

# Suscetibilidade a antifúngicos *in vitro* de *Candida spp.* em pacientes do Hospital Universitário Regional de Maringá-PR

Primeira submissão em 30/11/11  
Última submissão em 24/05/12  
Aceito para publicação em 10/09/12  
Publicado em 20/10/12

## *Antifungal susceptibility of Candida spp. in vitro among patients from Regional University Hospital of Maringá-PR*

Fernanda de Oliveira Demitto<sup>1</sup>; Renata Claro Ribeiro do Amaral<sup>2</sup>; Renata Perugini Biasi<sup>3</sup>; Eliana Guilhermetti<sup>4</sup>; Terezinha Inez Estivalet Svidzinski<sup>5</sup>; Lilian Cristiane Baeza<sup>6</sup>

unitermos	resumo
Suscetibilidade	<p><b>Introdução:</b> No ambiente hospitalar, são frequentes as infecções por leveduras do gênero <i>Candida spp.</i>, o que torna esse assunto um importante alvo de estudos. <b>Objetivo:</b> Avaliar o perfil de suscetibilidade aos antifúngicos de espécies de <i>Candida</i> de pacientes internados no Hospital Universitário Regional de Maringá-PR (HURM). <b>Material e métodos:</b> As amostras foram submetidas ao teste de microdiluição em caldo (MD), segundo o documento M27-A3 para determinação da concentração inibitória mínima (CIM), e ao teste de difusão em disco de acordo com o documento M44-A2, ambos do Clinical Laboratory Standarts Institute (CLSI). <b>Resultados e discussão:</b> Foram obtidos 91 isolados provenientes de amostras de urina, hemocultura, ponta de cateter, secreção orotraqueal, entre outros, sendo 38 <i>Candida albicans</i>, 23 <i>C. tropicalis</i>, 16 <i>C. gabrata</i>, 10 <i>C. parapsilosis</i> e quatro <i>C. krusei</i>. Dos antifúngicos testados, anfotericina B, voriconazol e anidulafungina foram os mais eficazes. <b>Conclusão:</b> A comparação entre as metodologias de microdiluição em caldo e disco difusão (DD) mostrou boa correlação para fluconazol para a maioria das espécies de <i>Candida spp.</i>, sendo possível destacar que a DD é útil para triagem dos principais antifúngicos usados na prática clínica. No entanto, casos de resistência detectados por DD devem ser confirmados por meio do método de MD, evitando, assim, resultados falsos resistentes, melhorando a eficácia e a segurança do tratamento.</p>
<i>Candida</i>	
Microdiluição	
Disco difusão	

## abstract

## key words

**Introduction:** Due to the ubiquity of nosocomial yeast infections of the genus *Candida spp.*, studies in this area have become increasingly relevant. **Objective:** To evaluate the antifungal *Candida spp.* susceptibility profile of hospitalized patients from the Regional University Hospital of Maringá-PR (HURM). **Material and Methods:** The samples were submitted to broth microdilution test (MD) according to protocol M27-A3 in order to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and disk diffusion test according to protocol M44-A2, both from Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). **Results and discussion:** We obtained 91 isolates from urine samples, blood culture, catheter tip, endotracheal secretions, among others, from which 38 were *Candida albicans*, 23 were *C. tropicalis*, 16 were *C. gabrata*, 10 were *C. parapsilosis*, and four were *C. krusei*. Among the tested antifungal medications, amphotericin B, voriconazole and anidulafungin proved to be the most effective. **Conclusion:** In the comparison between broth microdilution and disk diffusion (DD) methods, fluconazole showed good correlation for most *Candida spp.*, which corroborates the usefulness of DD in the screening of main antifungal agents used in clinical practice. Nonetheless, cases of resistance detected by DD need to be confirmed by MD method, which avoids false-resistant results and maximizes the treatment efficacy and reliability.

Susceptibility

*Candida*

Microdilution

Disk diffusion

1. Graduada em Farmácia; mestranda em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

2. Graduada em Farmácia; mestranda em Biociências Aplicadas à Farmácia da UEM.

3. Farmacêutica.

4. Mestra em Análises Clínicas pela UEM; farmacêutica bioquímica.

5. Doutora em Microbiologia e Imunologia pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP); professora associada da UEM.

6. Doutora em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia pela Universidade Estadual Paulista (UNESP); professora adjunta da UEM.

## Introdução

A incidência de infecções hospitalares causadas por fungos (IHF) tem aumentado de maneira significativa nas últimas décadas, tendo inúmeros fatores relacionados com seu desenvolvimento, como antibioticoterapia prévia, nutrição parenteral, ventilação mecânica, prematuridade, imunossupressão, uso de corticoides, neutropenia, quimioterapia, hospitalização prévia, uso de cateter venoso central e outros dispositivos invasivos<sup>(11)</sup>.

