0.008	0.032	0.25	0.064
15	<i>C. tropicalis</i>	0.125	8	0.032	2	0.016	1	0.125	1	0.064	0.25	0.25	0.064
16	<i>C. tropicalis</i>	0.125	4	0.032	0.125	0.008	0.25	0.064	0.25	0.032	0.125	0.125	0.125
17	<i>C. tropicalis</i>	0.5	2	0.008	0.125	0.008	0.25	0.125	1	0.064	0.25	0.125	0.032
18	<i>C. albicans</i>	0.25	0.5	0.008	0.008	0.016	0.032	0.064	0.5	0.008	0.016	0.016	0.032
19	<i>C. albicans</i>	0.25	1	0.008	0.008	0.016	0.032	0.064	0.5	0.008	0.032	0.125	0.032
21	<i>C. albicans</i>	0.125	0.25	0.008	0.008	0.032	0.016	0.064	0.5	0.008	0.016	0.016	0.032
22	<i>C. albicans</i>	0.5	0.25	0.008	0.008	0.032	0.032	0.016	1	0.008	0.016	0.016	0.064
23	<i>C. krusei</i>	0.25	1	0.008	0.008	0.008	0.032	0.064	0.25	0.008	0.016	0.016	0.032
24	<i>C. parapsilosis</i>	2	8	0.032	0.125	0.125	0.25	0.125	0.5	0.25	0.25	4	1
25	<i>C. tropicalis</i>	0.25	0.5	0.016	0.016	0.016	0.016	0.125	0.25	0.064	0.125	0.25	0.25
26	<i>C. tropicalis</i>	0.5	2	0.016	0.016	0.032	0.016	0.125	0.5	0.008	0.016	0.064	0.25
28	<i>C. albicans</i>	0.25	0.5	0.016	0.008	0.25	0.25	0.125	1	0.008	0.016	0.125	0.064
29	<i>C. tropicalis</i>	0.125	0.5	0.016	0.008	0.008	0.032	0.125	0.5	0.008	0.016	0.064	0.064
30	<i>C. krusei</i>	0.125	128	0.008	0.032	0.016	0.5	0.25	1	0.25	1	0.064	0.25
32	<i>C. albicans</i>	0.25	1	0.008	0.125	0.008	0.032	0.25	1	0.064	0.25	0.032	0.064
33	<i>C. albicans</i>	2	0.5	0.064	0.016	0.5	0.25	0.125	0.5	0.064	0.032	0.125	0.032
34	<i>C. albicans</i>	0.25	0.5	0.016	0.008	0.008	0.032	0.064	0.5	0.008	0.016	0.25	0.125
36	<i>C. albicans</i>	0.125	0.125	0.008	0.008	0.008	0.032	0.064	0.5	0.008	0.032	0.064	0.064
38	<i>C. albicans</i>	0.125	0.5	0.008	0.008	0.008	0.032	0.064	0.5	0.008	0.016	0.032	0.064
39	<i>C. parapsilosis</i>	0.25	1	0.008	0.008	0.032	0.125	0.125	1	0.016	0.032	0.125	0.5
40	<i>C. parapsilosis</i>	0.125	0.125	0.008	0.008	0.008	0.008	0.032	0.032	0.016	0.016	0.064	0.032
41	<i>C. parapsilosis</i>	0.5	2	0.008	0.016	0.064	0.25	0.125	0.5	0.032	0.125	0.5	0.5
42	<i>C. albicans</i>	0.125	0.25	0.008	0.008	0.008	0.032	0.125	0.5	0.008	0.016	0.125	0.064
43	<i>C. albicans</i>	0.125	0.5	0.008	0.008	0.008	0.032	0.016	1	0.008	0.016	0.125	0.032
44	<i>C. parapsilosis</i>	2	4	0.032	0.125	0.064	0.25	0.125	1	0.032	0.125	0.5	0.5
45	<i>C. tropicalis</i>	1	4	0.016	0.064	0.016	1	0.064	0.5	0.25	1	0.064	0.016

"Contunua"

Anexo III - "Continuação". Perfil de suscetibilidade das espécies de *Candida* isoladas de hemocultura através das metodologias Sensititre YeastOne® e Etest®, no Hospital das Clínicas da FMSUP no ano de 2006.

N. da cepa	Cepa	Fluconazol		Voriconazol		Itraconazol		Anfotericina		Posaconazol		Caspofungina	
		MIC (µg/mL)		MIC (µg/mL)		MIC (µg/mL)		MIC (µg/mL)		MIC (µg/mL)		MIC (µg/mL)	
		Etest	Micro	Etest	Micro	Etest	Micro	Etest	Micro	Etest	Micro	Etest	Micro
46	<i>C. albicans</i>	0.25	1	0.008	0.016	0.032	0.125	0.125	0.5	0.008	0.032	0.25	0.125
47	<i>C. parapsilosis</i>	4	16	0.064	0.125	0.064	0.25	0.125	0.5	0.064	0.25	1	0.5
48	<i>C. tropicalis</i>	1	4	0.125	0.5	0.25	1	0.016	1	0.25	1	0.125	0.064
50	<i>C. tropicalis</i>	0.25	1	0.032	0.125	0.008	0.25	0.125	1	0.064	0.25	0.064	0.016
51	<i>C. albicans</i>	0.125	0.5	0.008	0.008	0.008	0.25	0.125	0.5	0.008	0.016	0.032	0.016
52	<i>C. glabrata</i>	4	1	0.064	0.016	4	0.064	1	0.5	4	4	1	0.25
53	<i>C. parapsilosis</i>	0.5	2	0.008	0.032	0.032	0.125	0.125	0.5	0.016	0.064	0.5	0.5
54	<i>C. albicans</i>	0.125	0.5	0.008	0.008	0.016	0.064	0.064	0.25	0.008	0.016	0.25	0.25
55	<i>C. glabrata</i>	16	16	0.5	0.5	32	1	1	1	32	32	1	1
56	<i>C. parapsilosis</i>	2	4	0.064	0.032	0.064	0.032	0.125	0.5	0.016	0.032	0.5	0.25
57	<i>C. albicans</i>	0.125	0.5	0.008	0.008	0.008	0.016	0.25	0.5	0.008	0.016	0.032	0.032
58	<i>C. albicans</i>	0.125	0.25	0.008	0.008	0.064	0.064	0.125	0.5	0.008	0.016	0.064	0.125
59	<i>C. krusei</i>	64	64	0.125	0.5	0.125	0.125	0.032	1	0.064	0.25	0.5	0.5
61	<i>C. pelliculosa</i>	0.125	0.5	0.008	0.008	0.008	0.008	0.125	0.5	0.016	0.064	0.064	0.032
63	<i>C. parapsilosis</i>	4	16	0.064	0.125	0.032	0.125	0.25	1	0.032	0.125	1	0.5
64	<i>C. albicans</i>	0.25	1	0.008	0.016	0.032	0.125	0.125	0.5	0.008	0.016	1	0.5
66	<i>C. albicans</i>	4	16	0.125	0.5	0.064	0.25	0.125	0.5	0.032	0.125	0.5	0.5
67	<i>C. parapsilosis</i>	1	2	0.016	0.032	0.032	0.125	0.064	0.5	0.016	0.064	1	0.5
69	<i>C. albicans</i>	0.125	0.125	0.008	0.008	0.008	0.032	0.125	0.5	0.008	0.016	0.25	0.064
70	<i>C. albicans</i>	0.25	1	0.008	0.008	0.016	0.064	0.125	0.5	0.008	0.032	0.125	0.064
71	<i>C. tropicalis</i>	0.25	0.25	0.016	0.064	0.064	0.25	0.125	0.5	0.064	0.25	0.25	0.064
72	<i>C. tropicalis</i>	0.125	4	0.008	0.008	0.064	0.25	0.125	0.5	0.064	0.25	0.125	0.032
73	<i>C. albicans</i>	0.25	1	0.008	0.008	0.008	0.032	0.125	0.5	0.008	0.032	0.032	0.016
74	<i>C. parapsilosis</i>	4	16	0.125	0.064	1	0.25	0.5	0.5	0.5	0.125	2	0.5
75	<i>C. albicans</i>	0.125	0.5	0.008	0.008	0.016	0.032	0.125	0.5	0.008	0.016	0.032	0.064
76	<i>C. albicans</i>	0.125	0.25	0.008	0.008	0.016	0.064	0.125	0.5	0.008	0.016	0.032	0.064
77	<i>C. albicans</i>	0.125	0.5	0.008	0.016	0.032	0.125	0.125	0.5	0.016	0.064	0.032	0.125
78	<i>C. albicans</i>	0.125	0.5	0.008	0.008	0.032	0.125	0.125	0.5	0.008	0.032	0.032	0.064
79	<i>C. parapsilosis</i>	0.5	2	0.008	0.032	0.032	0.125	0.125	0.5	0.016	0.064	1	1
80	<i>C. glabrata</i>	0.125	8	0.008	0.125	0.016	0.5	0.125	0.5	0.008	1	0.125	0.125
81	<i>C. parapsilosis</i>	0.5	2	0.008	0.016	0.032	0.125	0.125	0.5	0.016	0.064	1	0.5
82	<i>C. parapsilosis</i>	0.5	2	0.008	0.032	0.25	0.25	0.125	0.5	0.016	0.064	0.5	0.5
83	<i>C. albicans</i>	0.125	0.5	0.008	0.008	0.032	0.125	0.125	0.5	0.008	0.032	0.25	0.064
84	<i>C. albicans</i>	0.125	0.25	0.008	0.008	0.016	0.032	0.125	0.5	0.008	0.016	0.125	0.064
85	<i>C. albicans</i>	0.125	0.5	0.008	0.032	0.032	0.125	0.125	0.5	0.008	0.032	0.064	0.064
86	<i>C. albicans</i>	0.125	0.5	0.008	0.016	0.016	0.064	0.125	0.5	0.008	0.032	0.064	0.064
87	<i>C. parapsilosis</i>	8	16	0.125	0.064	1	0.25	0.125	0.5	0.25	0.125	2	0.5
88	<i>C. albicans</i>	0.125	0.125	0.008	0.008	0.016	0.064	0.064	0.5	0.008	0.016	0.125	0.125

