



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE
MESQUITA FILHO”**

FACULDADE DE MEDICINA

Camila Marçon

**Caracterização de *Candida* spp. isoladas da corrente
sanguínea de pacientes internados em hospital
terciário de Bauru – São Paulo**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de Mestre
em Doenças Tropicais.

Orientador: Prof. Dr. Rinaldo Poncio Mendes

Coorientadora: Profa. Dra. Daniela Vanessa Moris

Botucatu

2019

Camila Marçon

Caracterização de *Candida* spp. isoladas da corrente
sanguínea de pacientes internados em hospital
terciário de Bauru – São Paulo

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio
de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Doenças Tropicais.

Orientador: Prof.Dr. Rinaldo Poncio Mendes

Coorientadora: Profa. Dra. Daniela Vanessa Moris

Botucatu

2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Marçon, Camila.

Caracterização de *Candida* spp. isoladas da corrente sanguínea de pacientes internados em hospital terciário de Bauru - São Paulo / Camila Marçon. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Rinaldo Poncio Mendes
Coorientador: Daniela Vanessa Moris
Capes: 40101096

1. Biologia molecular. 2. *Candida*. 3. Candidemia. 4. Análise de sensibilidade. 5. Infecção hospitalar.

Palavras-chave: Biologia molecular; *Candida*; Candidemia; IRAS; Teste de sensibilidade in vitro.

Dedicatória

A Deus, pela força e coragem durante toda esta caminhada.

*À minha família, por sua capacidade de acreditar emmm e investir em mim. **Mãe, Pai e Gabi** cujo cuidado e dedicação foi que deramem alguns momentos, a esperança para seguir, além de segurança e certeza deque não estou sozinha nessa caminhada.*

Ao meu orientador Dr. Rinaldo “Tiete” Poncio Mendes pela orientação, paciência conselhos e ensinamentosdurante o desenvolvimento deste trabalho.

Agradecimientos

Aos colaboradores desse trabalho, Daniela Vanessa Moris, Mônica da Silveira, **Valéria Drumond Nagem Aragão, Adriana Aparecida Feltrin Correa, Adriele Dandara Levorato, Julhiany de Fátima da Silva e Lidia Raquel de Carvalho** pela ajuda, paciência e apoio.

As meninas do laboratório do Hospital de Base **Gabriela de Almeida Pacheco Thomas e Giovanna Taneno de Oliveira** pela grande ajuda e paciência durante parte do experimento laboratorial. Obrigada!

A **Viviane Mazo** do Laboratório de Investigação Médica, LIM 53, do Instituto de Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da USP.

Aos amigos e pós-graduandos do Laboratório de Moléstias Infecciosas Sueli Aparecida Calvi, **Beatriz, Raquel, Raquiel, Adriele, Tatiane, Mariana, Vanessa, Thaysa, Luiz, Mateus, Carolina, Nayore, Thalita, Guilherme e Karina** pela convivência, incentivo e pelo apoio constantes, reclamações e risos.

À minha amiga **Beatriz Aparecida Soares Pereira** pelo convívio diário pelas alegrias, tristezas e dores compartilhamos momentos de ansiedade. Muito obrigada!

Aos funcionários da Pós-Graduação e do Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem, em especial **Bruna Quirino Jorgetto**, pelo auxílio e atenção em todos os momentos.

À **CAPES** (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa durante todo o período de realização deste mestrado.

Ao responsável pelo Laboratório de Moléstias Infecciosas Sueli Aparecida Calvi **Rodrigo Mattos dos Santos**, pelo auxílio nos momentos que precisei.

Epígrafe

***“A única forma de chegar ao impossível é acreditar que
é possível”.***

Lewis Carroll

Resumo

A candidemia constitui um grande problema em hospitais terciários, por sua elevada incidência – 3,9 casos por 1.000 admissões e letalidade – 50 a 72%. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a taxa de infecções da corrente sanguínea por *Candida* spp., em um período de sete anos, determinar o perfil de sensibilidade dos isolados a antifúngicos, caracterizar as espécies do complexo *Candida glabrata* e avaliar aspectos epidemiológicos, clínicos e terapêuticos dos pacientes-fonte. *Methodology*. O perfil de sensibilidade antifúngica foi realizado no equipamento Vitek2. A análise molecular de *C. glabrata* foi realizada por PCR utilizando-se primer senso CGL1 e antisenso CGL2 e de *C. nivariensis* e *C. bracarensis* por PCR *multiplex* com o primer senso NIV-f e BRA-f e antisenso universal UNI-5.8S. Aspectos epidemiológicos, clínicos e terapêuticos foram coletados de prontuário eletrônico e registrados em ficha padronizada para este estudo. *Results*. Foram avaliados 84 isolados de hemocultura e os dados clínicos de 59 pacientes. A taxa de incidência de candidemia (por 1.000 admissões) foi maior em mulheres que em homens (0,76 vs 0,54; $p < 0,0001$), não se alterou ao longo dos anos e variou em função da unidade de internação, predominando na Clínica Cirúrgica, Clínica Médica, Oncologia e Unidade de terapia Intensiva. *C. albicans* foi a espécie predominante e, dentre as não-*C. albicans*, a *C. glabrata* foi a mais frequente. Todos os isolados do complexo *C. glabrata* foram identificadas como *C. glabrata stricto sensu*. Os fatores predisponentes – cirurgia gástrica, utilização de procedimentos e dispositivos invasivos, terapia imunossupressora e antibioticoterapia, e a presença de eventos agudos encontravam-se presentes, confirmando achados da literatura. O fluconazol foi o composto antifúngico que apresentou a maior prevalência de sensibilidade dose-dependente, a que se seguiram caspofungina e micafungina. A letalidade foi muito elevada, igual a 66,1% dos casos, apesar de o tratamento ter sido considerado adequado

em 61,4% dos pacientes. *Conclusions.* A prevalência de candidemia por *C. glabrata* foi maior que a encontrada habitualmente, com diminuição da causada por *C. parapsilosis*. A genotipagem revelou que apenas a *C. glabrata* propriamente dita foi identificada. O fluconazol foi menos ativo que os outros compostos antifúngicos avaliados.

Palavras-chave: *Candida*, candidemia, IRAS, teste de sensibilidade in vitro, biologia molecular.

Abstract

Background. Candidemia is the major problem in hospitals because of its high incidence - 3.9 cases per 1,000 admissions and lethality - 50 to 72%. Therefore, the objective of this study was to evaluate the rate of the bloodstream infection by *Candida* spp, to determine the sensitivity profile of the antifungal isolated, characterize the *Candida glabrata* complex species and to evaluate the epidemiological aspects, clinical and therapeutic patients sources. **Methodology.** The antifungal sensitivity profile was performed into Vitek2 device. Molecular analysis of *C. glabrata* was performed by PCR using primers for CGL1 and reverse CGL2 and *C. nivariensis* and *C. bracarensis* by multiplex PCR with primers for NIV-f and BRA-f universal reverse UNI-5.8S. Epidemiological, clinical and therapeutic aspects were collected from an electronic medical record and registered in a standard form for this study. **Results.** Were evaluated 84 patients with hemoculture and clinical data from 59 patients. The incidence rate of candidemia (per 1,000 admissions) was higher in women than men (0.76 vs 0.54, $p < 0.0001$), not very different through out the years and varied according to the hospitalization unit, predominating in the Clínica Surgical, Clinical Medicine, Oncology and Intensive Care Unit. *C. albicans* was a predominant genus and, among non-*C. albicans*, *C. glabrata* was more frequent. All compounds of the *C. glabrata* complex were as *C. glabrata* stricto sensu. Predisposing factors - gastric surgery, use of invasive procedures and devices, immunosuppressive and antibiotic therapy, and the presence of acute events were present, confirming findings from the literature. The Fluconazole was the antifungal compound that presented the highest prevalence of dose dependent sensitivity, which followed by caspofungin and micafungin. The lethality was very high, equal to 66.1% of the cases, although it was successful in 61.4% of the patients. **Conclusions** The prevalence of *C. glabrata* candidemia was greater than that usually

found, with decrease of *C. parapsilosis*. The genotype revealed that only *C. glabrata* itself has been identified. Fluconazole was less active than other antifungal compounds evaluated.

Key words: *Candida*, candidemia, IRAS, sensitivity test *in vitro*, molecular biology.

Sumário

Capítulo I - Introdução

I) INTRODUÇÃO.....	1
1. Aspectos gerais de <i>Candida</i> e candidíase.....	1
1.2. Colonização e infecção por <i>Candida</i> spp.....	2
1.3. Candidemia.....	5
1.4. Resistência de agentes de candidemia a antifúngicos e métodos para sua determinação.....	8
II Objetivos.....	10
II.1. Objetivo geral.....	11
II.2. Objetivos específicos.....	11
III. Referências bibliográficas.....	11

Capítulo II - Artigo

Caracterização de <i>Candida</i> spp. isoladas da corrente sanguínea de pacientes internados em hospital terciário de Bauru – São Paulo (Brasil).....	18
Introdução.....	19
Casuística e Métodos.....	20
Resultados.....	25
Discussão.....	37
Agradecimentos.....	39
Referências bibliográficas.....	39
Capítulo III – Conclusões.....	45
Anexo.....	47

Capítulo I – Introdução

I - Introdução

1. Aspectos gerais de *Candida* e candidíase

O nome *Candida* foi introduzido por Berkhout (1923) para um grupo de leveduras ascosporadas que estavam incluídas no gênero *Monilia*, sugerido por Zopf em 1890. Langeron & Guerra (1938), Diddens & Lodder (1942) e Lodder & Kreger-Van Rij (1952) apoiaram a denominação sugerida. Sua oficialização, no entanto, ocorreu no VIII Botanical Congress, realizado em Paris, em 1954.^{1,2}

Candida são leveduras cujas células são globosas ou ovóides, cilíndricas ou alongadas, normalmente não ogivais, apiculadas ou em forma de frasco, cuja reprodução se dá por brotamento multipolar. A formação de pseudomicélio é encontrada na maior parte das espécies, que é diferenciado em pseudo-hifa e blastósporos. Micélio verdadeiro e clamidósporos podem ser formados.^{1,3}

Leveduras do gênero *Candida* raramente são isoladas de animais de sangue frio, da água e quando, presente no solo estão relacionadas a excrementos humanos ou de animais. Podem ser isoladas de insetos, alimentos em fermentação, polpa de madeiras, bebidas alcoólicas e leveduras de panificação. Algumas espécies podem viver de forma saprofítica no organismo do homem e de animais. No homem colonizam o trato gastrintestinal, orofaringe, dobras da pele, vagina, urina e fezes.¹

Este gênero de leveduras se comporta como agentes oportunistas, cuja patogenicidade está condicionada a fatores do hospedeiro, que podem desenvolver quadros clínicos variados, desde infecções superficiais até sistêmicas. Dessa forma, as candidíases podem acometer pele, unhas, mucosas oral, esofágica e vaginal e, em sua forma mais grave, a corrente sanguínea, provocando *seps*e – denominada candidemia.⁴

1.2 Colonização e infecção por *Candida* spp

A *Candida* spp. faz parte da microbiota normal da boca de 25% a 50% dos indivíduos saudáveis, condição esta denominada colonização. A *Candida albicans* é a espécie mais prevalente entre as colonizadoras, mas espécies de não-*Candida albicans* também têm sido isoladas.⁵

Assim como alguns outros microrganismos, várias espécies do gênero *Candida* podem colonizar mucosa, pele e trato digestivo, de modo transitório ou durante longos períodos. No entanto, quando presentes em diferentes sítios e quando, do mesmo tipo de amostra clínica, determinado fungo for cultivado repetidamente deve-se sugerir alteração da microbiota. O desenvolvimento demasiado de *Candida* spp, nestes sítios de colonização, pode facilitar sua invasão no tecido, principalmente em hospedeiros com condições predisponentes.⁶

O gênero *Candida* é constituído por aproximadamente 200 espécies, 20 das quais estão relacionadas a infecções em seres humanos, entre as quais se destacam *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* e *C. lusitaneae*. No entanto, têm sido descritas espécies chamadas emergentes, tal como *C. dubliniensis*, *C. kefyr*, *C. rugosa*, *C. famata*, *C. utilis*, *C. lipolytica*, *C. norvegensis*, *C. inconspícua* e, em passado recente, a *C. auris*.⁷

Como o gênero *Candida* faz parte da microbiota humana, ao causar doença ele se comporta como um patógeno oportunista, isto é, depende de um ou mais fator de imunossupressão.⁸

A *C. albicans* é a espécie isolada com maior frequência em todo o mundo, como colonizadora e como causadora de infecções superficiais ou invasivas, em diferentes sítios anatômicos. Com potencial patogênico bastante conhecido, apresenta, como principais fatores de patogenicidade e virulência, capacidade de aderência a diferentes tipos de mucosa e epitélio, dimorfismo - com produção de pseudo-hifas que auxiliam na invasão tissular, termotolerância e produção de exoenzimas, como proteinase e fosfolipase.⁷ Esta espécie revela-se naturalmente sensível a todas as drogas de uso sistêmico, porém casos de resistência adquirida a azólicos têm sido descritos, principalmente em indivíduos que foram expostos por tempo prolongado a estes antifúngicos. A resistência à anfotericina B é rara.^{9,10}