Leveduras do gênero *Candida* são os agentes etiológicos mais frequentemente isolados, sendo responsáveis por 80% das IHF. São o quarto microrganismo responsável por infecções da corrente sanguínea<sup>(4, 8, 31)</sup>.

*Candida albicans* é ainda considerada a espécie mais isolada, mas tem havido mudanças nesse perfil com a emergência de *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. lusitanae* e *C. guilliermondii*<sup>(17)</sup>. As razões para essa inversão no padrão de distribuição das espécies ainda não foram completamente elucidadas, podendo estar fortemente relacionadas com o potencial de virulência e a resistência desses microrganismos aos antifúngicos<sup>(7)</sup>.

As peculiaridades apresentadas por diferentes espécies de *Candida*, do ponto de vista terapêutico e epidemiológico, justificam a necessidade de identificar as leveduras ao nível de espécie, bem como avaliar a susceptibilidade desses isolados ante os principais antifúngicos. Esse procedimento é fundamental para permitir a escolha da melhor abordagem terapêutica a ser instituída no paciente infectado<sup>(19)</sup>.

Atualmente, a resistência aos antifúngicos entre as espécies de *Candida spp.* tem sido um problema crescente e já foi detectada em diversos estudos, inclusive possíveis mecanismos moleculares responsáveis por ela<sup>(9, 30)</sup>. Essa resistência pode ser clínica ou *in vitro*. A primeira pode ser consequência do baixo nível do fármaco no tecido e no sangue, devido à interação entre os fármacos ou à imunodepressão do paciente. A resistência *in vitro* pode ser do tipo secundária, cujas cepas resistentes foram selecionadas em razão do prévio contato com o antifúngico. É consenso que a resistência ao fármaco depende da interação entre o hospedeiro, o fármaco e o fungo<sup>(35)</sup>.

O desenvolvimento de métodos para avaliar a susceptibilidade aos antifúngicos tem sido objeto de numerosos estudos nas últimas décadas. Assim, o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tem desenvolvido e padronizado testes para determinação da susceptibilidade *in vitro* de leveduras, como os métodos de diluição em caldo (MD), considerado o padrão-ouro<sup>(6)</sup> e a difusão em disco (DD)<sup>(5)</sup>. Em caso de candidemia

causadas por leveduras do gênero *Candida*, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) recomenda como método de triagem a DD para avaliação da susceptibilidade *in vitro* frente ao fluconazol. O teste de DD é de fácil execução, com rapidez em seus resultados, não necessitando de equipamentos de elevados custos e especializados<sup>(24)</sup>. Portanto, este trabalho tem por objetivo avaliar o perfil de susceptibilidade aos antifúngicos pelas metodologias de MD e DD das espécies de *Candida spp.* isoladas do Hospital Universitário Regional de Maringá (HURM) durante o ano de 2010.

## Material e métodos

### Microrganismos

Foram selecionados para este estudo isolados clínicos de *Candida spp.* pertencentes à micoteca do Laboratório de Micologia Médica da Universidade Estadual de Maringá-PR, provenientes de pacientes internados no Hospital Universitário Regional da referida cidade, durante o ano de 2010.

Foram incluídas somente amostras comprovadamente de infecção urinária, segundo os critérios da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH), como culturas puras para leveduras, sem desenvolvimento de bactérias, e contagem de colônias obrigatoriamente superior a 10<sup>5</sup> UFC/ml de urina. Para pacientes em uso de sonda vesical, a coleta da urina foi realizada 24h após a troca do dispositivo<sup>(18)</sup>. Em relação às hemoculturas, estas só foram incluídas neste estudo quando apresentaram desenvolvimento de leveduras em duas amostras. Quanto aos outros sítios (ponta de cateter e aspirado traqueal [TOT]), levou-se em consideração o não desenvolvimento de nenhum outro microrganismo patogênico. Portanto, essas culturas foram obtidas dos seguintes materiais biológicos: sangue, urina, ponta de cateter e TOT.

### Identificação laboratorial

Antes da realização das provas de identificação, as leveduras foram cultivadas em CHROMagar™ *Candida* (Probac) para verificar a pureza das colônias. Elas foram identificadas segundo as provas clássicas de identificação, incluindo formação de tubo germinativo, fermentação, assimilação de carboidratos e morfologia em Ágar fubá, suplementado com *tween* 80<sup>(21)</sup>. Depois de identificados, os microrganismos foram estocados em Sabouraud Dextrose Caldo com glicerol a - 80°C. Para os testes de susceptibilidade, as leveduras foram reativadas em Sabouraud Dextrose Agar por 24h a 35°C.

## Microdiluição em caldo

O teste de MD foi realizado de acordo com o documento M27-A3 do CLSI<sup>(6)</sup>. Foram testados os seguintes antifúngicos: anfotericina B (Bristol-Myers Squibb), itraconazol (Janssen), fluconazol (Pfizer), voriconazol (Pfizer) e anidulafungina (Pfizer). O meio de cultura utilizado foi o RPMI-1640 (Gibco), tamponado com ácido morfolinopropanosulfônico (Sigma) pH 7,0 e suplementado com 2% de glicose, como proposto pelo European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)<sup>(14)</sup>.