"Contunua"

Anexo III - "Conclusão". Perfil de suscetibilidade das espécies de *Candida* isoladas de hemocultura através das metodologias Sensititre YeastOne® e Etest®, no Hospital das Clínicas da FMSUP no ano de 2006.

N. da cepa	Cepa	Fluconazol		Voriconazol		Itraconazol		Anfotericina		Posaconazol		Caspofungina	
		MIC (µg/mL)		MIC (µg/mL)		MIC (µg/mL)		MIC (µg/mL)		MIC (µg/mL)		MIC (µg/mL)	
		Etest	Micro	Etest	Micro	Etest	Micro	Etest	Micro	Etest	Micro	Etest	Micro
89	<i>C. albicans</i>	0.125	0.5	0.008	0.008	0.032	0.125	0.125	0.5	0.008	0.032	0.032	0.032
90	<i>C. parapsilosis</i>	0.5	2	0.008	0.008	0.032	0.125	0.125	0.5	0.016	0.064	2	1
91	<i>C. albicans</i>	0.125	0.5	0.008	0.008	0.008	0.032	0.125	0.5	0.008	0.032	0.032	0.064
92	<i>C. albicans</i>	0.125	8	0.008	0.008	0.5	0.125	0.25	0.5	0.064	0.25	0.25	0.064
94	<i>C. albicans</i>	2	8	0.032	0.016	0.125	0.5	0.064	0.125	0.064	0.25	0.016	2
95	<i>C. parapsilosis</i>	0.5	2	0.008	0.008	0.016	1	0.125	0.5	0.016	0.064	0.5	0.5
97	<i>C. tropicalis</i>	1	4	0.032	0.125	1	0.25	1	0.5	0.25	1	0.25	0.064
104	<i>C. parapsilosis</i>	0.125	0.125	0.008	0.008	0.032	0.008	0.5	0.5	0.032	0.064	1	1
105	<i>C. albicans</i>	0.125	0.125	0.008	0.008	0.016	0.064	0.125	0.5	0.008	0.016	0.032	0.064
110	<i>C. glabrata</i>	0.125	0.5	0.016	0.008	0.064	0.125	0.25	0.5	0.016	0.032	0.25	0.064
111	<i>C. albicans</i>	0.5	0.5	0.008	0.008	0.125	0.064	0.25	0.5	0.016	0.032	1	0.032
113	<i>C. albicans</i>	0.5	0.25	0.008	0.008	0.064	0.032	0.125	0.5	0.016	0.016	0.25	0.064
116	<i>C. guilliermod.</i>	4	4	0.064	0.125	32	16	0.5	0.5	4	4	2	2
117	<i>C. tropicalis</i>	1	4	0.032	0.125	32	16	0.25	1	0.25	0.25	2	0.064
118	<i>C. albicans</i>	0.125	0.5	0.008	0.016	0.5	0.5	1	1	0.016	0.032	1	1
119	<i>C. albicans</i>	0.25	0.25	0.008	0.008	0.25	0.064	0.25	0.5	0.064	0.016	0.25	0.064
124	<i>C. albicans</i>	0.25	0.5	0.008	0.008	0.25	0.125	1	0.5	0.032	0.032	0.25	0.064
128	<i>C. tropicalis</i>	1	1	0.032	0.125	0.125	0.5	1	0.5	0.064	0.25	1	0.5
130	<i>C. parapsilosis</i>	0.5	1	0.016	0.008	0.008	0.25	0.5	0.5	0.032	0.064	4	0.032
131	<i>C. albicans</i>	0.25	0.25	0.008	0.008	0.064	0.064	0.5	0.5	0.016	0.032	0.25	0.064
133	<i>C. parapsilosis</i>	0.25	1	0.008	0.008	0.25	0.125	0.064	0.5	0.064	0.064	2	0.5
134	<i>C. albicans</i>	0.25	0.5	0.008	0.008	1	0.25	0.5	0.5	0.064	0.064	1	0.032
135	<i>C. albicans</i>	0.125	0.5	0.008	0.016	0.064	0.25	0.5	0.5	0.032	0.125	1	0.5
136	<i>C. parapsilosis</i>	0.25	0.5	0.016	0.008	0.5	0.25	0.125	0.25	0.064	0.032	2	1

Nota: (*C. guilliermond*) *C. guilliermondii*; (Etest) Valores das concentrações inibitórias mínimas pelo Etest® em µg/mL; (Micro) Valores das concentrações inibitórias mínimas pela microdiluição Sensititre YeastOne® µg/mL.

Anexo IV - Perfil de suscetibilidade das espécies de *Candida* isoladas de hemocultura através da metodologia disco difusão no Hospital das Clínicas da FMSUP no ano de 2006.