C. parapsilosis é comensal da pele humana e menos adaptada a superfícies mucosas, está associada à infecção de corrente sanguínea (ICS) por manipulação do paciente, sendo bem conhecida por causar infecções em crianças e neonatos e está quase sempre relacionada à presença de cateteres e sua grande habilidade em formar biofilmes, que favorece sua patogênese.⁵ *C. parapsilosis*, que era inicialmente considerada espécie única foi, desde os anos 90, considerada um complexo englobando três espécies: *C. parapsilosis (strictu sensu)*, *C. metapsilosis* e *C. orthopsilosis*.^{11,12}

C. tropicalis pode se comportar como agente oportunista quando o hospedeiro se encontra neutropênico, quando há supressão da microbiota bacteriana pelo uso de antimicrobianos e na vigência de danos na mucosa gastrointestinal. Essa espécie é responsável por candidemias em pacientes com neoplasia, sendo mais frequentes em leucemias do que em tumores sólidos.¹³

A espécie *C. glabrata*, por sua vez, também se encontra muito relacionada a outras duas espécies fenotipicamente semelhantes (*C. bracarensis* e *C. nivariensis*), individualizadas apenas por análise molecular do DNA e assimilação da trealose. *C. nivariensis* tem se

revelado multirresistente a antifúngicos, enquanto *C. braccarensis* tem patogenia e resistência a antifúngicos pouco conhecidos.^{14,15}

A epidemiologia das infecções por *C. glabrata* e *C. krusei* é diferente das demais espécies. Sua infecção ocorre em geral após uso profilático de antifúngicos, como por exemplo, o fluconazol em pacientes com doença hematológica e não estão associadas ao uso de cateter e à antibioticoterapia prévia. As infecções por *C. krusei* apresentam a maior taxa de letalidade, seguida das causadas por *C. glabrata*¹⁶, e revela resistência natural ao fluconazol, o que talvez explique sua maior incidência em pacientes neutropênicos expostos a este antifúngico.¹³ *C. glabrata* pode adquirir resistência ao longo da exposição ao fluconazol,¹⁶ o que pode justificar um aumento de seus índices de colonização ou de infecção observado em diferentes grupos de pacientes submetidos à exposição prolongada a este antifúngico.¹⁶ Menor susceptibilidade à anfotericina B também vem sendo documentada nesta espécie.¹⁷

C. guilliermondii faz parte da microbiota normal da pele e das superfícies mucosas humanas, sendo recuperada com maior frequência de pacientes imunocomprometidos. É uma espécie com potencial de causar ICS, particularmente, em pacientes com neoplasia hematológica e internados em unidades de terapia intensiva.¹⁸ Estas infecções apresentam epidemiologia similar às das causadas por *C. parapsilosis*, pois a invasão sanguínea por estas espécies guarda íntima relação à presença de cateter.¹⁸

Recentemente foi identificada a *Candida auris*, que se caracteriza por ser multidroga-resistente, comprometer pacientes imunossuprimidos e poder ser erroneamente identificada como *C. famata*, *C. haemulonii*, *C. sake*, *Saccharomyces cerevisiae* ou *Rhodotorula glutinis*, por técnicas utilizadas em laboratórios clínicos, tais como Vitek2, API, AuxaColor e, inclusive, o MALDI-TOF. Além disso, *C. auris* geralmente é resistente ao fluconazol e voriconazol e, em alguns, casos à anfotericina B e às equinocandinas, apresentando, assim, elevada taxa de letalidade.^{19,20}

O trato gastrointestinal é um importante local de colonização, observada em até 70% da população normal. Alterações da microbiota residente e translocação do patógeno através do trato gastrointestinal podem anteceder quadro de fungemia. A maior parte das candidemias é precedida por colonização pela mesma espécie de levedura, pois métodos de genotipagem mostram similaridade entre amostras colonizadoras e infectantes, sugerindo sua provável origem endógena.^{21,22}

Qualquer fator que provoque desequilíbrio da microbiota ou lesão da mucosa pode ser um agente facilitador da translocação de *Candida* spp. até os capilares mesentéricos. Fatores que aumentam a colonização intestinal por *Candida* spp., tais como uso de antibióticos e oclusão intestinal, ou que determinem atrofia ou lesão da mucosa, como jejum prolongado, nutrição parenteral total, hipotensão arterial e quimioterapia, podem potencializar o fenômeno de translocação no tubo gastrointestinal.²³

1.3 Candidemia

Entre as infecções da corrente sanguínea (ICS) encontram-se as candidemias, uma das principais causas de infecção relacionada à assistência em saúde (IRAS), colocando-se em quarto lugar nos Estados Unidos e sétimo no Brasil, segundo prevalência.^{24,25}

Hospitalizações, cirurgias de alto risco, depressão imunitária secundária a doença de base ou distúrbios metabólicos do hospedeiro, fatores iatrogênicos relacionados a procedimentos médicos invasivos, quimioterapia, uso profilático de antifúngicos e utilização abusiva de antibióticos de amplo espectro têm aumentado em frequência e favorecido a emergência de ICS.^{26,27} Apesar dos avanços observados no tratamento antifúngico, a mortalidade por candidemia tem-se mantido elevada, da ordem de 50 a 72%, constituindo-se em um dos maiores problemas de hospitais terciários de todo o mundo.^{25,28}

Durante a década de 1980, a infecção por *Candida* spp. apresentava-se como a sétima causa mais frequente de IRAS nos Estados Unidos (EUA).¹⁶ No período 1986 – 1990 este gênero encontrava-se entre os cinco primeiros agentes isolados em hemocultura de pacientes internados.²⁹ Já na década de 1990, dados obtidos através do programa SCOPE (*Surveillance and Control of Pathogens o Epidemiological Importance*), realizado em 50 centros médicos dos EUA, as *Candida* spp. passaram a ocupar a quarta posição na categoria de IRAS mais frequentes, responsável por 8% (379) dos 4.725 episódios de ICS analisadas.²⁹

A incidência de candidemia varia de acordo com o local e período do estudo, como revela o quadro 1, que apresenta dados brasileiros.

Quadro 1 – Taxa de incidência de candidemia no Brasil, em pacientes não-aids.

Período do estudo	Taxa/1000 admissões	Referência
1994-2004	1,2	32
2003-2004	3,9	33
2003-2004	2,49	34
2006-2007	2,42	35
2006-2010	0,54	31
2014-2015	1,52	30

Referências: **30** Canela et al. *Mycoses*. 2017. 61:11-21. **31** Moretti et al. *Med Mycol*. 2013;51(April):225–30. **32** Willeet al. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2013;108(3):288–92. **33** Hinrichsen et al. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008;**41**(4):394-398. **34** Colombo et al. *Med Mycol. J Clin Microbiol*. 2006;44(8):2816–23. **35** Colombo et al. *Med Mycol*. 2013 Jan;51(1):38-44

C. albicans, no presente considerada como complexo *Candida albicans*, constituído pela *C. albicans stricto sensu* e por *C. dubliniensis*,³⁶ é a espécie mais prevalente dentre as candidemias. No entanto, diversos estudos mostram alteração na distribuição das espécies, com aumento de leveduras não-*C. albicans*, principalmente em países do hemisfério-norte, com maior prevalência de espécies não-*C. albicans* com destaque para *C.*

glabrata.³⁷ Esse comportamento também foi observado no Brasil, como revela o quadro 2.

Deve-se registrar, no entanto, que em oito das nove publicações a *C. albicans* foi mais prevalente que todas as outras espécies.

Quadro 2 – Distribuição, em porcentagem, de espécies de *Candida* isoladas de infecções da corrente sanguínea em 2206 pacientes avaliados em 10 estudos brasileiros.

Ano	n casos	<i>Candida albicans</i> (%)	<i>Candida parapsilosis</i> (%)	<i>Candida tropicalis</i> (%)	<i>Candida glabrata</i> (%)	<i>Candida krusei</i> (%)	Outras (%)	Referência
1998-2001	75	38,7	30,7	12,0	1,3	10,7	6,6	38
2003-2004	712	40,9	20,5	20,9	4,9	1,1	11,2	34
2003-2004	21	29,0	33,0	24,0	9,0	-	5	33
1994-2004	388	42,5	21,9	27,3	4,4	1,0	2,8	32
2006-2010	313	44,0	14,4	21,7	11,2	3,5	5,1	31
2006-2007	300	34,0	26,0	24,0	7,0	3,0	6	35
2002-2007	67	41,8	37,3	10,4	1,5	-	3	39
2011-2012	114	36,8	5,2	26,3	15,7	5,2	10,4	40
2007-2010	137	34,3	24,1	15,3	10,2	1,5	3,6	25
2014-2015	79	44,0	14,0	19,0	19,0	-	4	30

Referências:**38** Ruiz et al. J Mycol Med. 2005;15(1):13–21.**34** Colombo et al. J Clin Microbiol. 2006;44(8):2816–23.**33** Hinrichsen et al. Rev Soc Bras Med Trop. 2008; 41(4):394–398.**32** Willeet al. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2013;108(3):288–92.**31** Moretti et al. Med Mycol. 2013;51(April):225–30.**8** Colombo et al. Med Mycol. 2013 Jan;51(1):38–44.**39** Neufeld et al. Braz J Microbiol. 2015;46(2):477–84.**40** Gaspar et al. RevSocBrasMed Trop. 2015;48(1):77–82.**25** Doiet al. PLoS One. 2016;11(1):e0146909.**30** Canela et al. Mycoses. 2017; 61:11–21.

1.4 Resistência de agentes de candidemia a antifúngicos e métodos para sua determinação

É grande a preocupação do risco associado ao controle de candidemias, uma vez que as doenças de base contribuem para a gravidade do quadro. Somam-se a isso os relatos, desde a década de 90, da ocorrência de cepas de leveduras resistentes não apenas aos antifúngicos tradicionais como aos novos.

A resistência aos antifúngicos foi classificada em resistência microbiológica e resistência clínica.⁴¹ A resistência microbiológica se caracteriza pela ausência de suscetibilidade de um fungo a um composto antifúngico, determinada por um teste *in vitro*, no qual o MIC da droga excede o valor de corte de suscetibilidade para aquele organismo. A resistência microbiológica pode ser primária (intrínseca, inata) ou secundária (adquirida). A resistência primária é encontrada naturalmente entre certos fungos, sem prévia exposição ao antifúngico considerado, como por exemplo a resistência de *C. krusei* ao fluconazol e de *Cryptococcus neoformans* às equinocandinas. Resistência secundária é a que se desenvolve entre cepas previamente suscetíveis, após exposição a determinado composto antifúngico, e em geral depende de alteração da expressão gênica. Constituem exemplos o desenvolvimento de resistência ao FLC em cepas de *C. albicans* e de *C. neoformans*.^{42,43}

A resistência clínica foi definida como a falha em erradicar a infecção fúngica, apesar da administração de um composto antifúngico com atividade *in vitro* contra este microrganismo. Tais falhas podem ser atribuídas a uma combinação de fatores relacionados ao hospedeiro, ao composto antifúngico ou ao fungo. Embora a resistência clínica nem sempre possa ser prevista, ela acentua a importância de se individualizar as estratégias do tratamento com base na situação clínica.⁴¹

Até há pouco tempo, as técnicas utilizadas na determinação de sensibilidade antifúngica não se encontravam padronizadas, o que trazia muitas dificuldades para comparar

os resultados observados em diferentes laboratórios. Assim, o *Clinical and Laboratory Standards Institute* e o *European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing* padronizaram técnicas para avaliação da sensibilidade de leveduras e fungos filamentosos a diferentes antifúngicos.^{44,45,46,47} Apesar de algumas diferenças entre as padronizações, esses consensos (*guidelines*) trouxeram grande contribuição à avaliação e comparação dos achados de diferentes regiões do mundo.

A avaliação da suscetibilidade de fungos a compostos antifúngicos passou a ser feita em suscetíveis, suscetíveis dose-dependente e resistentes, em função de pontos de corte das concentrações inibitórias mínimas (MICs) encontradas.⁴⁸

O quadro 3 apresenta dados referentes à prevalência e aos perfis de sensibilidade de amostras de *Candida* spp. isoladas de pacientes com candidemia. Nela é possível observar que este perfil varia de acordo com local de estudo e principalmente com a espécie, em que *C. glabrata* demonstra maior frequência de sensibilidade-dose-dependência e resistência.

Quadro 3 - Distribuição de 1082 amostras de *Candida* spp. isoladas da corrente sanguínea de pacientes internados em quatro hospitais brasileiros de acordo com a espécie e o perfil de sensibilidade a cinco compostos antifúngicos.

Variáveis	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. krusei</i>
Prevalência (%)	40,8 29,8– 46,3	18,9 12,8 – 26,8	25,3 19,7– 34,0	13,7 5,6 – 23,4	0,7 0,0 – 3,4
FLC / Sens. (%)	100 99,3 - 100	95,5 91– 100	100 98,6 – 100	9,1 0 – 51,4	0 0 – 0
Res. (%)	1,5 0 - 3	0 0 – 0	0 0 – 0	21 0 – 63,6	37,5
ITC* / Sens. (%)	99,7	100	100	65,7	100
Res. (%)	0,3	0	0	34,3	0
VRC / Sens. (%)	99,8 97,1 –100	100 100 – 100	100 93,3 – 100	100 77,3 – 100	100
Res. (%)	0,17 0 – 2,9	0 0 – 0	0 0 – 0	0 0 – 9,1	0
AMB / Sens. (%)	100 100 – 100	100 99,3 – 100	100 100 – 100	100 100 – 100	100
Res. (%)	0 0 – 0	0 0 – 0,7	0 0 – 0	0 0 – 0	0
CSF* / Sens. (%)	100	100	100	80	-
Res. (%)	0	0	0	0	-

* As drogas antifúngicas itraconazol (ITC) e caspofungina (CSF) foram avaliadas em apenas um trabalho.
Referências:³⁴ Colombo et al. J Clin Microbiol. 2006;44(8):2816–23.³⁵ Colombo et al. Med Mycol. 2013 Jan;51(1):38-44.²⁵ Doi et al. PLoS One. 2016;11(1):e0146909.³⁰ Canela et al. Mycoses. 2017; 61:11-21.