Número da cepa	Cepa	Fluconazol		Voriconazol	
		Halo (mm)	Categorização dos isolados	Halo (mm)	Categorização dos isolados
1	<i>C. albicans</i>	29	S	23	S
2	<i>C. albicans</i>	40	S	43	S
3	<i>C. albicans</i>	30	S	36	S
4	<i>C. glabrata</i>	13	R	13	R
5	<i>C. parapsilosis</i>	30	S	28	S
6	<i>C. albicans</i>	33	S	35	S
7	<i>C. albicans</i>	40	S	39	S
8	<i>C. albicans</i>	40	S	39	S
9	<i>C. albicans</i>	34	S	36	S
10	<i>C. albicans</i>	38	S	42	S
13	<i>C. albicans</i>	33	S	26	S
14	<i>C. albicans</i>	32	S	37	S
15	<i>C. tropicalis</i>	24	S	21	S
16	<i>C. tropicalis</i>	31	S	30	S
17	<i>C. tropicalis</i>	25	S	24	S
18	<i>C. albicans</i>	39	S	35	S
19	<i>C. albicans</i>	31	S	28	S
21	<i>C. albicans</i>	27	S	40	S
22	<i>C. albicans</i>	26	S	26	S
23	<i>C. krusei</i>	32	S	36	S
24	<i>C. parapsilosis</i>	36	S	39	S
25	<i>C. tropicalis</i>	45	S	46	S
26	<i>C. tropicalis</i>	33	S	30	S
28	<i>C. albicans</i>	40	S	42	S
29	<i>C. tropicalis</i>	39	S	39	S
30	<i>C. krusei</i>	15	SDD	29	S
32	<i>C. albicans</i>	36	S	30	S
33	<i>C. albicans</i>	23	S	37	S
34	<i>C. albicans</i>	38	S	42	S
36	<i>C. albicans</i>	33	S	39	S
38	<i>C. albicans</i>	29	S	30	S
39	<i>C. parapsilosis</i>	38	S	40	S
40	<i>C. parapsilosis</i>	29	S	33	S
41	<i>C. parapsilosis</i>	38	S	40	S
42	<i>C. albicans</i>	36	S	36	S
43	<i>C. albicans</i>	39	S	39	S
44	<i>C. parapsilosis</i>	20	S	27	S
45	<i>C. tropicalis</i>	34	S	30	S

"Continua"

Anexo IV - "Continuação". Perfil de suscetibilidade das espécies de *Candida* isoladas de hemocultura através da metodologia disco difusão no Hospital das Clínicas da FMSUP no ano de 2006.

Número da cepa	Cepa	Fluconazol		Voriconazol	
		Halo (mm)	Categorização dos isolados	Halo (mm)	Categorização dos isolados
46	<i>C. albicans</i>	34	S	39	S
47	<i>C. parapsilosis</i>	18	SDD	22	S
48	<i>C. tropicalis</i>	29	S	30	S
50	<i>C. tropicalis</i>	29	S	21	S
51	<i>C. albicans</i>	35	S	35	S
52	<i>C. glabrata</i>	15	SDD	15	SDD
53	<i>C. parapsilosis</i>	34	S	42	S
54	<i>C. albicans</i>	15	SDD	36	S
55	<i>C. glabrata</i>	24	S	15	SDD
56	<i>C. parapsilosis</i>	35	S	28	S
57	<i>C. albicans</i>	30	S	38	S
58	<i>C. albicans</i>	14	R	30	S
59	<i>C. krusei</i>	45	S	21	S
61	<i>C. pelliculosa</i>	20	S	39	S
63	<i>C. parapsilosis</i>	25	S	22	S
64	<i>C. albicans</i>	20	S	28	S
66	<i>C. albicans</i>	29	S	23	S
67	<i>C. parapsilosis</i>	40	S	30	S
69	<i>C. albicans</i>	35	S	47	S
70	<i>C. albicans</i>	23	S	30	S
71	<i>C. tropicalis</i>	31	S	25	S
72	<i>C. tropicalis</i>	39	S	33	S
73	<i>C. albicans</i>	20	S	44	S
74	<i>C. parapsilosis</i>	37	S	25	S
75	<i>C. albicans</i>	35	S	40	S
76	<i>C. albicans</i>	35	S	35	S
77	<i>C. albicans</i>	30	S	35	S
78	<i>C. albicans</i>	35	S	35	S
79	<i>C. parapsilosis</i>	37	S	40	S
80	<i>C. glabrata</i>	40	S	40	S
81	<i>C. parapsilosis</i>	39	S	42	S
82	<i>C. parapsilosis</i>	37	S	38	S
83	<i>C. albicans</i>	46	S	48	S
84	<i>C. albicans</i>	45	S	49	S
85	<i>C. albicans</i>	44	S	40	S
86	<i>C. albicans</i>	18	SDD	48	S
87	<i>C. parapsilosis</i>	54	S	22	S
88	<i>C. albicans</i>	38	S	59	S

"Continua"

Anexo IV - "Conclusão". Perfil de suscetibilidade das espécies de *Candida* isoladas de hemocultura através da metodologia disco difusão no Hospital das Clínicas da FMSUP no ano de 2006.

Número da cepa	Cepa	Fluconazol		Voriconazol	
		Halo (mm)	Categorização dos isolados	Halo (mm)	Categorização dos isolados
89	<i>C. albicans</i>	39	S	46	S
90	<i>C. parapsilosis</i>	45	S	44	S
91	<i>C. albicans</i>	23	S	48	S
92	<i>C. albicans</i>	27	S	25	S
94	<i>C. albicans</i>	29	S	29	S
95	<i>C. parapsilosis</i>	30	S	27	S
97	<i>C. tropicalis</i>	36	S	33	S
104	<i>C. parapsilosis</i>	30	S	40	S
105	<i>C. albicans</i>	35	S	33	S
110	<i>C. glabrata</i>	20	S	40	S
111	<i>C. albicans</i>	40	S	21	S
113	<i>C. albicans</i>	34	S	43	S
116	<i>C. guilliermod.</i>	25	S	37	S
117	<i>C. tropicalis</i>	30	S	33	S
118	<i>C. albicans</i>	30	S	32	S
119	<i>C. albicans</i>	29	S	30	S
124	<i>C. albicans</i>	29	S	30	S
128	<i>C. tropicalis</i>	30	S	36	S
130	<i>C. parapsilosis</i>	32	S	35	S
131	<i>C. albicans</i>	20	S	25	S
133	<i>C. parapsilosis</i>	33	S	38	S
134	<i>C. albicans</i>	17	SDD	20	S
135	<i>C. albicans</i>	31	S	33	S
136	<i>C. parapsilosis</i>	26	S	31	S

NOTA: (S) Sensível (SDD) Sensível dependente da dose; (R) Resistente.

Anexo V- Resultados obtidos nos teste de controle de qualidade com cepas "Americam Type Culture Collection" (ATCC) para as metodologias Sensititre YeastOne®, Etest® e Disco Difusão.

Drogas e ensaios	Sensititre YeastOne® (MIC µg/mL)		Etest® (MIC µg/mL)		Disco difusão (halo mm)	
	ATCC		ATCC		ATCC	
	22019*	6258**	22019*	6258**	22019*	6258**
Ensaio 1						
Anfotericina B	0.5	1	0.25	1	-	-
FLuconazol	1	32	2	64	19	13
Itraconazol	0.125	0.125	0.25	0.125	-	-
Voriconazol	0.016	0.064	0.016	0.064	21	20
Posaconazol	0.064	0.125	0.125	0.25	-	-
Caspofungina	0.25	0.25	0.25	0.25	-	-
Ensaio 2						
Anfotericina B	0.25	1	0.5	1	-	-
FLuconazol	2	8	4	16	20	11
Itraconazol	0.5	0.125	0.25	0.125	-	-
Voriconazol	0.016	0.064	0.016	0.064	25	28
Posaconazol	0.064	0.125	0.25	0.5	-	-
Caspofungina	0.25	0.125	0.25	0.125	-	-
Ensaio 3						
Anfotericina B	0.25	1	0.5	1	-	-
FLuconazol	1	64	2	64	25	9
Itraconazol	0.25	0.25	0.125	0.25	-	-
Voriconazol	0.032	0.125	0.032	0.125	29	32
Posaconazol	0.125	0.25	0.25	0.5	-	-
Caspofungina	0.25	0.5	0.25	0.5	-	-
Ensaio 4						
Anfotericina B	0.5	0.5	0.5	0.5	-	-
FLuconazol	0.5	32	2	64	23	6
Itraconazol	0.25	0.25	0.5	0.25	-	-
Voriconazol	0.064	0.25	0.064	0.25	28	30
Posaconazol	0.064	0.125	0.125	0.25	-	-
Caspofungina	0.5	0.25	0.5	0.25	-	-
Ensaio 5						
Anfotericina B	0.5	1	0.5	1	-	-
FLuconazol	0.5	64	1	64	25	10
Itraconazol	0.25	0.125	0.25	0.125	-	-
Voriconazol	0.016	0.25	0.016	0.25	27	-
Posaconazol	0.125	0.125	0.25	0.5	-	-
Caspofungina	0.5	0.125	0.5	0.125	-	-

Nota: * Cepa ATCC de *C. parapsilosis*; ** Cepa ATCC de *C. krusei*. Range dos MICS das drogas segundo documento M27 A3 em leituras de 24 horas para *C. parapsilosis* ATCC 22019 Anfotericina B 0.25-2 µg/mL; Caspofungina 0.25-1 µg/mL; Fluconazol 0.5-4 µg/mL; Itraconazol 0.125-0.5 µg/mL; Voriconazol 0.016-0.125 µg/mL; Posaconazol 0.064-0.25 µg/mL e *C. krusei* ATCC 6258 Anfotericina B 0.5-2 µg/mL; Caspofungina 0.125-1 µg/mL; Fluconazol 8-64 µg/mL; Itraconazol 0.125-1 µg/mL; Voriconazol 0.064-0.5 µg/mL;.

Anexo VI - Análise dos resultados dos MIC da microdiluição Sensititre YeastOne® (SYO®) versus Etest® através do r de Person e análise da correlação entre categorias para *Candida* spp, isoladas de hemoculturas no HC-FMUSP - 2006.

Drogas	Acordo		Coefficiente	Regressão	r
	Observado	Esperado	Kappa	Equação	
<i>C. albicans</i> (56)					
Anfotericina B	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -3.21 - 0.12 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.05
Caspofungina	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -1.45 + 0.46 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.38
Fluconazol	0.98	0.98	0.00	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -1.83 + 0.42 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.52
Itraconazol	0.86	0.76	0.40	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -1.58 + 0.85 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.63
Voriconazol	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -4.11 + 0.39 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.5
Posaconazol	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -2.81 + 0.69 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.72
<i>C. parapsilosis</i> (21)					
Anfotericina B	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -2.44 + 0.44 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.52
Caspofungina	0.90	0.90	0.00	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -0.25 + 0.39 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.37
Fluconazol	0.81	0.81	0.00	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -1.27 + 0.85 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.89
Itraconazol	0.57	0.47	0.20	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -2.68 + 0.46 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.33
Voriconazol	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -2.23 + 0.66 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.70
Posaconazol	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -1.41 + 0.92 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.58
<i>C. tropicalis</i> (14)					
Anfotericina B	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = 3.03 + 0.23 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	-0.11
Caspofungina	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -0.82 + 0.44 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.42
Fluconazol	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -1.58 + 0.16 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.18
Itraconazol	0.29	0.24	0.05	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -2.69 + 0.81 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.62
Voriconazol	0.93	0.93	0.00	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -4.38 + 0.29 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.64
Posaconazol	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -2.01 + 0.83 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.94
<i>C. glabrata</i> (4)					
Anfotericina B	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = 0.00 + 1.50 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.58
Caspofungina	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = 0.63 + 0.79 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.66
Fluconazol	3.80	1.00	1.00	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -0.59 + 1.03 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.56
Itraconazol	0.80	0.38	0.60	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = 1.65 + 0.60 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.38
Voriconazol	0.75	0.56	0.43	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -0.34 + 0.95 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.78
Posaconazol	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -4.78 + 2.42 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.89
<i>C. krusei</i> (2)					
Anfotericina B	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -0.00 + 1.50 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	-
Caspofungina	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = 1.97 + 2.97 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	1.00
Fluconazol	0.50	0.50	0.00	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = 60.0 - 9.00 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	-1.00
Itraconazol	0.50	0.50	0.00	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -0.00 + 1.00 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	1.00
Voriconazol	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -2.25 + 0.75 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	1.00
Posaconazol	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -2.00 + 0.98 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	1.00
Outras (3)					
Anfotericina B	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -0.03 + 1.97 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.75
Caspofungina	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = 0.00 + 1.00 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.96
Fluconazol	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -1.57 + 1.71 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.99
Itraconazol	1.00	1.00	0.00	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = 0.01 + 1.17 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.99
Voriconazol	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -1.17 + 0.76 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	1.00
Posaconazol	NA	NA	NA	$\log_2(\text{Etest}^\circledast) = -0.54 + 1.17 \log_2(\text{SYO}^\circledast)$	0.99

Anexo VII - Análise de regressão linear obtida através dos resultados de MIC da microdiluição Sensititre YeastOne® e Etest versus halos do disco difusão e análise da correlação entre categorias (S; SDD; R) para *Candida* spp, fluconazol e voriconazol, isoladas em hemoculturas no HC-FMUSP - 2006.

Espécies (n)	Kappa			Regressão linear	
	Obs	Esp	Coef	Equação	r
Fluconazol					
<i>C. albicans</i> (56)	NA	NA	NA	Disco = 31,55-1,87 log2 (Microdiluição®)	-0,36
	0,98	0,98	0,00	Disco = 26,43-3,15 log2 (Etest®)	-0,49
<i>C. parapsilosis</i> (21)	0,90	0,75	0,60	Disco = 32,86-2,18 log2 (Microdiluição®)	-0,51
	0,90	0,90	0,00	Disco = 29,53-2,99 log2 (Etest®)	-0,67
<i>C. tropicalis</i> (14)	NA	NA	NA	Disco = 31,96-1,11 log2 (Microdiluição®)	-0,29
	NA	NA	NA	Disco = 30,37-0,39 log2 (Etest®)	-0,09
<i>C. glabrata</i> (4)	0,31	0,75	0,64	Disco = 21,91-0,59 log2 (Microdiluição®)	-0,13
	0,31	0,75	0,64	Disco = 26,00-2,18 log2 (Etest®)	-0,88
<i>C. krusei</i> (2)	0,50	0,50	0,00	Disco = 8,00+1,00 log2 (Microdiluição®)	1,00
	0,50	0,50	0,00	Disco = 14,67-0,11 log2 (Etest®)	-1,00
Outras (3)	NA	NA	NA	Disco = 36,00-6,21 log2 (Microdiluição®)	-0,94
	NA	NA	NA	Disco = 30,64-3,36 log2 (Etest®)	-0,88
Voriconazol					
<i>C. albicans</i> (56)	NA	NA	NA	Disco = 24,43-1,76 log2 (Microdiluição®)	-0,23
	NA	NA	NA	Disco = 23,08-1,93 log2 (Etest®)	-0,19
<i>C. parapsilosis</i> (21)	NA	NA	NA	Disco = 20,64-2,33 log2 (Microdiluição®)	-0,48
	NA	NA	NA	Disco = 09,58-4,09 log2 (Etest®)	-0,80
<i>C. tropicalis</i> (14)	0,93	0,93	0,00	Disco = 23,94-1,85 log2 (Microdiluição®)	-0,60
	NA	NA	NA	Disco = 27,31-0,64 log2 (Etest)	-0,09
<i>C. glabrata</i> (4)	0,50	0,25	0,33	Disco = 18,60-0,96 log2 (Microdiluição®)	-0,22
	0,50	0,25	0,33	Disco = 14,01-2,71 log2 (Etest)	-0,81
<i>C. krusei</i> (2)	NA	NA	NA	Disco = 18,98+2,02 log2 (Microdiluição®)	-1,00
	NA	NA	NA	Disco = 14,95-2,02 log2 (Etest®)	-1,00
Outras (3)	NA	NA	NA	Disco = 36,62-0,13 log2 (Microdiluição®)	-0,19
	NA	NA	NA	Disco = 30,34-0,17 log2 (Etest®)	-0,19

8. REFERÊNCIA

8. REFERÊNCIAS.

Alexander BD, Byrne TC, Smith KL, Kimberly EH, Kevin JA, Perfect JR, Reller LB. Comparative evaluation of Etest and sensititre yeastone panels against the Clinical and Laboratory Standards Institute M27-A2 reference broth microdilution method for testing *Candida* susceptibility to seven antifungal agents. *J Clin Microbiol* 2007; 45(3): 698-706.

Almeida GM, Costa SF, Melhem M, Motta AL, Szeszs MW, Miyashita F, Pierrotti LC, Rossi F, Burattini MN. *Rhodotorula* spp. isolated from blood cultures: clinical and microbiological aspects. *Med Mycol.* 2008; 12: 1-10.