II Objetivos

Os objetivos geral e específicos do presente estudo são os que se seguem:

II.1 Objetivo geral

Avaliar a taxa de infecções da corrente sanguínea por *Candida* spp. em pacientes do Hospital Estadual Bauru (Estado de São Paulo), no período de sete anos.

II.2 Objetivos específicos

- a) Pesquisar a prevalência de espécies do complexo *C. glabrata* – *C. glabrata* stricto sensu, *C. nivariensis* e *C. bracarensis* - dentre os isolados de hemocultura analisados;
- b) Determinar o perfil de sensibilidade a antifúngicos das amostras isoladas de *Candida* spp.
- c) Avaliar e correlacionar aspectos epidemiológicos, clínicos e terapêuticos dos pacientes-fonte.

Referências bibliográficas

1. Lacaz CS, Salebian A, Mendes MJS, Takahashi N, Nagão MT. Ecologia das leveduras do Gênero *Candida*. In: Lacaz CS, Pettinati AH, Salebian A, Padilha-Gonçalves A, Siqueira MA, Salvatore CA, et al. Candidiases. São Paulo: EPU, EDUSP; 1980. p. 47-54.
2. Segal E, Elad D. *Candida* species and *Blastoschizomyces capitatus*. In: Ajello L, Hay RJ (volume editors) In: Collier L, Balows A, Sussman M. (book editors). *Topley & Wilson's Microbiology and microbial infections*. Arnold, London, 1998; 4: 423 – 60.
3. Alby K, Bennett RJ. Sexual reproduction in the *Candida* clade: cryptic cycles, diverse mechanisms, and alternative functions. *Cell Mol Life Sci*. 2010 Oct;67(19):3275-85.
4. Kojic EM, Darouiche RO. *Candida* infections of medical devices. *Clin Microbiol Rev*. 2004 Apr;17(2):255-67.
5. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: A persistent public health

- problem. Vol. 20, Clinical Microbiology Reviews. 2007. p. 133–63.
6. Bernhardt H, Knoke M. Micological Aspects of Gastrintestinal microflora. Scand J Gastroenterol. 1997; 222:102-6.
 7. Dignani MC, Solomkin JS, Anaisse E. *Candida*. In : Anaisse E, McGinnis MR, Pfaller MA, editors. Medical Mycology. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2003. p. 195-239.
 8. Colombo AL, Cortes JA, Zurita J, Guzman-Blanco M, Alvarado Matute T, de Queiroz Telles F, et al. Recommendations for the diagnosis of candidemia in Latin America. Rev Iberoam Micol. 2013;30(3):150–7.
 9. Odds FC. *Candida* and Candidosis. 2nd ed. London: Bailliere Tindall; 1988.
 10. Sanglard D, Odds FC. Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. Lancet Infect Dis. 2002; 2:73-85.
 11. Lehmann, PF, DM Lin, and BA Lasker. 1992. Genotypic Identification and characterization of species and strain swithin the genus *Candida* by using random amplified polymorphic DNA. J. Clin. Microbiol.1992; 30:3249–3254.
 - 12.Moris DV, Melhem MS, Martins MA, Souza LR, Kacew S, Szeszs MW, et al. Prevalence and antifungal susceptibility of *Candida* parapsilosis complex isolates collected fr om oral cavities of HIV-infected individuals. J Med Microbiol. 2012 Dec;61(Pt 12):1758-65.
 13. Wingard JR. Importance of *Candida* species other than *C. albicans* as pathogens in oncology patients. Clin Infect Dis. 1995; 20:115-25.
 14. Lockhart SR, Messer SA, Gherna M, Bishop JA, Merz WG, Pfaller MA, et al. Identification of *Candida nivariensis* and *Candida bracarensis* in a large global collection of *Candida glabrata* isolates: Comparison to the literature. J Clin Microbiol. 2009;47(4):1216–7.
 15. Miranda-Zapico I, Eraso E, Hernández-Almaraz JL, López-Soria LM, Carrillo-Muñoz AJ, Hernández-Molina JM, et al. Prevalence and antifungal susceptibility patterns of new cryptic species inside the species complexes *Candida parapsilosis* and *Candida glabrata* among

- blood isolates from a Spanish tertiary hospital. J Antimicrob Chemother. 2011;66(10):2315–22.
16. Pfaller MA. Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs, and modes of transmission. Clin Infect Dis. 1996; 22 (suppl 2):S89-S94.
 17. Menezes Rde P, Ferreira JC, de Sá WM, Moreira Tde A, Malvino LD, de Araujo LB, Röder DV, Penatti MP, Candido RC, Pedroso Rdos S. FREQUENCY OF *Candida* SPECIES IN A TERTIARY CARE HOSPITAL IN TRIANGULO MINEIRO, MINAS GERAIS STATE, BRAZIL. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2015 May-Jun;57(3):185-91.
 18. Mardani M, Hanna HA, Girgawy E, Raad I. Nosocomial *Candida guilliermondii* fungemia in cancer patients. Vol. 21, Infection Control and Hospital Epidemiology. 2000. p. 336–7.
 19. Satoh K, Makimura K, Hasumi Y, Nishiyama Y, Uchida K, Yamaguchi H. *Candida auris* sp. nov. a novel ascomycetous yeast isolated from the external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital. Microbiol Immunol. 2009;53:41–4.
 20. Chowdhary A, Voss A, Meis JF. Multidrug-resistant *Candida auris*: new kid on the block in hospital-associated infections? J Hosp Infect. 2016, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2016.08.004>.
 21. Cole GT, Halawa AA, Anaisse EJ. The role of the gastrointestinal tract in hematogenous candidiasis: from the laboratory to the bedside. Clin Infect Dis. 1996; 22 (suppl 1):73-88.
 22. Nucci M, Anaisse EJ. Revisiting the source of candidemia: skin or gut? Clin Infect Dis. 2001; 33:1959-67.
 23. Alexander JW, Boyce ST, Babcock GF. The process of microbial translocation. Ann Surg. 1990; 212:496-510.
 24. Wisplinghoff H, Ebbers J, Geurtz L, Stefanik D, Major Y, Edmond MB, et al. Nosocomial bloodstream infections due to *Candida* spp. in the USA: Species distribution, clinical features

and antifungal susceptibilities. *Int J Antimicrob Agents*. 2014;43(1):78–81.

25. Doi AM, Pignatari ACC, Edmond MB, Marra AR, Camargo LFA, Siqueira RA, et al. Epidemiology and Microbiologic Characterization of Nosocomial Candidemia from a Brazilian National Surveillance Program. *PLoS One*. 2016;11(1):e0146909.

26. Barchiesi F, Orsetti E, Gesuita R, Skrami E, Manso E. Epidemiology, clinical characteristics, and outcome of candidemia in a tertiary referral center in Italy from 2010 to 2014. *Infection*. 2016;44(2):205–13.

27. Zirkel J, Klinker H, Kuhn A, Abele-Horn M, Tappe D, Turnwald D, et al. Epidemiology of *Candida* blood stream infections in patients with hematological malignancies or solid tumors. *Med Mycol*. 2011;8:54–8.

28. Guinea J. Global trends in the distribution of *Candida* species causing candidemia. Vol. 8, *Clinical Microbiology and Infection*. 2014. p. 5–10.

29. Pfaller MA, Jones RN, Messer SA, Edmond MB, Wenzel RP. National Surveillance of Nosocomial Blood Stream Infection Due to *Candida albicans*: Frequency of Occurrence and Antifungal Susceptibility in the SCOPE Program. *Diagnostic Microbiol Infect Dis*. 1998;31(1):237–332.

30. Canela HMS, Cardoso B, Vitali LH, Coelho HC, Martinez R, Ferreira MES. Prevalence, virulence factors and antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from bloodstream infections in a tertiary care hospital in Brazil. *Mycoses*. 2017; 61:11–21.

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

32. Wille MP, Guimarães T, Campos Furtado GH, Colombo AL. Historical trends in the epidemiology of candidaemia: Analysis of an 11-year period in a tertiary care hospital in

Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2013;108(3):288–92.

33. Hinrichsen SL, Falcão E, Vilella TAS, Colombo AL, Nucci M, Moura L, et al. Candidemia em hospital terciário do nordeste do Brasil. Rev Soc Bras Med Trop. 2008; 41(4):394-398.

34. Colombo AL, Nucci M, Park BJ, Nouér SA, Arthington-Skaggs B, Da Matta DA, et al. Epidemiology of candidemia in Brazil: A nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. J Clin Microbiol. 2006;44(8):2816–23.

35. Colombo AL, Garnica M, Aranha Camargo LF, Da Cunha CA, Bandeira AC, Borghi D, et al. *Candida glabrata*: an emerging pathogen in Brazilian tertiary care hospitals. Med Mycol. 2013 Jan;51(1):38-44.

36. Sullivan D, Coleman D. *Candida dubliniensis*: characteristics and identification. J Clin Microbiol. 1998;36:329–34.

37. Pfaller M, Neofytos D, Diekema D, Azie N, Meier-Kriesche H, Quan S, et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 3648 patients: data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH Alliance®) registry, 2004–2008. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2012; 74:323-331.

38. Ruiz LS, Sugizaki MF, Montelli AC, Matsumoto FE, Pires MFC, Da Silva BCM, et al. Fungemia by yeasts in Brazil: Occurrence and phenotypic study of strains isolated at the Public Hospital, Botucatu, São Paulo. J Mycol Med. 2005;15(1):13–21.

39. Neufeld PM, Melhem MSC, Szeszs MW, Ribeiro MD, Amorim ELT, Silva M, et al. Nosocomial candidiasis in Rio de Janeiro State: Distribution and fluconazole susceptibility profile. Braz J Microbiol. 2015;46(2):477-84.

40. Gaspar GG, Meneguetti MG, Auxiliadora-Martins M, Basile-Filho A, Martinez R. Evaluation of the predictive indices for candidemia in an adult intensive care unit. Rev Soc Bras Med Trop. 2015;48(1):77-82.

41. Kanafani ZA, Perfect JR. Antimicrobial resistance: resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact. Clin Infect Dis. 2008;46(1):120–8.
42. Alves SH, Lopes JO, Costa JM, Klock C. Development of secondary resistance to fluconazole in *Cryptococcus neoformans* isolated from a patient with AIDS. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1997; 39:359–61.
43. Marichal P, Koymans L, Willemsens S, et al. Contribution of mutations in the cytochrome P450 14alpha-demethylase (Erg11p, Cyp51p) to azole resistance in *Candida albicans*. Microbiology 1999; 145(Pt 10):2701–13.
44. Rex JH, Alexander BD, Andes D, Arthington-Skaggs B, Brown SD, Chaturvedi V, et al. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard - third edition. Clin Lab Stand Inst. 2008;(April):1–25.
45. Pfaller MA, Castanheira M, Diekema DJ, Messer SA, Moet GJ, Jones RN. Comparison of European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) and Etest methods with the CLSI broth microdilution method for echinocandin susceptibility testing of *Candida* species. J Clin Microbiol. 2010;48(5):1592–9.
46. NCCLS. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard. NCCLS document M27-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
47. Espinel-Ingroff A, Barchiesi F, Cuenca-Estrella M, et al. 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; 43:3884–9.
48. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2002. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard, 2nd ed. Document M27-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.

Capítulo II - Artigo

Caracterização de *Candida* spp. isoladas da corrente sanguínea de pacientes internados em hospital terciário de Bauru – São Paulo (Brasil)

Camila Marçon¹, Valéria Drumond Nagem Aragão², Mônica da Silveira², Adriana Aparecida Feltrin Correa³, Adriele Dandara Levorato¹, Julhiany de Fátima da Silva¹, Lidia Raquel de Carvalho⁴, Daniela Vanessa Moris⁵, Rinaldo PoncioMendes¹

¹Departamento de Doenças Tropicais - Faculdade de Medicina de Botucatu – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Estado de São Paulo, Botucatu, Brasil; ² Hospital Estadual Bauru/FAMESP, Estado de São Paulo, Bauru, Brasil; ³Hospital de Base/FAMESP, Estado de São Paulo, Bauru, Brasil; ⁴Departamento de Bioestatística - Instituto de Biociências - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Estado de São Paulo, Botucatu, Brasil.