Almeida GMD, Motta AL, Assis RS, Takahashi EAR, Rossi F. Distribuição das espécies de fungos isoladas em hemocultura na Seção de Microbiologia do Hospital das Clínicas - FMUSP de 1999 à 2002. Projeto HCNET. In: XIII Congresso Brasileiro de Infectologia, 2003, Goiânia - GO. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. Salvador - BA : Contexto, 2003. v. 7. p. S137.

Almeida GMD, Sansone M, Cury AP. ; Assis RS, Takahashi EAR, Santos OC, Freitas SART, Motta AL, Sales TC, Alves, SMM ; Vacari EH, Lacaz, CS, Costa SF, Rossi F. Prevalência de fungos isolados em hemoculturas na seção de microbiologia da divisão de laboratório central do hospital das clínicas - FMUSP.

In: 35 Congresso Brasileiro de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial, 6 Congresso do Mercosul e 5 Congresso de Gestão Laboratorial, 2001, Salvador - Bahia, 2001.

Almirante B, Cuenca-Estrella, Rodríguez D, et al. Epidemiology and predictors of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J Clin Microbiol* 2005; 43(4): 1829-1835.

Al-Tawfiq JA. Distribution and epidemiology of *Candida* species causing fungemia at a Saudi Arabian hospital, 1996-2004. *Int J Infect Dis*. 2007; 11(3): 239-244.

Aquino VR, Lunardi LW, Goldani LZ, Bart AL. Prevalence, susceptibility profile for fluconazole and risk factors for candidemia in a tertiary care hospital in southern Brazil. *Braz J Infect Dis* 2005; 9: 411-418.

Arendrup MC., Fuursted K, Gahrn-Hansen B, Jensen IM, Knudsen JD, Lundgren B, Schonheyder HC, Tvede M. Semination surveillance of fungemia in Denmark: notably high rates of fungemia and numbers of isolates with reduced azole susceptibility. *J Clin Microbiol* 2005; 50(10): 3496 – 3498.

Asmundsdóttir LR, Erlendsdóttir H, Gottfredsson M. Increasing incidence of candidemia: results from a 20-year nationwide study in Iceland. *J Clin Microbiol.* 2002; 40(9): 3489-3492.

Baixench MT, Aoun N, Desnos-Ollivier M, Garcia-Hermoso D, Bretagne S, Ramires S, Piketty C, Dannaoui E. Acquired resistance to echinocandins in *Candida albicans*: case report and review. *J Antimicrob Chemother.* 2007; 59(6): 1076-83.

Balashov SV, Park S, Perlin DS. Assessing resistance to the echinocandin antifungal drug caspofungin in *Candida albicans* by profiling mutations in FKS 1. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50: 2058-2063.

Barry AL, Pfaller MA, Rennie RP, Fuchs PC, Brown SD. Precision and accuracy of fluconazole susceptibility testing by broth microdilution, Etest, and disk diffusion methods. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46(6): 1781-17814.

Bassetti M, Righi E, Costa A, Fasce R, Molinardi MP, Rosso R, Pallavicini FB, Viscoli C. Epidemiological trends in nosocomial candidemia in intensive care. *BMC Infect Dis* 2006; 6(21): 1-6.

Beck-Sague CM, Jarvis W. Secular Trends in the Epidemiology of Nosocomial Fungal Infections in the United States, 1980-1990. *J Infect Dis* 1993; 167: 1247-1251.

Bishop JA, Chase N, Magill SS, Kurtzman CP, Fiandaca MJ, Merz WG. *Candida bracarensis* Detected among Isolates of *Candida glabrata* by Peptide Nucleic Acid Fluorescence In Situ Hybridization: Susceptibility Data and Documentation of Presumed Infection. *J Clin Microbiol.* 2008; 46(2):443-446.

Blot SI, Vandewoude KH, Hoste EA, Colardyn FA. Effects of Nosocomial Candidemia on Outcomes of Critically Ill Patients. *The Amer J Med.* 2002; 113: 480-485.

Borst A, Raimer MT, Warnock DW, Morrison CJ, Arthington-Skaggs BA. Rapid acquisition of stable azole resistance by *Candida glabrata* isolates obtained before the clinical introduction of fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(2): 783 -787.

Bradley AJ, Russel LE, Kontoyiannis P. *Candida lusitaniae* fungemia in cancer patients: risk factors for amphotericin B failure and outcome. *Med Mycol.* 2008; 46: 541-546.

Brito LR, Guimarães T, Nucci M, Rosas RC, Almeida LP, DaMatta DA, Colombo AL. Clinical and microbiological aspects of candidemia due to *Candida parapsilosis* in Brazilian tertiary care hospitals. *Med Mycol* 2006; 44: 261-266.

Catón E, Pemán J, Sastre M, Valentin A, Bosch MA, Spinel-ingroff. Evaluation and utility of the Etest and NeoSensitabs methods in studying fluconazole yeast susceptibility. *Rev Esp Quimioterap* 2006; 19(3): 267 - 274.

Chakrabarti A, Chatterjee SS, Shivaprakash MR. Overview of opportunistic fungal infections in India. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi*. 2008; 49(3): 165-172.

Chang HC, Chang JJ, Chan SH, Huang AH, Wu TL, Lin MC, Chang TC. Evaluation of Etest for direct antifungal susceptibility testing of yeasts in positive blood cultures. *J Clin Microbiol* 2001; 39(4): 1328-1333.

Chang MR, Correia FP, Costa LC, Xavier PC, Palhares DB, Taira DL, Paniago AM, Pontes ER, Machado VE. Candida bloodstream infection: data from a teaching hospital in Mato Grosso do Sul, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2008; 50(5):265-268.

Chen S, Slavin M, Nguyen Q, Marriott D, Playford EG, Ellis D, Sorrell T; Australian Candidemia Study. Active surveillance for candidemia, Australia. *Emerg Infect Dis*. 2006; 12(10):1508-1516.

Chryssanthou E, Cuenca-Estrella M. Trends in antifungal susceptibility among Swedish *Candida* species bloodstream isolates from 1994 to 1998: comparison of the Etest and the Sensititre Yeast One colorimetric antifungal panel with the NCCLS M27-A reference method. *J Clin Microbiol* 2001; 40(1): 4181-4183.

Cleary JD, Garcia-Effron G, Chapman SW, Perlin DS. Reduced *Candida glabrata* susceptibility secondary to an FKS₁ mutation developed during candidemia treatment. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008; 52(6): 2263-5.

Clerihew L, Lamagni TL, Brocklehurst P, Guire Mc W. *Candida* parapsilosis infection in very low birthweight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*. 2007; 92(2): 127-129.

CLSI 2004. Reference method for disk diffusion antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard, 2nd ed. NCCLS document M44–A. NCCLS, Wayne, PA

CLSI 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard, 2nd ed. NCCLS document M27–A3. NCCLS, Wayne, PA.

Colombo AL, Guimarães T, Silva LR, de Almeida Monfardini LP, Cunha AK, Rady P, Alves T, Rosas RC. Prospective observational study of candidemia in São

Paulo, Brazil: incidence rate, epidemiology, and predictors of mortality. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2007; 28(5): 570-576.

Colombo AL, Nucci M, Park BJ, Nouér SA, Arthington-Skaggs B, da Matta DA, Warnock D, Morgan J; Brazilian Network Candidemia Study. Brazilian Network Candidemia Study. Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. *J Clin Microbiol* 2006; 44(8): 2816-2823.

Cornelius JC, Staley B, Nguyen H. In vitro susceptibility of breakthrough *Candida* bloodstream isolates correlates with daily and cumulative doses of fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 49(10):767-769.

Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Mellado E, Buitrago MJ, Monzon A, Rodriguez-Tudela JL. Head-to-head comparison of the activities of currently available antifungal agents against 3,378 Spanish clinical isolates of yeasts and filamentous fungi. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(3): 917-921.

Cuenca-Estrella M, Lee-Yang W, Ciblak MA, Arthington-Skaggs BA, Mellado E, Warnock DW, Rodriguez-Tudela JL. Comparative evaluation of NCCLS M27-A and EUCAST broth microdilution procedures for antifungal susceptibility testing of *Candida* species. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46(11): 3644-3647.

Desnos-Ollivier M, Bretagne S, Raoux D, Hoinard D, Dromer F, Dannaoui E; European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing. Mutations in the *fks1* gene in *Candida albicans*, *C. tropicalis*, and *C. krusei* correlate with elevated caspofungin MICs uncovered in AM3 medium using the method of the European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008; 52(9): 3092-3098.

Diamond RD. The growing problem of mycoses in patients infected with the human immunodeficiency virus. *Rev Infect Dis.* 1991;13(3):480-486.

Diekema JD, Messer AS, Hollins RJ, Boiken LB, Tendolkar S, Kroeger J, Pfaller MA. Evaluation of Etest and disk diffusion methods compared with broth microdilution antifungal susceptibility testing of clinical isolates of *Candida* spp. against posaconazole. *J Clin Microbiol* 2007; 45(6): 1974-1977.

Dignani M.C, Solomkin J.S, Anaisse E.Jr: The Epidemiology of Fungal Infections. In: Anaisse EJ, McGinnis MR, Pfaller MA. *Medical Mycology*. 1a ed. Curch Livingstone Phyladelphia: Elsevier: 2003. 3-19.

Effron-Garcia G, Katiyar SK, Park S, Edlind TD, Perlin DS. A naturally occurring proline to alanine amino-acid change in Fks1p in *C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis*

and *C.metapsilosis* accounts for reduced echinocandin susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52(7): 2305-2312.

Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infection in critically ill non immunosuppressed patients. *The lancet Infect Dis* 2003; 3: 685-702.

Ellepolo ANB, Morrison CJ, Laboratory diagnosis of invasive candidiasis. *J Microbiol.* 2005; 43(S): 65 -84.

Epinel-Ingroff A, Barchiesi F, Cuenca-Estrella M, Fothergill A, Pfaller MA, Rinaldi M, Rodrigues-Tudela JL, Verweij PE. Comparison of visual 24 hour and spectrophotometric 48 hour MICs to CLSI reference microdilution MICs of fluconazole, itraconazole, posaconazole and voriconazole for *Candida* spp., a collaborative study. *J Clin Microbiol* 2008; 43(9): 4535-4540.

Espinel-Ingroff A, F Barchiesi, Cuenca-Estrella M, Pfaller MA, M. Rinaldi, Rodriguez-Tudela JL, Verweij PE. International and Multicenter Comparison of EUCAST and CLSI M27-A2 Broth Microdilution Methods for Testing Susceptibilities of *Candida* spp. to Fluconazole, Itraconazole, Posaconazole, and Voriconazole. *J Clin Microbiol.* 2005; 43(8): 3884–3889.

Espinel-Ingroff A. Mechanisms of resistance to antifungal agents: yeasts and filamentous fungi. *Rev Iberoam Micol.* 2008; 25(2): 101-106.

Fidel PL Jr, Vazquez JA, Sobel JD. *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. *Clin Microbiol Rev.* 1999; 12(1): 80-96.

Food and Drug Administration. 2003. Classe II special control guidance document: antimicrobial susceptibility test systems; guidance for industry. Food and Drug Administration. Washington DC.

França JC, Ribeiro CE, Queiroz-Telles F. Candidemia in a Brazilian tertiary care hospital: incidence, frequency of different species, risk factors and antifungal susceptibility. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008; 41(1): 23-28.

Freydiere AM, Guinet R, Boiron P. Yeast identification in the clinical microbiology laboratory: phenotypical methods. *Med Mycol.* 2001; 39(1):9-33.

Fridkin SK, Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections. *Clin Microbiol Rev.* 1996; 9(4):499-511.

Garbino J, Kolarova L, Rohner P, Lew D, Pichna P, Pittet D. Secular trends of candidemia over 12 years in adult patients at a tertiary care hospital. *Medicine* (Baltimore). 2002; 81(6): 425-433.

Girão E, Levin AS, Basso M, Gobara S, Gomes LB, Medeiros EA, Costa SF. Seven-year trend analysis of nosocomial candidemia and antifungal (fluconazole and caspofungin) use in Intensive Care Units at a Brazilian University Hospital. *Med Mycol* 2008; 46: 581-588.

Godoy P, Tiraboschi IN, Severo LC, Bustamante B, Calvo B, Almeida LP, da Matta DA, Colombo AL. Species distribution and antifungal susceptibility profile of *Candida* spp. Blood stream isolates from Latin American hospitals. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003; 98(3): 401-405.

Gudlaugsson O, Gillespie S, Lee K, Vande Berg J, Hu J, Messer S, Herwaldt L, Pfaller M, Diekema D. Attributable mortality of nosocomial candidemia revisited. *Clin Infect Dis*. 2003; 37(9):1172-1177.

Guery BP, Arendrup MC, Auzinger G, Azoulay E, Borges Sá M, Johnson EM, Müller E, Putensen C, Rotstein C, Sganga G, Venditti M, Zaragoza Crespo R, Kullberg BJ. Management of invasive candidiasis and candidemia in adult non-neutropenic intensive care unit patients: Part I. Epidemiology and diagnosis. *Intensive Care Med*. 2008; 30.

Hazen KC, Howell SA. *Candida*, *Cryptococcus* and other yeast of medical importance. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landy ML, Pfaller MA. In: *Clinical Microbiology*. Washington, DC: ASM Press. 2007. 1762-1788.

Hinrichsen SL, Falcão E, Vilella TA, Colombo AL, Nucci M, Moura L, Rêgo L, Lira C, Almeida L. Candidemia in a tertiary hospital in northeastern Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008; 41(4): 394-398.

Hsueh PR, Teng LJ, Yang PC, Ho SW, Luh KT. Emergence of nosocomial candidemia at a teaching hospital in Taiwan from 1981 to 2000: increased susceptibility of *Candida* species to fluconazole. *Microb Drug Resist*. 2002; 8(4): 311-319.

Innings A, Ullberg M, Johansson A, Rubin CJ, Noreus N, Isaksson M, Herrmann B. Multiplex Real-Time PCR Targeting the RNase P RNA Gene for Detection and Identification of *Candida* Species in Blood. *J Clin Microbiol*. 200; 45(3): 874-880.

Javis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infection with emphasis on *Candida* species. *Clin Infec Dis* 1995; 20: 156.

Johnson EM. Issues in antifungal susceptibility testing. *J. Antimicrob Chemother*. 2008; 61(1): 13-18.

Jorgensen JH, Selection criteria for an antimicrobial susceptibility testing system *J Clin Microbiol* 1993; 31(11): 743-746.

Kahn JN, Garcia-Effron G, Hsu MJ, Park S, Marr KA, Perlin DS. Acquired echinocandin resistance in a *Candida krusei* isolate due to modification of glucan synthase. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007; 51(5): 1876-1878.

Kanafani AZ, Perfect JR. Resistance to antifungal agents: Mechanisms and clinical impact. *Clin Infect Dis* 2007; 469 (1): 120-128.

Klotz SA, Chasin BS, Powell B, Gaur NK, Lipke PN. Polymicrobial bloodstream infections involving *Candida* species: analysis of patients and review of the literature. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 59(4): 401-416.

Kojic EM, Darouiche RO. *Candida* Infection of Medical Devices. *J Clin Microbiol Rev* 2004; 17(2): 255-267.

Krcmeryb V, Barnes. A J. Non-*albicans* *Candida* spp. causing fungaemia: pathogenicity and antifungal resistance. *J of Hosp Infect* 2002; 50: 243-260.

Krogh-Madsen M, Arendrup MC, Heslet L, et al. Aphotericin B and Caspofungin resistance in *Candida glabrata* isolates recovered from a critically ill patient. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 938-944.

Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari EM, Melo NT. *Tratado de micologia médica Lacaz*. 9ª ed. São Paulo: Sarvier; 2002.

Levin AS, Costa SF, Mussi NS, et al. *Candida parapsilosis* fungemia associated with implantable and semi-implantable central venous catheters and the hands of healthcare workers. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998; 30: 243-249.