⁵Departamento de Imunologia e Microbiologia – Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Estado de São Paulo, Presidente Prudente, Brasil;

Resumo. *Background.* A candidemia constitui um grande problema em hospitais terciários, por sua elevada incidência – 3,9 casos por 1.000 admissões e letalidade – 50 a 72%. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a taxa de infecções da corrente sanguínea por *Candida* spp., determinar o perfil de sensibilidade dos isolados a antifúngicos, caracterizar as espécies do complexo *Candida glabrata* e avaliar aspectos epidemiológicos, clínicos e terapêuticos dos pacientes-fonte. *Methodology.* O perfil de sensibilidade antifúngica foi realizado no equipamento Vitek2. A análise molecular de *C. glabrata* foi realizada por PCR utilizando-se primer senso CGL1 e antisenso CGL2 e de *C. nivariensis* e *C. bracarensis* por PCR *multiplex* com o primer senso NIV-f e BRA-f e antisenso universal UNI-5.8S. Aspectos epidemiológicos, clínicos e terapêuticos foram coletados de prontuário eletrônico e registrados em ficha padronizada para este estudo. *Results.* Foram avaliados 84 isolados de hemocultura e os dados clínicos de 59 pacientes. A taxa de incidência de candidemia (por 1.000 admissões) foi maior em mulheres que em homens (0,76 vs 0,54; $p<0,0001$), não se alterou ao longo dos anos e variou em função da unidade de internação, predominando na Clínica Cirúrgica, Clínica Médica, Oncologia e Unidade de terapia Intensiva. *C. albicans* foi a espécie predominante e, dentre as não-*C. albicans*, a *C. glabrata* foi a mais frequente quando

comparada a literatura. Todos os isolados do complexo *C. glabrata* foram identificadas como *C. glabrata stricto sensu*. Os fatores predisponentes – cirurgia gástrica, utilização de procedimentos e dispositivos invasivos, terapia imunossupressora e antibioticoterapia, e a presença de eventos agudos encontravam-se presentes, confirmando achados da literatura. O fluconazol foi o composto antifúngico que apresentou a maior prevalência de sensibilidade dose-dependente, a que se seguiram caspofungina e micafungina. A letalidade foi muito elevada, igual a 66,1% dos casos, apesar de o tratamento ter sido considerado adequado em 61,4% dos pacientes. *Conclusions.* A prevalência de candidemia por *C. glabrata* foi maior que a encontrada habitualmente, com diminuição da causada por *C. parapsilosis*. A genotipagem revelou que apenas a *C. glabrata* propriamente dita foi identificada. O fluconazol revelou a maior frequência de sensibilidade dose-dependente

Palavras-chave: *Candida*, candidemia, IRAS, teste de sensibilidade in vitro, biologia molecular.

Introdução

O gênero *Candida* é constituído por aproximadamente 200 espécies, 20 das quais estão relacionadas a infecções em seres humanos, com destaque para *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* e *C. lusitanae*.¹

Entre as infecções da corrente sanguínea (ICS) as candidemias são uma das principais causas de infecção relacionada à assistência em saúde (IRAS), colocando-se em quarto lugar nos Estados Unidos e sétimo no Brasil, segundo prevalência.^{2,3}

Hospitalizações, cirurgias de alto risco, depressão imunitária secundária a doença de base ou distúrbios metabólicos do hospedeiro, fatores iatrogênicos relacionados a procedimentos médicos invasivos, quimioterapia, uso profilático de antifúngicos e utilização abusiva de antibióticos de amplo espectro têm aumentado em frequência e favorecido a emergência de ICS.^{4,5} Apesar dos avanços observados no tratamento antifúngico, a

mortalidade por candidemia tem-se mantido elevada, da ordem de 50 a 72%, constituindo-se em um dos maiores problemas de hospitais terciários de todo o mundo.^{3,6}

Até há pouco tempo, as técnicas utilizadas na determinação de sensibilidade antifúngica não se encontravam padronizadas, o que trazia muitas dificuldades para comparar os resultados observados em diferentes laboratórios. Assim, o *Clinical and Laboratory Standards Institute* e o *European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing* padronizaram técnicas para avaliação da sensibilidade de leveduras e fungos filamentosos a diferentes antifúngicos.^{7,8,9,10} Apesar de algumas diferenças entre as padronizações, esses consensos (*guidelines*) trouxeram grande contribuição à avaliação e comparação dos achados de diferentes regiões do mundo.

Assim, este trabalho teve por objetivo avaliar a taxa de infecções da corrente sanguínea por *Candida* spp., determinar o perfil de sensibilidade a antifúngicos das amostras isoladas e avaliar aspectos epidemiológicos, clínicos e terapêuticos dos pacientes-fonte.

Casuística e Métodos

Foi realizado um estudo prospectivo de vigilância laboratorial e clínica com amostras de *Candida* spp. previamente isoladas do primeiro episódio de infecção da corrente sanguínea - ICS em pacientes do Hospital Estadual Bauru, localizado na Região Centro-Oeste do Estado de São Paulo, Brasil, durante período de 2011 a 2018, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP (número do CAAE 65548016.2.0000.5411).

Foi considerado caso de candidemia o paciente com pelo menos um isolado de fungos do gênero *Candida* de sangue periférico e sinais e sintomas de infecção, temporariamente relacionados.⁴ Os episódios foram considerados independentes quando causados por diferentes espécies de *Candida* ou ocorreram com pelo menos 30 dias de intervalo, após

resolução das manifestações clínicas e pelo menos uma cultura negativa. Pacientes com cultura positiva de ponta de cateter, porém com hemocultura negativa, foram excluídos do estudo e pacientes com candidemia mista foram excluídos da análise estatística.

Características demográficas e fatores que pudessem predispor a candidemia foram coletados dos prontuários médicos e transferidos para uma ficha especialmente padronizada para esse estudo.

No período compreendido entre 2011 e 2018 foram diagnosticados 84 casos de candidemia, com isolamento dos respectivos agentes etiológicos, que se encontravam congelados. De cinco deles não foi possível fazer o re-isolamento em cultivo, o que reduziu a 79 a amostra estudada, como revela a figura 1. O resultado do teste de sensibilidade não foi obtido para fluconazol (FLC), voriconazol (VRC), anfotericina B (AMB) e 5-fluorocitosina (5-FC) em duas amostras e para caspofungina (CSF) e micafungina (MCF) em 26 isolados. Os dados clínicos foram coletados dos prontuários de 59 pacientes. Portanto, as análises clínico-laboratoriais puderam ser realizadas em, no máximo, 59 pacientes (figura 1).

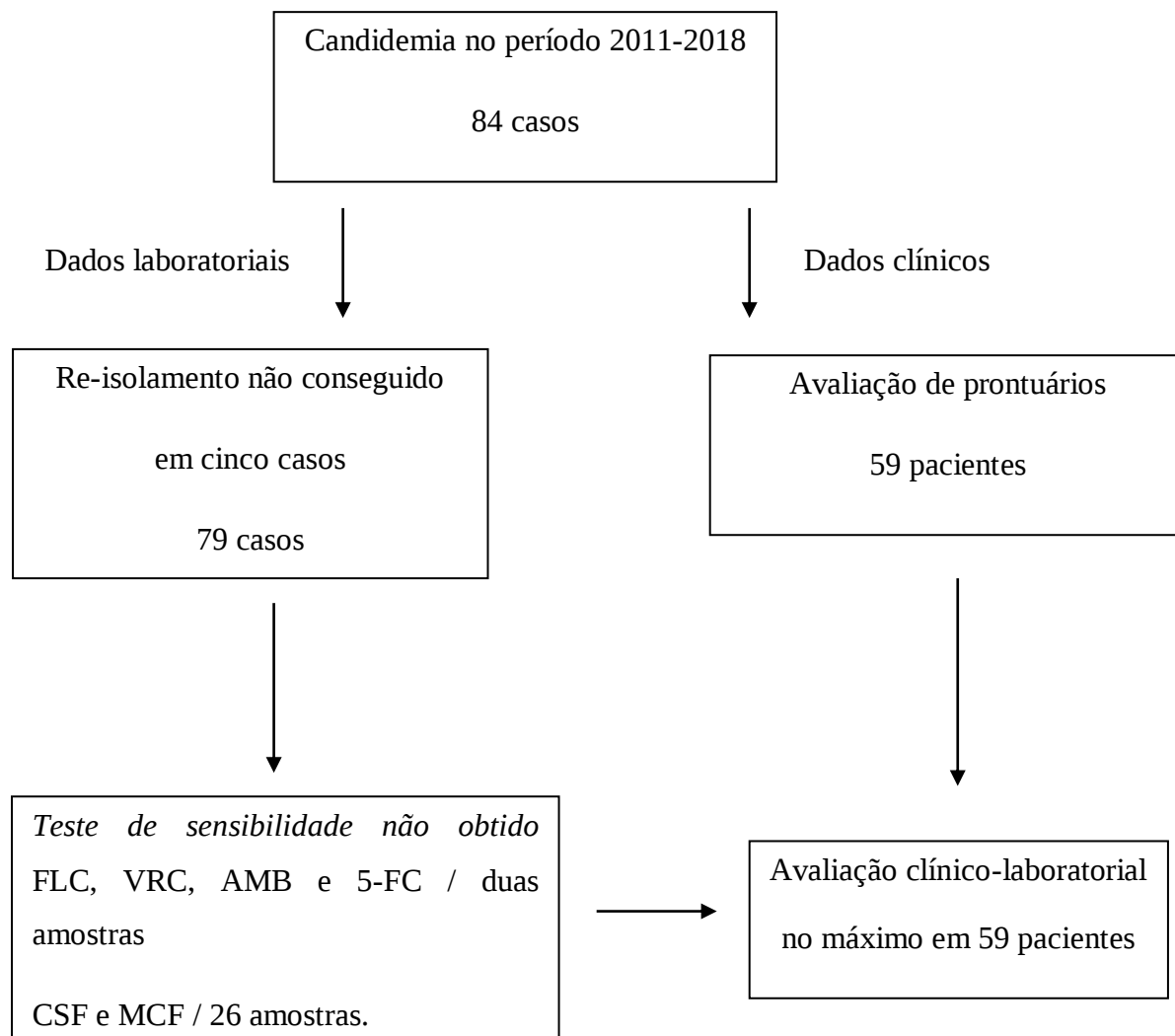


Figura 1 – Fluxograma dos pacientes com candidemia, em função dos dados analisados – aspectos clínicos e teste de sensibilidade antifúngica. FLC – fluconazol; VRC – voriconazol; AMB – anfotericina B; 5-FC – 5-fluorocitosina; CSF – caspofungina; MCF – micafungina.

Recuperação das culturas

A recuperação das amostras armazenadas em freezer a -80°C , que previamente foram isoladas do Hospital Estadual Bauru e identificadas no Vitek2 (bioMérieux), foi realizada pela inoculação das leveduras no meio cromogênico CHROMagar *Candida* (CHROMagar Microbiology, França). As placas foram incubadas à temperatura de 35°C e as leituras realizadas após 24 e 48h de incubação. Em seguida foi feita a confirmação fenotípica através

do microcultivo, utilizando-se ágar fubá. As amostras purificadas foram repicadas em tubos de ensaio contendo meio de cultura Sabouraud Dextrose (Oxoid), e incubadas por 24 h para provas de sensibilidade a antifúngicos e genotipagem.

Teste de sensibilidade antifúngica utilizando Vitek® 2

Suspensão padronizada de inóculo para cada amostra, entre 1,8 e 2,2 de acordo com a escala de McFarland, foi colocada em cartões Vitek® 2 AST-YS07 (Biomérieux) juntamente com um tubo de ensaio de poliestireno estéril e um cartão de teste de susceptibilidade de levedura para cada organismo. Os cartões foram então colocados no aparelho Vitek® 2, foram cheios, incubados e lidos automaticamente. O tempo de incubação variou de 11,25 a 35,75 horas, com base na taxa de crescimento do controle livre de drogas, e os resultados foram expressos como concentração inibitória mínima (MIC, na sigla inglesa) em µg/mL para fluconazol (FLC), voriconazol (VRC), caspofungina (CSF), micafungina (MCF), anfotericina B (AMB) e 5-fluorocitosina (5-FC). Cepas provenientes da American Type Culture Collection– ATCC: *C. albicans* (ATCC 90028), *C. tropicalis* (ATCC 750), *C. glabrata* (ATCC 90030), *C. parapsilosis* (ATCC 22019) e *C. krusei* (ATCC 6258), foram submetidas à avaliação do MIC no equipamento, para validação dos resultados. Vinte e seis amostras de 80 testadas para CSF e MCF, o Vitek 2 não apresentou resultado de sensibilidade.

Todas as 19 amostras de *C. glabrata* foram avaliadas para CSF e MCF por meio da metodologia do EUCAST.¹¹

Identificação molecular

Amostras de *Candida glabrata* foram repicadas e cultivadas por 24h em caldo Sabouraud. Após 24h, a parede celular fúngica foi rompida com 50µL de solução de TE-

lisozima e o DNA genômico foi extraído utilizando-se o kit de extração Illustra™ BloodMini, 250 (GE Healthcare).