Lin MY, Carmeli Y, Zumsteg J, Flores EL, Tolentino J, Sreeramoju P, Weber SG. Prior antimicrobial therapy and risk for hospital-acquired *Candida glabrata* and *Candida krusei* fungemia: a case-case-control study. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49(11): 4555-60.

Lobo RD, Levin AS, Gomes LM, Cursino R, Park M, Figueiredo VB, Taniguchi L, Polido CG, Costa SF. Impact of an educational program and policy changes on decreasing catheter-associated bloodstream infections in a medical intensive care unit in Brazil. *Am J Infect Control*. 200; 33(2):83-87.

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

Lunel FMV, Meis, JFGM.; Voss A. Nosocomial Fungal Infections. *Diag Microbiol Infec Dis.*1999; 34: 213-220.

Lupetti A, Tavanti A, Davini P, Ghelardi E, Corsini V, Merusi I, Boldrini A, Campa M, Senesi S. Horizontal transmission of *Candida parapsilosis* candidemia in a neonatal intensive care unit. *J Clin Microbiol.* 2002; 40(7): 2363-2369.

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

Magill SS, Shields C, Sears CL, et al. Triazole cross-resistance among *Candida* spp.: case report, occurrence among bloodstream isolates, and implications for antifungal therapy. *J Clin Microbiol* 2006; 44 (2): 529-535.

Marr KA, Lyons CN, Ha K, Rustad TR, White TC. Inducible azole resistance associated with a heterogeneous phenotype in *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45(1): 52-59.

Martin GS, Mannino DM, Eaton S, et al. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N. Engl. J. Med* 2003; 348: 1546–1554.

McNeil MM, Nash SL, Hajjeh RA, Phelan M A, Conn L A, Plikaytis BD, Warnock. Trends in mortality due to invasive mycotic diseases in the United States, 1980–1997. *Clin. Infect. Dis.* 2001; 33: 641–647.

Medrano DJ, Brilhante RS, Cordeiro Rde A, Rocha MF, Rabenhorst SH, Sidrim JJ. Candidemia in a Brazilian hospital: the importance of *Candida parapsilosis*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2006; 48(1):17-20.

Meyer S.A, Payne R.W, Yarow D. *Candida* Berkhout. In Kurtzman C.P, Fell J.W. *The Yeast, a taxonomic Study.* Elsevier, Amsterdam 1998, 454-455.

Morace G, Amato G, Bistoni F, Fadda G, Marrone P, Montagna MT, Olivieri S, Polonelli L, Rigoli R, Mancuso I, La Face S, Masucci L, Romana L, Napoli C, Tatò D, Buscema MG, Belli CMC, Piccirillo MM, Conti S, Covan S, Fanti F, Cavanna C, Alò F, Pitzurra L. Multicenter comparative evaluation of six commercial systems and the national committee for clinical laboratory standards M27-A2 broth microdilution method for fluconazole susceptibility testing of *Candida* species. *J Clin Microbiol* 2002; 40(8): 2953 - 2958.

Morgan J. Global trends in candidemia: review of reports from 1995-2005. *Curr Infect Dis Rep.* 2005; 7(6): 429-439.

Morrison VA, Haake RJ, Weinsdorf DJ. The spectrum of non-*Candida* fungal infections following bone marrow-transplantation. *Medicine* 1993; 72:78-89.

Motta AL, Almeida GMD, Rossi F. Ocorrência de fungos em hemocultura em 2005 no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP) e distribuição das principais espécies de *Candida* nos pacientes adultos e pediátricos. XVI Congresso Brasileiro de Infectologia: 2007; Curitiba.

Motta AL, Rossi F, Honório SR, Andreazzi DB, Tavelin W, Burattini MN, Almeida GMD. Candidemias no período de 1996 - 2004. Projeto HCNET. Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. XV Congresso Brasileiro de Infectologia: 2005; Belo Horizonte.

Moudgal V, Little T, Boikov D, Vasquez JA. Multiechinocandin- and multiazole-resistant *Candida parapsilosis* isolates serially obtained during therapy for prosthetic valve endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(2): 767-769.

Nguyen, MH, Clancy CJ, Yu VL, Yu YC, Morris AJ, Snyderman DR, D Sutton. A, Rinaldi MG. Do in vitro susceptibility data predict the microbiologic response to amphotericin B? Results of a prospective study of patients with *Candida* fungemia. *J. Infect. Dis.* 1998; 177: 425-430.

Nucci M, Anaisse E. Revisiting the Source of Candidemia. *Clin infect dis*. 2001; 33(15): 1959-1964.

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

Ostrosky-Zeichner L, Alexander BD, Kett DH, Vazquez J, Pappas PG, Saeki F, Ketchum PA, Wingard J, Schiff R, Tamura H, Finkelman MA, Rex JH. Multicenter clinical evaluation of the (1-->3) beta-D-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. *Clin Infect Dis*. 2005; 41(1): 654-659.

Ostrosky-Zeichner L, Rex JH, Pappas PG, Hamill RJ, Larsen RA, Horowitz HW, Powderly WG, Hyslop N, Kauffman CA, Cleary J, Mangino JE, Lee J. Antifungal susceptibility survey of 2,000 bloodstream *Candida* isolates in the United States. *Antimicrob. Agents Chemother* 2003; 47(10): 3149–3154.

Park BJ, Arthington-Skaggs BA, Hajjeh RA, Iqbal N, Ciblak MA, Lee-Yang W, Hairston MD, Phelan M, Plikaytis BD, Sofair AN, Harrison LH, Fridkin SK, Warnock DW. Evaluation of amphotericin B interpretive breakpoints for *Candida* bloodstream isolates by correlation with therapeutic outcome. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006; 50(4): 1287-1292.

Park, S, Kelly R, Kahn JN, Robles J, Hsu MJ, Register E, Li W, Vyas V, Fan H, Abruzzo G, Flattery A, Gill C, Chrebet G, Parent SA, Kurtz M, Teppler H, Douglas CM, and Perlin DS. Specific substitutions in the echinocandin target Fks1p account for reduced susceptibility of rare laboratory and clinical *Candida* sp. isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005; 49(8): 3264-3273.

Pasqualotto AC, Zimmerman RA, Alves SH, Aquino VR, Branco D, Wiltgen D, do Amaral A, Cechinel R, Colares SM, da Rocha IG, Severo LC, Sukiennik TC. Take control over your fluconazole prescriptions: the growing importance of *Candida glabrata* as an agent of candidemia in Brazil. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008; 29(9): 898-899.

Pemán J, Cantón E, Gobernado M; Spanish ECMM Working Group on Candidaemia. Epidemiology and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from blood: results of a 1-year multicentre study in Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24: 23-30.

Perlin, D. S. Resistance to echinocandin-class antifungal drugs. *Drug Resist. Updates.* 2007; 10: 121-130.

Pfaller MA, Diekema DJ, and Sheehan D J. Interpretive Breakpoints for Fluconazole and *Candida* Revisited: a Blueprint for the Future of Antifungal Susceptibility Testing. *Clin Microbiol Rev.* 2006; 19(2): 435-447.

Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Hollis RJ, Messer SA, and for The Sentry Participant Group. International Surveillance of Bloodstream Infections Due to *Candida* Species: Frequency of Occurrence and Antifungal Susceptibilities of Isolates Collected in 1997 in the United States, Canada, and South America for the SENTRY Program. *J Clin Microbiol.* 1998; 36(7): 1886-1889.

Pfaller MA, Diekema DJ, Ostrosky-Zeichner L, Rex JH, Alexander BD, Andes D, Brown SD, Chaturvedi V, Ghannoum MA, Knapp CC, Sheehan DJ, Walsh TJ Correlation of MIC with outcome for *Candida* species tested against Caspofungin, Anidulafungin: analysis and proposal for interpretative MIC breakpoints. *Clin Microbiol.* 2008a; 46(8): 2620-2629.