Todas as amostras identificadas como *C. glabrata* por métodos fenotípicos foram submetidas à reação de PCR por meio do *kit* Platinum® PCR SuperMix (Invitrogen) com um par de *primers* específicos para a espécie *C. glabrata* (senso: CGL1-TTATCACACGACTCGACACT) e (anti-senso: CGL2- CCCACATACTGATATGGCCTACAA). A amplificação foi realizada em termociclador nas seguintes condições: desnaturação inicial de 94°C por 5 min, 40 ciclos de 94°C por 30s; 58°C por 30s, 72°C por 30s e extensão final de 10 min a 72°. O tamanho de fragmento amplificado obtido, com aproximadamente 423pb, foi identificado como *C. glabrata*. Numa segunda etapa, foi realizada a PCR multiplex por meio do *kit* Platinum® PCR SuperMix (Invitrogen) com os *primers* CGL1 (5' - TTATCACACGACTCGACACT-3'); NIV-f (5'-AGGGAGGAGTTTGTATCTTTCAAC-3'), BRA-f (5'- GGGACGGTAAGTCTCCCG-3') e antissenso universal UNI- 5.8S (5' - ACCAGAGGGCGCAATGTG- 3'). A amplificação foi realizada nas seguintes condições: desnaturação inicial de 94°C por 5 min, 34 ciclos de 94°C por 30s; 60°C por 40s; 72°C por 50s e extensão final de 10 min a 72°C. Após amplificação, os produtos de PCR foram aplicadas no gel de agarose a 2% em TBE contendo 0,5µg/mL de brometo de etídio durante 50 min a 100V e 400mA. Os géis foram visualizados em transiluminador ultravioleta com longitude de onda de 302 nm (Syngene). O tamanho de fragmento amplificado, com aproximadamente 423 pb, foi identificado como *C. glabrata*, com 293pb como *C. nivariensis* e com 223bp como *C. braccarensis*.¹²

Análise estatística

As comparações de frequências em amostras dependentes foram realizadas usando-se o teste de MacNemar. As comparações de frequências entre amostras independentes foram realizadas pelo teste exato de Fisher ou pela comparação de proporções, utilizando-se a

distribuição normal. Admitiu-se um erro tipo α igual ou menor que 5% para rejeição da hipótese de nulidade ($p \leq 0,05$). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o Sistema de Análises Estatísticas versão 9.2 (SAS Institute).

Resultados

Oitenta e quatro casos de candidemia foram estudados entre 2011 e 2018. *Candida albicans* foi responsável por 37 (44%) de todos os episódios observados. As espécies de *C. não-albicans* apresentaram a seguinte distribuição: *C. glabrata*: 20 (23,8%); *C. tropicalis*: 14 (16,7%); *C. parapsilosis*: 10 (11,9%); *C. krusei*: 2 (2,4%); *C. guilliermondii* 1 (1,2%). Neste período, a distribuição das espécies de *Candida* se manteve estável como revela a tabela 1.

Tabela 1 - Distribuição de 84 amostras do gênero *Candida*, isoladas da corrente sanguínea de pacientes internados em hospital terciário de Bauru, segundo ano do isolamento.

Ano	Espécie						Total
	<i>C. guilliermondii</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	
2011	-	3(60,0)	1(20,0)	-	-	1(20,0)	5(100,0)
2012	-	5(33,3)	4(26,7)	1(6,7)	2(13,3)	3(20,0)	15(100,0)
2013	1(10,0)	5(50,0)	2(20,0)	-	1(10,0)	1(10,0)	10(100,0)
2014	-	11(57,9)	4(21,1)	-	2(10,5)	2(10,5)	19(100,0)
2015	-	3(30,0)	4(40,0)	-	1(10,0)	2(20,0)	10(100,0)
2016	-	3(27,3)	3(27,3)	1(9,1)	3(27,3)	1(9,1)	11(100,0)
2017	-	5(83,3)	-	-	-	1(16,7)	6(100,0)
2018	-	2(25,0)	2(25,0)	-	1(12,5)	3(37,5)	8(100,0)
Total	1(1,2)	37(44,0)	20(23,8)	2(2,4)	10(11,9)	14(16,7)	84(100,0)

$p = 0,82$ (Teste exato de Fisher)

-: nenhuma espécie isolada () - porcentagem

Não se observou diferença entre as prevalências de espécies de não-*C. albicans* (56%) e *C. albicans* (44%) em função do ano de isolamento (tabela 2). Nenhum paciente apresentou novo episódio de candidemia após tratamento bem sucedido.

Tabela 2- Distribuição de frequência das espécies *Candida albicans* e não-*Candida albicans*, segundo ano de isolamento, de pacientes internados em hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil).

Ano	Espécies		Total
	<i>C. albicans</i>	não- <i>C. albicans</i>	
2011	3 (60,0)	2 (40,0)	5 (100,0)
2012	5 (33,3)	10 (66,7)	15 (100,0)
2013	5 (50,0)	5 (50,0)	10 (100,0)
2014	11 (57,9)	8 (42,1)	19 (100,0)
2015	3 (30,0)	7 (70,0)	10 (100,0)
2016	3 (27,3)	8 (72,7)	11(100,0)
2017	5 (83,3)	1 (16,7)	6 (100,0)
2018	2 (25,0)	6 (75,0)	8 (100,0)
Total	37 (44,0)	47 (56,0)	84 (100,0)

$p=0,20$ Teste exato de Fisher () - porcentagem

A comparação da prevalência de espécies de *Candida* isoladas em pacientes com candidemia do Hospital Estadual Bauru com a de 10 estudos brasileiros realizados em diferentes hospitais, entre 1994 e 2015, revelou predomínio de *C. glabrata* no HEB ($p<0,0001$) e de *C. parapsilosis* na casuística levantada ($p=0,04$), como mostra a tabela 3.

Tabela 3 - Comparação de prevalências, em porcentagem, de espécies de *Candida* isoladas de infecções da corrente sanguínea, em hospital terciário de Bauru entre 2011 e 2018 e em 2.206 pacientes com candidemia, avaliados em 10 estudos brasileiros, realizados entre 1994 e 2015.

	População Estudos Brasileiro	Amostras HEB	<i>p</i>
<i>C. albicans</i>	40,0	41,7	0,49
<i>C. glabrata</i>	7,2	25,0	<0,0001
<i>C. krusei</i>	2,2	3,3	0,72
<i>C. parapsilosis</i>	20,8	11,7	0,04
<i>C. tropicalis</i>	21,8	16,7	0,17

Teste para comparação de proporções utilizando-se a distribuição normal

Referências: **13** Ruiz et al. J Mycol Med. 2005;15(1):13–21. **14** Colombo et al. J Clin Microbiol. 2006;44(8):2816–23. **15** Hinrichsen et al. Rev Soc Bras Med Trop. 2008; 41(4):394-398. **16** Wille et al. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2013;108(3):288–92. **17** Moretti et al. Med Mycol. 2013;51(April):225–30. **18** Colombo et al. Med Mycol. 2013 Jan;51(1):38-44. **19** Neufeld et al. Braz J Microbiol. 2015;46(2):477-84. **20** Gaspar et al. Rev Soc Bras Med Trop. 2015;48(1):77-82. **3** Doi et al. PLoS One. 2016;11(1):e0146909. **21** Canela et al. Mycoses. 2017; 61:11-21.

Foram analisados 59 prontuários clínicos de pacientes atendidos entre 2011 e 2016, que constitui parte dos pacientes-fonte das 84 amostras de *Candida* isoladas de 2011 a 2018. A porcentagem de óbitos foi de 66,1% e a taxa de incidência geral de candidemia foi de 0,68 casos por 1.000 admissões hospitalares.

A taxa de incidência de candidemia foi maior em mulheres (0,76/1000 admissões) que em homens (0,54/1000 admissões; $p < 0,0001$). Além disso, ela variou em função da unidade de internação, mas não em relação à espécie isolada, como revelam as tabelas 4a e 4b. As unidades com maiores taxas foram as de Clínica Médica, Clínica Cirúrgica, Oncologia e Unidade de Terapia Intensiva.

Tabela 4a – Comparação das taxas de incidência de candidemia, em número de casos por 1.000 internações, em hospital terciário de Bauru (estado de São Paulo, Brasil), em função da unidade de internação.

Unidade de internação	Taxa de candidemia (número de casos/1.000 admissões)
Clínica cirúrgica	0,15 ^B
Clínica médica	15,38 ^A
Oncologia	25,32 ^A
Pediatria	2,31 ^B
Queimados	6,13 ^{AB}
Unidade de terapia Intensiva	10,31 ^A
- UTI	
UTI coronariana	2,95 ^B

Teste de comparações múltiplas de proporções $p < 0,05$

Tabela 4b – Distribuição das espécies de *Candida* segundo unidade de internação em um hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil).

Unidade	Espécie					n
	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. krusei</i>	
Adulto	12(44,5)	1(3,7)	4(14,8)	9(33,3)	1(3,7)	27
Coronariana	2(66,7)	-	1(33,3)	-	-	3
Pediátrica	4(33,3)	3(25,0)	2(16,7)	2(16,7)	1(8,3)	12
Queimados	1(33,3)	-	2(66,7)	-	-	3
Outra unidade (UTIs)	6(46,1)	3(23,1)	-	4(30,8)	-	13

$p=0,39$ (Teste exato de Fisher) - : nenhuma espécie isolada () – porcentagem
n – número de pacientes

O estudo da relação entre intervenção e eventos agudos durante a hospitalização em pacientes com candidemia e a espécie de *Candida* isolada revelou significância em apenas uma variável. A presença de eventos agudos foi mais freqüente em pacientes infectados pela *C. albicans*, cabendo à *C. parapsilosis* a menor prevalência ($p=0.004$), como revela a tabela 5.

Tabela 5 - Principais intervenções e eventos agudos de 59 casos de candidemia atendidos em hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil), entre 2011 e 2016. Distribuição segundo espécie isolada.

Variáveis	Espécie					<i>p</i>
	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. krusei</i>	
Cirurgia gástrica	6(24,0)	1(14,3)	3(33,3)	4(26,7)	1(50,0)	0,87
Dispositivo médico invasivo	21(84,0)	3(42,9)	8(88,9)	11(73,3)	2(100,0)	0,10
Ventilação mecânica	8(32,0)	2(28,6)	-	6(40)	-	0,28
Intubação oro-traqueal	12(48,0)	1(14,3)	3(33,3)	6(40,0)	2(100,0)	0,29
Sonda vesical de demora	12(48,0)	2(28,6)	7(77,8)	10(66,7)	2(100,0)	0,15
Procedimentos invasivos prévios	4(16,0)	4(57,1)	3(33,3)	5(33,3)	1(50,0)	0,28
Terapia com esteroide	8(32,0)	2(28,6)	4(44,4)	5(33,3)	1(50,0)	0,92
Hidrocortisona	4(16,0)	-	2(22,2)	4(26,7)	1(50,0)	0,62
Terapia imunossupressora	5(20,0)	2(28,6)	3(33,3)	2(13,3)	-	0,79
Eventos agudos	23(92,0)*	2(28,6)	6(66,7)	11(73,3)	2(100,0)	0,004
Pneumonia	6(24,0)	2(28,6)	2(22,2)	4(26,7)	-	0,99
Falência renal aguda	8(32,0)	1(14,3)	2(22,2)	4(26,7)	1(50,0)	0,88
Choque séptico	17(68,0)	1(14,3)	6(66,7)	8(53,3)	2(100)	0,07
Uso prévio de antibiótico	21(84,0)	6(85,7)	7(77,8)	12(80,0)	1(50,0)	0,28
Cefepime	9(36,0)	2(28,6)	3(33,3)	2(13,3)	1(50,0)	0,56
Vancomicina	10(40,0)	5(71,4)	4(44,4)	4(26,7)	1(50,0)	0,42
Ciprofloxacino	5(20,0)	1(14,3)	2(22,2)	2(13,3)	-	0,95
Piperacilina/tazobactam	4(16,0)	-	2(22,2)	4(26,7)	-	0,74
Metronidazol	9(36,0)	2(28,6)	-	4(26,7)	-	0,31

Teste Exato de Fisher -: nenhuma espécie isolada () – porcentagem *: diferença estatística
Prevalências seguidas da mesma letra não diferem entre si ($p>0,05$) enquanto prevalências seguidas de letras diferentes diferem entre si ($p<0,05$).

De acordo com a tabela 6, o uso prévio de antifúngico foi observado em 10/59 (17,2%) dos pacientes.

Dos 59 pacientes cuja avaliação clínica foi revista e transferida para as fichas padronizadas, 44 (74,6%) receberam antifúngico, 26 dos quais foram tratados com fluconazol (FLC), 16 com micafungina (MCF) e 5 com anfotericina B (AMB); alguns pacientes receberam mais de um composto antifúngico. O tratamento foi considerado apropriado para 35 (61,4%) pacientes e inadequado para 22, não havendo essa informação para os outros dois. A tabela 6 apresenta os dados de tratamento após diagnóstico de candidemia em função da espécie de *Candida* identificada.

Tabela 6 – Uso prévio e pós-diagnóstico de compostos antifúngicos por 59 pacientes com candidemia, internados em hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil) entre 2011 e 2016, segundo espécie, composto antifúngico indicado e avaliação do tratamento.

Variáveis	Espécies					p
	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. krusei</i>	
Uso prévio de antifúngico	2(8,0)	3(42,9)	2(22,2)	3(20,0)	-	0,32
Fluconazol	1(4,2)	2(28,6)	1(11,1)	3(20,0)	-	0,48
Micafungina	-	1(14,3)	-	-	-	0,19
Anfotericina B	1(14,2)	1(14,3)	1(11,1)	-	-	0,72
Terapia antifúngica	18(72,0)	6(85,7)	8(88,9)	10(66,7)	2(100,0)	0,46
Fluconazol	11(44,0)	4(57,1)	5(55,5)	5(33,3)	1(50,0)	0,81
Micafungina	6(24,0)	3(42,8)	2(22,2)	4(26,7)	1(50,0)	0,76
Anfotericina B	2(8,0)	1(14,3)	-	2(14,3)	-	0,87
Tratamento adequado com antifúngico	15(60)	4(57,1)	7(77,8)	7(46,7)	2(100,0)	0,26
Fluconazol	9(36,0)	1(14,3)	5(55,5)	3(20,0)	1(50,0)	0,36
Micafungina	7(28,0)	3(42,8)	2(22,2)	4(26,7)	1(50,0)	0,34
Anfotericina B	1(4,0)	2(33,3)	-	2(14,3)	-	0,24
Teste exato de Fisher	-: nenhuma espécie isolada () – porcentagem					

A avaliação da sensibilidade antifúngica mostrou que todas as espécies foram sensíveis à AMB e que a maior prevalência de SDD foi observada com FLC, como revela a tabela 7. Resistência cruzada entre FLC e VRC foi observada para duas *C. albicans*, uma *C. parapsilosis* e uma *C. tropicalis*. As amostras de *C. glabrata* submetidas ao teste de sensibilidade segundo a metodologia de EUCAST apresentaram semelhantes resultado de sensibilidade cujo MIC para CSF variou de 0,25 – 4µg/ml (Vitek 2) e 0,06 – 1 (EUCAST) e para MCF variou de 0,06 – 4 (Vitek 2) e 0,06 – 0,5. Embora os valores de MIC para o Vitek 2 foram mais alto, ambos apresentaram mesma classificação de sensibilidade, com exceção de uma amostras que foi sensível a CSF no método de EUCAST e resistente no Vitek 2.

Tabela 7 - Frequência do padrão de suscetibilidade as drogas antifúngicas em amostras do gênero *Candida* isoladas da corrente sanguínea de pacientes com candidemia entre 2011 e 2018.

Espécie (n)	Antifúngico																		
	FLC			VRC			CSF			MCF			AMB			5-FC			
	S	SDD	R	S	SDD	R	S	SDD	R	S	SD D	R	S	SDD	R	S	SDD	R	
<i>C. albicans</i> (37)	24/ 35	6/35	5/ 35	33/ 35	-	2/ 35	32/ 32	-	-	32/ 32	-	-	35/ 35	-	-	35/ 35	-	-	
<i>C. parapsilosis</i> (10)	9/ 10	-	1/ 10	8/ 10	-	2/ 10	9/ 10	-	1/ 10	-	10/ 10	-	10/ 10	-	-	10/ 10	-	-	
<i>C. tropicalis</i> (14)	6/ 13	2/13	5/ 13	12/ 13	-	1/ 13	1/1	-	-	1/1	-	-	13/ 13	-	-	13/ 13	-	-	
<i>C. glabrata</i> (20)	-	18/18	-	9/ 18	-	9/ 18	6/9	-	3/ 9	5/9	-	4/ 9	18/ 18	-	-	18/ 18	-	-	
<i>C. krusei</i> (2)	-	-	1/1	1/1	-	-	1/1	-	-	1/1	-	-	1/1	-	-	-	1/1	-	

:- nenhuma espécie; FLC – fluconazol; VRC – voriconazol; CSF – caspofungina; MCF – micafungina; 5-FC – fluorocitosina; AMB – anfotericina B; S – sensível; SDD – sensível-dose-dependente; R – resistente

Comparados os perfis de sensibilidade a compostos antifúngicos 2x2, as concordâncias variaram entre 42,6% (FLC e MCF) e 98,7% (AMB e 5-FC), com mediana de 66,2% (CSF e 5-FC). As maiores discordâncias entre os resultados dos testes de sensibilidade a compostos antifúngicos foram os que se seguem, como se pode observar na tabela 8: a) SDD ao FLC e sensibilidade aos cinco outros compostos antifúngicos testados (20,4% a 33,8%); b) sensibilidade ao VRC e SDD à MCF (14,8%); c) resistência ao VRC e sensibilidade à AMB (16,9%); d) resistência ao VRC e sensibilidade à 5-FC (16,9%); e) SDD à MCF e sensibilidade à CSF (16,7%); f) SDD à MCF e sensibilidade à AMB (18,5%); g) SDD à MCF e sensibilidade à 5-FC (18,5%) como mostra a tabela 8.

Tabela 8 - Comparação dos resultados dos testes de sensibilidade de compostos antifúngicos, avaliados dois a dois, realizados em amostras de fungos do gênero *Candida*, isolados da corrente sanguínea de pacientes com candidemia, admitidos em hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil) entre 2011 e 2018.

	Concordância	Discordâncias						N	<i>p</i>
		1S 2SDD	1S 2 R	1 R 2 S	1SDD 2R	1SDD 2S	1R 2SDD		
FLC e VRC	43(55,8)	-	1(1,3)	7(9,1)	8(10,4)	18(23,4)*	-	77	<0,0001
FLC e CSF	33(60,0)	-	-	7(12,7)	3(5,5)	12(21,8)*	-	55	0,0002
FLC e MCF	23(42,6)	9(16,7)	-	6(11,1)	4(7,4)	11(20,4)*	1(1,8)	54	0,04
FLC e AMB	40(51,9)	-	-	11(14,3)	-	26(33,8)*	-	77	<0,0001
FLC e 5-FC	40(51,9)	-	-	10(13,0)	-	26(33,8)*	1(1,3)	77	<0,0001
VRC e CSF	44(78,6)	-	-	8(14,3)	4(7,1)	-	-	56	0,39
VRC e MCF	36(66,7)	8(14,8)*	3(5,6)	5(9,2)	-	-	2(3,7)	54	0,01
VRC e AMB	64(83,1)		-	13(16,9)*	-	-	-	77	<0,0001
VRC e 5-FC	63(81,8)	1(1,3)	-	13(16,9)*	-	-	-	77	0,002
CSF e MCF	43(79,6)	9(16,7)*	1(1,9)	-	-	-	1(1,9)	54	0,01
CSF e AMB	52(92,8)	-	-	4(7,2)	-	-	-	56	0,13
CSF e 5-FC	51(89,5)	1(1,7)	-	4(7,1)*	-	-	1(1,7)	57	0,11
MCF e AMB	40(74,1)	-	-	4(7,4)	-	10(18,5)*	-	54	0,002
MCF e 5-FC	39(72,2)	1(1,9)	-	4(7,4)	-	10(18,5)*	-	54	0,006
AMB e 5-FC	76(98,7)	1(1,3)	-	-	-	-	-	77	0,99

Teste de McNemar 3x3 FLC – fluconazol; VRC – voriconazol; CSF – caspofungina; MCF – micafungina; 5-FC – fluorocitosina; AMB – anfotericina B; -: zero; () – porcentagem; vs - versus; n – número de amostras; * - diferença estatística

The geometric means of the MICs of the antifungal compounds evaluated in the same concentrations were compared, showing higher values for FLC than VRC, mainly in *C. glabrata*, and for CSF than MCF, mainly in *C. albicans* (table 9).

Table 9 – Comparação da média geométrica da concentração inibitória mínima (MIC), em µg/mL, de compostos antifúngicos na mesma concentração, em espécies de *Candida*. Amostras pareadas usando teste *t* por meio de MICs transformados em logarítimo.

Espécies de <i>Candida</i>	FLC	VRC	<i>p</i>	CASPO	MICA	<i>P</i>
<i>C. albicans</i>	1.85	0.16	<0.001	1.85	0.16	<0.001
<i>C. glabrata</i>	14.25	1.55	<0.001	0.54	0.19	0.001
<i>C. parapsilosis</i>	2.33	0.16	<0.001	0.40	0.50	0.19
<i>C. tropicalis</i>	5.22	0.20	<0.001	...	...	...

FLC – fluconazol; VCR – voriconazol; CASPO – caspofungina; MICA – micafungina; ... = nenhum

Letalidade. Foi elevada a letalidade de pacientes com candidemia, que alcançou 66,1%, apesar de o tratamento ter sido considerado adequado em 61,4% dos pacientes. As unidades que registraram maior número de óbitos foram a clínica médica, clínica cirúrgica e as UTIs adulto e coronariana ($p<0,001$). Não houve relação entre o uso de terapia antifúngica e sobrevida ou óbito. Além disso, as espécies de *Candida* mais prevalentes entre os pacientes que evoluíram para óbito foram *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. glabrata* ($p<0,016$), como demonstra a tabela 9.

Tabela 9 - Distribuição de 59 casos de candidemia atendidos em hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil), entre 2011 e 2016, segundo desfecho, unidade de internação, tratamento e espécie isolada.

Variáveis	Óbito nº (%)	Sobrevida nº (%)	Total nº (%)	p value
Unidade de Internação				0,001
Clínica Médica	21 (80,8)*	5 (19,2)	26 (100,0)	
Clínica Cirúrgica	6 (85,7)*	1 (14,3)	7 (100,0)	
Clínica Pediátrica	4 (28,6)	10 (71,4)	14 (100,0)	
Clínica de Queimados	1 (25,0)	3 (75,0)	4 (100,0)	
Clínica Oncologia	1 (50,0)	1 (50,0)	2 (100,0)	
UTI	5 (100)*	-	5 (100,0)	
Unidade de Terapia Intensiva				0,0001
Adulto	25 (92,6)*	2 (7,4)	27(100,0)	
Coronariana	3 (100,0)*	-	3 (100,0)	
Pediátrica	4 (33,3)	8 (66,7)	12 (100,0)	
Queimados	1 (33,3)	2 (66,7)	3 (100,0)	
Terapia antifúngica				1,0
Sim	25 (56,8)	19 (43,18)	44 (100,0)	
Não	14 (56,0)	11 (44,0)	25 (100,0)	
Espécie				0,016
<i>C. albicans</i>	19 (76,0)*	6 (24,0)	25 (100,0)	
<i>C. parapsilosis</i>	2 (28,6)	5 (71,4)	7 (100,0)	
<i>C. tropicalis</i>	5 (100,0)*	-	5 (100,0)	
<i>C. glabrata</i>	11 (73,3)*	4 (26,6)	15 (100,0)	
<i>C. krusei</i>	2 (33,3)	4 (66,7)	6 (100,0)	
<i>C. guilliermondii</i>	-	1 (100,0)	1 (100,0)	
Teste Exato de Fisher	-: zero	*: diferença estatística		

Diagnóstico molecular de fungos do complexo C. glabrata. Dezesesseis dos 20 isolados identificadas como *C. glabrata* pelo teste fenotípico foram confirmadas como sendo do

complexo *C. glabrata* por meio da PCR com os primers CGL1 e CGL2 e PCR-multiplex com os primers CGL1, NIV-f, BRA-f e UNI- 5.8S como demonstram as figuras 2 e 3a e b.

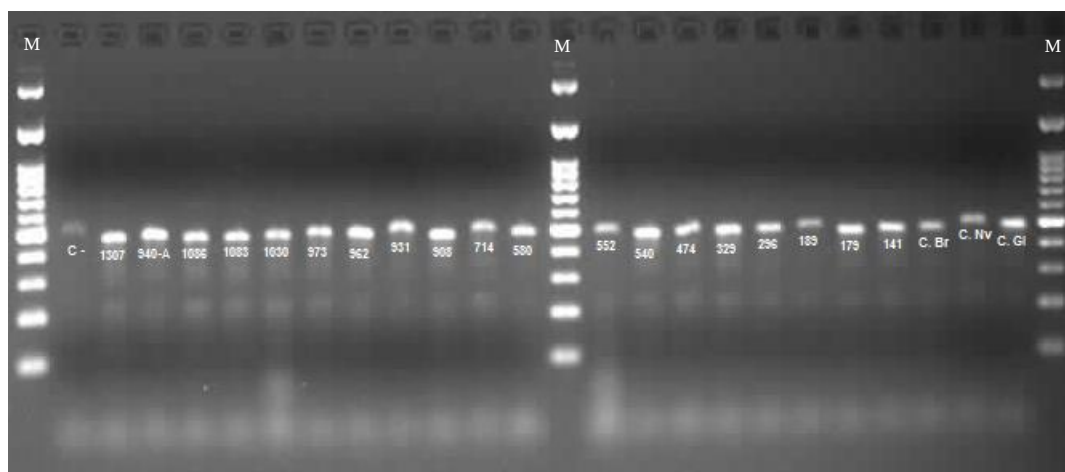
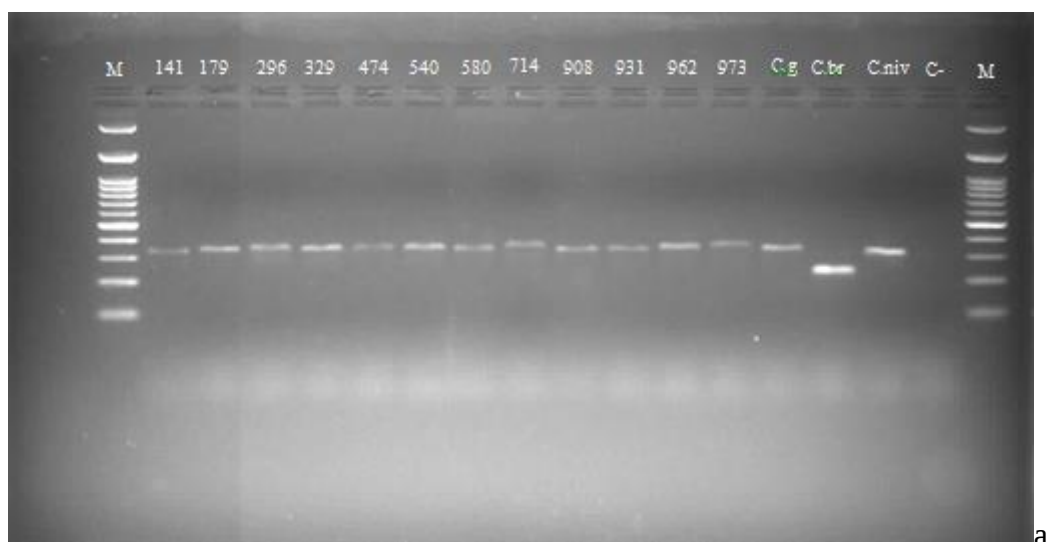