Pfaller MA, Boyken L, Hollis R J, Kroger J, Messer SA, Tendolkar S, Diekema DJ. In Vitro Susceptibility of Invasive Isolates of *Candida* spp. to Anidulafungin, Caspofungin, and Micafungin: Six Years of Global Surveillance. *J Clin Microbiol* 2008b; 46(1): 150-156.

Pfaller MA, Chaturvedi V, Diekema DJ, Ghannoum MA, Holliday NM, Killian SB, Knapp CC, Messer SA, Miskov A, Ramani R. Clinical evaluation of the sensititre yeast one colorimetric antifungal panel for antifungal susceptibility testing of the echinocandins anidulafungin, caspofungin and micafungin . *J Clin Microbiol.* 2008c; 46: 2155-2159.

Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of Invasive Candidiasis: a Persistent Public Health Problem. *J Clin Microbiol Rev* 2007; 20(1): 133-163.

Pfaller MA, Diekema MG, Jones RN, et al. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in SENTRY antimicrobial surveillance program. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 3254-3259.

Pfaller MA, Diekema MG, Rinaldi MG, et al. Results from the ARTEMIS DISK global antifungal surveillance study: a 6.5-yearr analysis of susceptibilities of *Candida* and other yeast species to fluconazole and voriconazole by standardized disk diffusion testing. *J Clin Microbiol* 2005; 43(12): 5848-5859.

Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Messer SA, Houston A, Coffman S, Hollis RJ. Bloodstream Infections Due to *Candida* Species: SENTRY Antimicrobial Surveillance Program in North America and Latin America, 1997-1998. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44(3): 747-751.

Pfaller MA, Jones RN; Microbiology Resource Committee, College of American Pathologists. Performance accuracy of antibacterial and antifungal susceptibility test methods: report from the College of American Pathologists Microbiology Surveys Program (2001-2003). *Arch Pathol Lab Med.* 2006; 130(6):767-778.

Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, et al. Selection of a Surrogate Agent (Fluconazole or Voriconazole) for Initial Susceptibility Testing of Posaconazole against *Candida* spp.: Results from a Global Antifungal Surveillance Program. *J Clin Microbiol* 2008d; 46: 551-559.

Pfaller MA, Wenzel RP: The Epidemiology of Fungal Infections. In: Anaisse EJ, McGinnis MR, Pfaller MA. *Clinical Mycology*. 1a ed. Curch Livingstone Phyladelphia: Elsevier: 2003. p.3-19.

Pffaler MA, Diekema DJ, Jones RN, Messer SA, Hollisn RJ and SENTRY Participants Group. Trends in Antifungal Susceptibility of *Candida* spp. Isolated from Antimicrobial Surveillance Program, 1997-2002. *J Clin Microbiol*. March 2002; 40(3); 852-856.

Pulimood S, Ganesan L, Alangaden G. Polymicrobial candidemia. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2002; 44:353-7.

Reissa E, Lasker BA, Iqbal NJ, James MJ, Arthington-Skaggs BA. Molecular epidemiology of *Candida parapsilosis* sepsis from outbreak investigations in neonatal intensive care units. *Infect Genet Evol*. 2008; 8(2):103-109.

Rentz AM, Halpern MT, Bowden R. The impact of candidemia on length of hospital stay, outcome, and overall cost of illness. *Clin Infect Dis*. 1998; 27(4): 781-788.

Rex JH, Pfaller MA, Walsh TJ, Chaturvedi V, Espinel-Ingroff A, Ghannoum MA, Gosey LL, Odds FC, Rinaldi MG, Sheehan DJ, Warnock DW. Antifungal susceptibility testing: practical aspects and current challenges. *Clin Microbiol Rev*. 2001; 14: 643 - 658.

Richet H, Roux P, Des Champs C, et al. French Candidemia Study Group. Candidemia in French hospitals: incidence rates and characteristics. *Clin Microbiol Infect Dis* 2002; 8: 405-412.

Sandven P, Bevanger L, Digranes A, Haukland HH, Mannsåker T, Gaustad P; Norwegian Yeast Study Group. Candidemia in Norway (1991 to 2003): results from a nationwide study. *J Clin Microbiol*. 2006;44(6): 1977-1981.

Sanguinetti M, Posteraro, Fiori B, et al. Mechanisms of Azole Resistance in Clinical Isolates of *Candida glabrata* Collected during a Hospital Survey of Antifungal Resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 668-679.

Sendid B, Jouault T, Coudriau R, Camus D, Odds F, Tabouret M, Poulain D. Increased sensitivity of mannanemia detection tests by joint detection of alpha- and beta-linked oligomannosides during experimental and human systemic candidiasis. *J Clin Microbiol.* 2004; 42(1): 164-171.

Sendid B, Poirot JL, Tabouret M, Bonnin A, Caillot D, Camus D, Poulain D. Combined detection of mannanaemia and antimannan antibodies as a strategy for the diagnosis of systemic infection caused by pathogenic *Candida* species. *J Med Microbiol.* 2002; 51:433–442.

Thompson GR, Wiederhold NP, Vallor AC, Villareal NC, Lewis JS 2nd, Patterson TF. Development of caspofungin resistance following prolonged therapy for invasive candidiasis secondary to *Candida glabrata* infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008; 52(10):3783-3785.

Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H, Klingspo L, Kibbler CC, Faure O, et al., Epidemiology of Candidemia in Europe: Results of 28-Month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) Hospital-Based Surveillance Study. *Clin Microbiol Infect Dis.* 2004; 23(4): 317-322.

Trick WE, Fridkin SK, Edwards JR, et al. Secular trends of hospital Acquired Candidemia among Intensive Care Unit Patients in the United States during 1989 - 1999. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 627-630.

Trofa D, Gácsr A, Nosanchuk JD, *Candida* parapsilosis, an emerging fungal pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21 (4) 606-625.

Tumbarello M, Postararo B, Treccarichi ME, Fori B, Rossi M, Porta R, Donati Kg, La Sorda M, Spanu T, Fadda G, Cauda R, Sanguinetti M. Biofilm production by *Candida* species and inadequate antifungal therapy as predictors of mortality for patients with candidemia. *J Clin Microbiol* 2007; 45(6): 1843-1850.

van Asbeck EC, Huang YC, Markham AN, Clemons KV, Stevens DA. *Candida parapsilosis* fungemia in neonates: genotyping results suggest healthcare workers hands as source, and review of published studies. *Mycopathologia*. 2007; 164(6):287-293.

Warnock DW. Trends in the epidemiology of invasive fungal infections. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi*. 2007; 48(1):1-12.

Viudes, A. et al. Candidemia at a Tertiary-Care Hospital: Epidemiology, Treatment, Clinical Outcome and Risk Factors for Death. *Eur J Microbiol Infect Dis*. 2002; 21: 767-774.

Vollmer T, Störmer M, Kleesiek K, Dreier J. Evaluation of novel broad-range real-time PCR assay for rapid detection of human pathogenic fungi in various clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 2008; 46(6): 1919-1926.

Voss A, Kluytmans JA, Koeleman JG, Spanjaard L, Vandenbroucke-Grauls CM, Verbrugh HA, Vos MC, Weersink AY, Hoogkamp-Korstanje JA, Meis JF. Occurrence of yeast bloodstream infections between 1987 and 1995 in five Dutch university hospitals. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1996; 15(12):909-912.

Wey SB, Mori M, Pfaller MA, Woolson RF, Wenzel RP. Hospital-acquired candidemia: the attributable mortality and excess length of stay. *Arch. Intern. Med.* 1988; 148:2642–2645.

Wilson, LS, Reyes CM, Stolpman M, Speckman J, Allen K, Beney J. The direct cost and incidence of systemic fungal infections. 2002; *Value Health* 5:26–34.

Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis.* 2004; 39(3):309-317.

Yang YL, Lin YH, Tsao MY, et al. Serum repressing efflux pump CDR1 in *Candida albicans*. *BMC Mol Biol* 2006; 13: 7-22.

Zilberberg MD, Shorr AF, Kollef MH. Secular trends in candidemia-related hospitalization in the United States, 2000-2005. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008; 29 (10): 978-980