Figura 2 – Produtos de PCR. M, peso molecular de 100 pb. Amplificação dos produtos de PCR 1307 a 141 *C. glabrata* isoladas de corrente sanguínea de pacientes internados; c-, controle negativo; C.Br, *C. bracariensis* ATCC 10154; C.niv, *C. nivariensis* ATCC 9983; C.Gl, *C. glabrata* ATCC 90030.



a

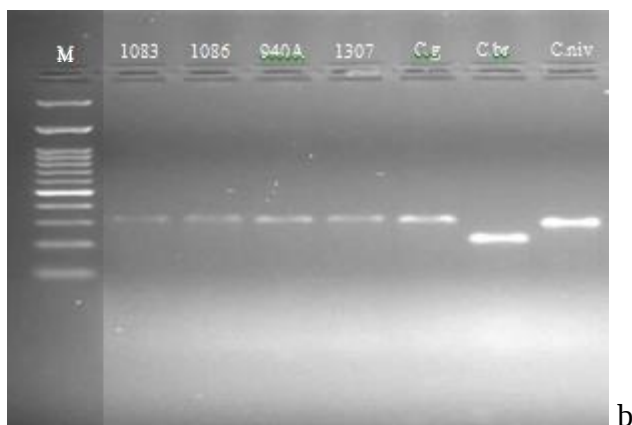


Figura 3 – Produtos de PCR-multiplex. M, peso molecular de 100 pb. **a**, Amplificação dos produtos de PCR-multiplex 141 a 973 de *C. glabrata* isoladas de corrente sanguínea de pacientes internados; c-, controle negativo; C.br, *C. bracariensis* ATCC 10154; C.niv, *C. nivariensis* ATCC 9983; C.gl, *C. glabrata* ATCC 90030. **b**. Amplificação dos produtos de PCR-multiplex 1083, 1086, 940A e 1307 de *C. glabrata* isoladas de corrente sanguínea de pacientes internados; C.br, *C. bracariensis* ATCC 10154; C.niv, *C. nivariensis* ATCC 9983; C.gl, *C. glabrata* ATCC 90030.

Discussão

O presente estudo avaliou a epidemiologia da candidemia em um hospital terciário da Região Centro-Oeste do estado de São Paulo (Brasil).

C. albicans foi a espécie mais prevalente (44%) e, dentre as 56% de não-*C. albicans*, a mais frequente foi *C. glabrata*, seguida de *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*. Comparando-se a prevalência de quatro espécies de não-*C. albicans* observada no presente estudo com a média das prevalências observadas em 10 estudos brasileiros^{3,21,17,16,15,14,18,13,19,20} observa-se que, neste estudo, foi maior a frequência de *C. glabrata* e menor a de *C. parapsilosis*. A prevalência de não-*C. albicans* diferiu de outros trabalhos brasileiros e latinos, nos quais *C. parapsilosis*, em geral, é a espécie mais encontrada.^{3,10,22}

Por outro lado, os dados do presente estudo corroboram os observados em outro hospital terciário do interior do estado de São Paulo, que também revelou maior prevalência (19%) de *C. glabrata* entre as não-*C. albicans*, achado que sugere mudança no perfil das espécies encontradas.²¹

Vários estudos demonstraram excelentes concordâncias de resultados quando a sensibilidade do Vitek 2 foi comparada as metodologias dos comitês internacionais EUCAST e CLSI.^{23,24,25,26,27} Por esse motivo optou-se pelo Vitek 2 por ser o método utilizado na rotina de microbiologia.

A avaliação do perfil de suscetibilidade a antifúngicos revelou que a *C. glabrata* apresentou elevada prevalência de SDD ao fluconazol e de resistência ao voriconazol, que é um composto triazólico de segunda geração, originado do fluconazol. Além disso, 30% dos isolados revelaram-se resistentes a duas equinocandinas - caspofungina e micafungina. Essa característica também foi observada em dois estudos brasileiros, em que a *C. glabrata* mostrou menor sensibilidade à caspofungina e ao fluconazol, quando comparada a outras espécies.^{3,21} Assim, os achados do presente estudo, que revelam aumento da prevalência de *C. glabrata* como agente de candidemia e a progressiva redução de sua suscetibilidade a compostos azólicos e equinocandinas, são de extrema importância na escolha de seu tratamento. Esses achados também reforçam a necessidade de se identificar a espécie de *Candida* que foi isolada e de se monitorar continuamente sua suscetibilidade aos compostos antifúngicos.

Vinte e seis pacientes do presente estudo foram tratados com fluconazol, 16 com micafungina e cinco com anfotericina B, tanto antes quanto após o resultado da espécie de *Candida*. Diretrizes recentes recomendam o uso empírico de equinocandina, pois está associado a um desfecho melhor que o uso de fluconazol, que é recomendado somente se o paciente responder bem aos antifúngicos de primeira linha, se estiver clinicamente estável, possuir um isolado sensível e as hemoculturas se tornarem negativas. Entretanto poucos estudos suportam essa estratégia terapêutica.²⁸ Os clínicos são relutantes em substituir uma equinocandina por fluconazol, principalmente quando a espécie isolada é *C. glabrata*.²⁹ O

presente estudo é um bom exemplo, pois todos os isolados de *C. glabrata* foram SDD ao fluconazol.

O presente estudo também revelou que os 10 (100%) isolados de *C. parapsilosis* foram SDD à micafungina, o que talvez possa estar relacionado a mutações naturais no gene FKS1 que leva a uma menor sensibilidade às equinocandinas.^{16,17} Embora o número de isolados tenha sido pequeno, é importante analisar se esse achado se confirma em outros estudos já que houve discrepância entre a sensibilidade de CSF e MCF.

Internação em unidades de terapia intensiva, eventos agudos, uso prévio de antibióticos e, em menor frequência, de antifúngicos foram observados no presente estudo, corroborando achados de outros autores.^{15,16,17} Presença de fatores como colonização multifocal, nutrição parenteral, cirurgia como razão de admissão na UTI e sintomas clínicos de sepse são fatores preditores independentes de candidemia.³⁰ Assim é possível selecionar pacientes que se beneficiariam de terapia antifúngica precoce na presença de múltiplos fatores de risco para infecção.

A candidemia foi diagnosticada durante a internação em três quartos dos casos, embora, apesar de tratamento adequado na maioria deles, cerca de 66% evoluíram para óbito, o que sugere que esta hipótese diagnóstica deve ser sempre levada em consideração, para instituição precoce do tratamento. A letalidade tem variado entre 52,0% e 55,4%^{3,13,21,18,31}, embora valor mais elevado já tenha sido revelado, confirmando a gravidade do quadro.³ O presente estudo revelou elevada letalidade em pacientes infectados com *C. tropicalis* (100%), *C. albicans* (76,0%) e *C. glabrata* (73,3%). Estes achados concordam em parte com os de outro estudo, que observaram as mesmas três espécies – *C. glabrata* (80%), *C. tropicalis* (77%) e *C. albicans* (55%), porém com frequências um pouco diferentes.³¹ Deve-se considerar, no entanto, que em nenhum dos dois estudos analisou-se o óbito atribuído à

candidemia, pois muitos outros fatores devem ter contribuído para esse desfecho, em especial a doença de base.

Em conclusão, demonstrou-se que a distribuição das espécies causadoras de candidemia diferiu de muitos estudos realizados no Brasil, com elevação da incidência de *C. glabrata*, que houve aumento da prevalência de espécies de *Candida* sensível dose-dependente ao fluconazol e à caspofungina e, por fim, que a espécie *C. glabrata stricto sensu* foi a única representante de seu complexo. Esses achados reforçam a necessidade de se identificar todos os isolados do gênero *Candida* em nível de espécie e de se manter o monitoramento de sua sensibilidade antifúngica.

Agradecimentos

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

Referências bibliográficas

1. Dignani MC, Solomkin JS, Anaisse E. *Candida*. In : Anaisse E, McGinnis MR, Pfaller MA, editors. *Medical Mycology*. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2003. p. 195-239.
2. Wisplinghoff H, Ebbers J, Geurtz L, Stefanik D, Major Y, Edmond MB, et al. Nosocomial bloodstream infections due to *Candida* spp. in the USA: Species distribution, clinical features and antifungal susceptibilities. *Int J Antimicrob Agents*. 2014;43(1):78–81.
3. Doi AM, Pignatari ACC, Edmond MB, Marra AR, Camargo LFA, Siqueira RA, et al. Epidemiology and Microbiologic Characterization of Nosocomial Candidemia from a Brazilian National Surveillance Program. *PLoS One*. 2016;11(1):e0146909.
4. Barchiesi F, Orsetti E, Gesuita R, Skrami E, Manso E. Epidemiology, clinical characteristics, and outcome of candidemia in a tertiary referral center in Italy from 2010 to 2014. *Infection*. 2016;44(2):205-13.

5. Zirkel J, Klinker H, Kuhn A, Abele-Horn M, Tappe D, Turnwald D, et al. Epidemiology of *Candida* blood stream infections in patients with hematological malignancies or solid tumors. *Med Mycol*. 2011;8:54–8.
6. Guinea J. Global trends in the distribution of *Candida* species causing candidemia. Vol. 8, *Clinical Microbiology and Infection*. 2014. p. 5–10.
7. Rex JH, Alexander BD, Andes D, Arthington-Skaggs B, Brown SD, Chaturvedi V, et al. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard - third edition. *Clin Lab Stand Inst*. 2008;(April):1–25.
8. Pfaller MA, Castanheira M, Diekema DJ, Messer SA, Moet GJ, Jones RN. Comparison of European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) and Etest methods with the CLSI broth microdilution method for echinocandin susceptibility testing of *Candida* species. *J Clin Microbiol*. 2010;48(5):1592–9.
9. NCCLS. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard. NCCLS document M27-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
10. Nucci M, Queiroz-Telles F, Alvarado-Matute T, Tiraboschi IN, Cortes J, Zurita J, et al. Epidemiology of Candidemia in Latin America: A Laboratory-Based Survey. *PLoS One*. 2013;8(3).
11. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). DOCUMENT E.DEF 7.3.1 Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts. 2017.
12. Romeo O, Scordino F, Pernice I, Lo Passo C, Criseo G. A multiplex PCR protocol for rapid identification of *Candida glabrata* and its phylogenetically related species *Candida nivariensis* and *Candida bracarensis*. *Microbiol Methods*. 2009 Oct;79(1):117-20.
13. Ruiz LS, Sugizaki MF, Montelli AC, Matsumoto FE, Pires MFC, Da Silva BCM, et al. Fungemia by yeasts in Brazil: Occurrence and phenotypic study of strains isolated at the

Public Hospital, Botucatu, São Paulo. J Mycol Med. 2005;15(1):13–21.

14. Colombo AL, Nucci M, Park BJ, Nouér SA, Arthington-Skaggs B, Da Matta DA, et al. Epidemiology of candidemia in Brazil: A nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. J Clin Microbiol. 2006;44(8):2816–23.

15. Hinrichsen SL, Falcão E, Vilella TAS, Colombo AL, Nucci M, Moura L, et al. Candidemia em hospital terciário do nordeste do Brasil. Rev Soc Bras Med Trop. 2008; 41(4):394-398.

16. Wille MP, Guimarães T, Campos Furtado GH, Colombo AL. Historical trends in the epidemiology of candidaemia: Analysis of an 11-year period in a tertiary care hospital in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2013;108(3):288–92.

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

18. Colombo AL, Garnica M, Aranha Camargo LF, Da Cunha CA, Bandeira AC, Borghi D, et al. *Candida glabrata*: an emerging pathogen in Brazilian tertiary care hospitals. Med Mycol. 2013 Jan;51(1):38-44.

19. Neufeld PM, Melhem MSC, Szeszs MW, Ribeiro MD, Amorim ELT, Silva M, et al. Nosocomial candidiasis in Rio de Janeiro State: Distribution and fluconazole susceptibility profile. Braz J Microbiol. 2015;46(2):477-84.

20. Gaspar GG, Meneguetti MG, Auxiliadora-Martins M, Basile-Filho A, Martinez R. Evaluation of the predictive indices for candidemia in an adult intensive care unit. Rev Soc Bras Med Trop. 2015;48(1):77-82.

21. Canela HMS, Cardoso B, Vitali LH, Coelho HC, Martinez R, Ferreira MES. Prevalence, virulence factors and antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from bloodstream infections in a tertiary care hospital in Brazil. *Mycoses*. 2017; 61:11-21.
22. Bustamante B, Martins MA, Bonfietti LX. Species distribution and antifungal susceptibility profile of *Candida* isolates from blood stream infections in Lima, Peru. *J Med Microbiol*. 2014 Jun;63(Pt 6):855-60.
23. Pfaller MA, Diekema DJ, Procop GW, Rinaldi MG. Multicenter Comparison of the VITEK 2 Antifungal Susceptibility Test with the CLSI Broth Microdilution Reference Method for Testing Amphotericin B, Flucytosine, and Voriconazole against *Candida* spp. *J Clin Microbiol*. 2007 Nov;45(11):3522-8.
24. Peterson JF, Pfaller MA, Diekema DJ, Rinaldi MG, Riebe KM, Ledeboer NA. Multicenter Comparison of the Vitek 2 Antifungal Susceptibility Test with the CLSI Broth Microdilution Reference Method for Testing Caspofungin, Micafungin, and Posaconazole against *Candida* spp. *J Clin Microbiol*. 2011 May;49(5):1765-71.
25. Pfaller MA, Diekema DJ, Procop GW, Rinaldi MG. Comparison of the Vitek 2 yeast susceptibility system with CLSI microdilution for antifungal susceptibility testing of fluconazole and voriconazole against *Candida* spp., using new clinical breakpoints and epidemiological cutoff values. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013 Sep;77(1):37-40.
26. Melhem MS, Bertolotti A, Lucca HR, Silva RB, Meneghin FA, Szeszs MW. Use of the VITEK 2 system to identify and test the antifungal susceptibility of clinically relevant yeast species. *Braz J Microbiol*. 2014 Mar 10;44(4):1257-66.
27. Figueiredo-Carvalho MH, Barbedo LS, Oliveira MM, Brito-Santos F, Almeida-Paes R, Zancopé-Oliveira RM. Comparison of Commercial Methods and the CLSI Broth Microdilution to Determine the Antifungal Susceptibility of *Candida parapsilosis* Complex

Bloodstream Isolates from Three Health Institutions in Rio de Janeiro, Brazil. *Mycopathologia*. 2014 Aug;178(1-2):27-35.

28. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, et al: Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2016; 62:e1–50

29. Garnacho-Montero J, Díaz-Martín A, Cantón-Bulnes L, Ramírez P, Sierra R, Arias-Verdú D, et al. Initial Antifungal Strategy Reduces Mortality in Critically Ill Patients With Candidemia: A Propensity Score–Adjusted Analysis of a Multicenter Study. *Crit Care Med*. 2018 Mar;46(3):384-393.

30. León C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Almirante B, Nolla-Salas J, Alvarez-Lerma F. et al. A bedside scoring system (“Candida score”) for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with *Candida* colonization. *Crit Care Med*. 2006 Mar;34(3):730-7.

31. Bonfietti LX, Szeszs MW, Chang MR, Martins MA, Pukinskas SR, Nunes MO, et al. Ten-Year Study of Species Distribution and Antifungal Susceptibilities of *Candida* Bloodstream Isolates at a Brazilian Tertiary Hospital. *Mycopathologia*. 2012 Dec;174(5-6):389-96.

Capítulo III - Conclusões

Diante dos resultados observados e nas condições em que foi conduzido o presente estudo, pode-se concluir o que se segue.

1. *C. glabrata* foi a espécie não-*albicans* mais prevalente, achado que contrasta com a de outros Serviços;
2. *C. glabrata* propriamente dita foi a única espécie identificada do complexo *C. glabrata*;
2. Identificaram-se cinco isolados de *C. albicans* e cinco de *C. tropicalis* resistentes ao fluconazol;
3. Todas as amostras de *C. parapsilosis* foram sensíveis-dose-dependentes à micafungina e uma foi resistente à caspofungina;
4. Todos os isolados de *C. glabrata* avaliadas para fluconazol foram sensíveis-dose-dependentes, e três deles foram resistentes à caspofungina e quatro à micafungina;
5. Apesar da baixa taxa de incidência global de candidemia, ela foi elevada em determinadas unidades hospitalares e sempre associada a elevada mortalidade.

Anexos

Anexo 1 – Ficha para coleta de dados do prontuário de pacientes

Projeto: “Caracterização de *Candida* spp. isoladas da corrente sanguínea de pacientes internados em hospital terciário de Bauru - São Paulo.”

Nome:

Prontuário:

Data de admissão hospitalar: ____/____/____

Idade (anos/meses):

1. Unidade de Internação

() Clínica Médica () Clínica Cirúrgica () Pediatra () Queimados

() Outra unidade: _____

Unidade de Terapia Intensiva (UTI)

() Adultos () Neonatal () Pediátrica () Coronária

2. Comorbidades: Não () Sim ()

() Doença pulmonar crônica () Doença cardiovascular () Doença neurológica () Doença gastrointestinal () Diabetes mellitus () Tumores sólidos () Falência renal crônica
() Outra _____

3. Cirurgia prévia (<30 dias)

() Gastrointestinal () Cardiovascular () Outra cirurgia: _____

4. Uso de cateter venoso central

() Não () Sim

5. Uso de outros dispositivos médicos invasivos?

() Não () Sim _____

6. Procedimentos invasivos prévios (≤ 72 h)

() Não () Sim _____

7. Nutrição parenteral

() Não () Sim

8. Terapia com esteroide

() Não () Sim (Dose/Duração) _____

9. Terapia imunossupressora

() Não () Sim (Tempo/Duração) _____

10. Neutropenia (<500 células/mm³)

() Não () Sim

11. Eventos agudos (durante a hospitalização)

() Eventos cardiovasculares () Pneumonia () Perfuração intestinal ()
Choque séptico () Falência renal aguda () Outros: _____

12. Uso prévio de antibióticos (30 dias antes do início da candidemia)

() Não () Sim: _____

13. Uso prévio de antifúngicos

() Não () Sim (Qual/Duração): _____

14. Bacteremia concomitante

() Não () Sim: _____

15. Terapia antifúngica

() Não () Sim: _____

16. Antifúngico administrado/apropriado

() Não () Sim (tempo de duração): _____

17. Evolução do paciente

() Cura () Óbito

Observações

Anexo 2

Tabela 1 - Comparação dos resultados dos testes de sensibilidade dos compostos antifúngicos FLC e VRC, avaliados dois a dois, realizados em amostras de fungos do gênero *Candida*, isolados da corrente sanguínea de pacientes com candidemia, admitidos em hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil) entre 2011 e 2018.

VRC			
FLC	R	S	SDD
R	4	7	0
S	1	39	0
SDD	8	18	0

$p < 0,0001$ Teste de McNemar 3x3 FLC – fluconazol; VRC – voriconazol

Tabela 2 - Comparação dos resultados dos testes de sensibilidade dos compostos antifúngicos FLC e CSF, avaliados dois a dois, realizados em amostras de fungos do gênero *Candida*, isolados da corrente sanguínea de pacientes com candidemia, admitidos em hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil) entre 2011 e 2018.

CSF			
FLC	R	S	SDD
R	0	7	0
S	1	33	0
SDD	3	12	0

$p = 0,0002$ Teste de McNemar 3x3 FLC – fluconazol; CSP – caspofungina

Tabela 3 - Comparação dos resultados dos testes de sensibilidade dos compostos antifúngicos FLC e MCF, avaliados dois a dois, realizados em amostras de fungos do gênero *Candida*, isolados da corrente sanguínea de pacientes com candidemia, admitidos em hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil) entre 2011 e 2018.

MCF			
FLC	R	S	SDD
R	0	6	1
S	0	23	9
SDD	4	11	0

$p = 0,04$ Teste de McNemar 3x3 FLC – fluconazol; MCF – micafungina

Tabela 4 - Comparação dos resultados dos testes de sensibilidade dos compostos antifúngicos FLC e AMB, avaliados dois a dois, realizados em amostras de fungos do gênero *Candida*, isolados da corrente sanguínea de pacientes com candidemia, admitidos em hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil) entre 2011 e 2018.

	AMB		
FLC	R	S	SDD
R	0	11	0
S	0	40	0
SDD	0	26	0

$p < 0,0001$ Teste de McNemar 3x3 FLC – fluconazol; AMB – anfotericina B

Tabela 5 - Comparação dos resultados dos testes de sensibilidade dos compostos antifúngicos FLC e 5-FC, avaliados dois a dois, realizados em amostras de fungos do gênero *Candida*, isolados da corrente sanguínea de pacientes com candidemia, admitidos em hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil) entre 2011 e 2018.

	5-FC		
FLC	R	S	SDD
R	0	10	1
S	0	40	0
SDD	0	26	0

$p < 0,0001$ Teste de McNemar 3x3 FLC – fluconazol; 5-FC – fluorocitosina

Tabela 6 - Comparação dos resultados dos testes de sensibilidade de compostos antifúngicos, avaliados dois a dois, realizados em amostras de fungos do gênero *Candida*, isolados da corrente sanguínea de pacientes com candidemia, admitidos em hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil) entre 2011 e 2018.

	CSF	
VCZ	R	S
R	0	8
S	4	44

$p = 0,38$ Teste de McNemar 3x3 VRC – voriconazol; CSF – caspofungina

Tabela 7 - Comparação dos resultados dos testes de sensibilidade dos compostos antifúngicos VRC e MCF, avaliados dois a dois, realizados em amostras de fungos do gênero *Candida*, isolados da corrente sanguínea de pacientes com candidemia, admitidos em hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil) entre 2011 e 2018.

	MCF		
VRC	R	S	SDD
R	1	5	2
S	3	35	8
SDD	0	0	0

$p=0,01$ Teste de McNemar 3x3 VRC – voriconazol; MCF – micafungina

Tabela 8 - Comparação dos resultados dos testes de sensibilidade dos compostos antifúngicos VRC e MCF, avaliados dois a dois, realizados em amostras de fungos do gênero *Candida*, isolados da corrente sanguínea de pacientes com candidemia, admitidos em hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil) entre 2011 e 2018.

	AMB	
VRC	R	S
R	0	13
S	0	64

$p<0,001$ Teste de McNemar 3x3 VRC – voriconazol; AMB – anfotericina B

Tabela 9 - Comparação dos resultados dos testes de sensibilidade dos compostos antifúngicos VRC e 5-FC, avaliados dois a dois, realizados em amostras de fungos do gênero *Candida*, isolados da corrente sanguínea de pacientes com candidemia, admitidos em hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil) entre 2011 e 2018.

	5-FC		
VRC	R	S	SDD
R	0	13	0
S	0	63	1
SDD	0	0	0

$p=0,001$ Teste de McNemar 3x3 VRC – voriconazol; 5-FC – fluorocitosina

Tabela 10 - Comparação dos resultados dos testes de sensibilidade dos compostos antifúngicos CS e MCF, avaliados dois a dois, realizados em amostras de fungos do gênero *Candida*, isolados da corrente sanguínea de pacientes com candidemia, admitidos em hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil) entre 2011 e 2018.

	MCF		
CSP	R	S	SDD
R	3	0	1
S	1	40	9
SDD	0	0	0

$p=0,01$ Teste de McNemar 3x3 CSP – caspofungina; MCF – micafungina

Tabela 11 - Comparação dos resultados dos testes de sensibilidade dos compostos antifúngicos CSP e AMB, avaliados dois a dois, realizados em amostras de fungos do gênero *Candida*, isolados da corrente sanguínea de pacientes com candidemia, admitidos em hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil) entre 2011 e 2018.

	AMB	
CSP	R	S
R	0	4
S	0	52

$p=0,13$ Teste de McNemar 3x3 CSP – caspofungina; AMB – anfotericina B

Tabela 12 - Comparação dos resultados dos testes de sensibilidade dos compostos antifúngicos CSF e 5-FC, avaliados dois a dois, realizados em amostras de fungos do gênero *Candida*, isolados da corrente sanguínea de pacientes com candidemia, admitidos em hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil) entre 2011 e 2018.

	5-FC		
CSF	R	S	SDD
R	0	4	0
S	0	51	1
SDD	0	0	0

$p=0,11$ Teste de McNemar 3x3 CSF – caspofungina; 5-FC – fluorocitosina

Tabela 13 - Comparação dos resultados dos testes de sensibilidade dos compostos antifúngicos MCF e AMB, avaliados dois a dois, realizados em amostras de fungos do gênero *Candida*, isolados da corrente sanguínea de pacientes com candidemia, admitidos em hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil) entre 2011 e 2018.

	AMB		
MCF	R	S	SDD
R	0	4	0
S	0	40	0
SDD	0	10	0

$p=0,002$ Teste de McNemar 3x3 MCF – micafungina; AMB – anfotericina B

Tabela 14 - Comparação dos resultados dos testes de sensibilidade dos compostos antifúngicos MCF e 5-FC, avaliados dois a dois, realizados em amostras de fungos do gênero *Candida*, isolados da corrente sanguínea de pacientes com candidemia, admitidos em hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil) entre 2011 e 2018.

	5-FC		
MCF	R	S	SDD
R	0	4	0
S	0	39	1
SDD	0	10	0

$p=0,006$ Teste de McNemar 3x3 MCF – micafungina; 5-FC – fluorocitosina

Tabela 15 - Comparação dos resultados dos testes de sensibilidade dos compostos antifúngicos AMB e 5-FC, avaliados dois a dois, realizados em amostras de fungos do gênero *Candida*, isolados da corrente sanguínea de pacientes com candidemia, admitidos em hospital terciário de Bauru (São Paulo, Brasil) entre 2011 e 2018.

	5-FC	
AMB	S	SDD
S	76	1
SDD	0	0

$p=0,99$ Teste de McNemar 3x3 5-FC – fluorocitosina; AMB – anfotericina B