A suspensão de leveduras foi ajustada em espectrofotômetro (530 nm) para obter a concentração final de  $0,5$  a  $2,5 \times 10^3$  células/ml; o teste foi realizado em microplacas de 96 poços; a incubação foi feita a 35°C por 48h, com agitação constante; a leitura foi realizada em leitora de microplacas (Expert plus-ASYS®) a 490 nm; a concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a menor concentração do antifúngico, capaz de promover 50% de inibição para os azólicos e a anidulafungina e 90% para anfotericina B. Os resultados foram expressos em: sensível (S), sensível dependente de dose (SDD) e resistente (R). Os critérios de interpretação foram baseados no documento M27-A3 do CLSI<sup>(6)</sup>: fluconazol CIM  $\leq 8$  µg/ml (S), CIM 16-32 µg/ml (SDD), CIM  $\geq 64$  µg/ml (R); itraconazol CIM  $\leq 0,125$  µg/ml (S), CIM 0,25-0,5 µg/ml (SDD), CIM  $\geq 1$  µg/ml (R); voriconazol CIM  $\leq 1$  µg/ml (S), CIM 2 µg/ml (SDD), CIM  $\geq 4$  µg/ml (R); anidulafungina CIM  $\leq 2$  µg/ml (S), CIM  $> 2$  µg/ml (não suscetível); e anfotericina B CIM  $\geq 1$  µg/ml (R).

## Teste de difusão em disco

O teste de DD foi realizado de acordo com o documento M44-A2 do CLSI<sup>(5)</sup>. Os discos utilizados foram anfotericina B (CECON), itraconazol (CECON), voriconazol (OXOID) e fluconazol (CECON). Empregou-se o meio de cultura Agar Müller Hinton (DIFCO) suplementado com 2% de glicose e 0,5 µg/ml de azul de metileno. A suspensão de leveduras foi ajustada para conter 1 a  $5 \times 10^6$  células/ml (correspondente à escala 0,5 de Mac Farland). As placas foram incubadas por 24-48h a 35°C. A leitura foi feita segundo as recomendações do fabricante, medindo o halo de inibição do crescimento. Os resultados foram expressos em S, SDD e R. Os critérios de interpretação para fluconazol e voriconazol foram baseados no documento M44-A2 do CLSI<sup>(5)</sup>: fluconazol  $\geq 19$  mm (S), 15-18 mm (SDD),  $\leq 14$  mm (R); voriconazol  $\geq 17$  mm (S), 14-16 mm (SDD),  $\leq 13$  mm (R). Para os demais antifúngicos, os critérios de interpretação foram baseados nas recomendações do fabricante: itraconazol  $\geq 20$  mm

(S), 12-19 mm (SDD),  $\leq 11$  mm (R); e anfotericina B  $\geq 10$  mm (S),  $\leq 10$  mm (R).

Foram utilizadas as cepas padrões de *C. parapsilosis* ATCC 22019 e *C. albicans* ATCC 90028 como controle para ambos os testes de suscetibilidade.

## Resultados e discussão

No período avaliado, foram obtidos 91 isolados, sendo 38 de *C. albicans* (41,8%), 23 de *C. tropicalis* (25,3%), 16 de *C. glabrata* (17,6%), 10 de *C. parapsilosis* (10,9%) e quatro de *C. krusei* (4,4%). A maioria, portanto, foram espécies de *C. não albicans* (58,2%) em relação a *C. albicans* (41,8%) (**Tabela 1**). Segundo Krcmery e Barnes<sup>(19)</sup>, aproximadamente 50% das infecções fúngicas em pacientes internados em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) são provocadas por *C. não albicans*, sendo as espécies mais comuns *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*.

Infecções fúngicas causadas por *C. não albicans* são de interesse especial por duas razões:

- virulência e patogenicidade;
- ocorrência da resistência às drogas antifúngicas atualmente disponíveis<sup>(10)</sup>.

A maioria dos isolados foram provenientes de 64 amostras de urina (70,3%), seguido por 13 de sangue (14,3%), nove de ponta de cateter (9,9 %) e cinco de TOT (5,5%).

Está comprovado que pelo menos 20% dos indivíduos hospitalizados podem desenvolver candidúria ao longo

**Tabela 1** Distribuição das espécies de *Candida* de acordo com o sítio anatômico isolado

Espécies	Sítio anatômico				Total
	Urina	Sangue	Ponta de cateter	TOT	
<i>C. albicans</i>	27	5	4	2	38 (41,8%)
<i>C. tropicalis</i>	15	4	1	3	23 (25,3%)
<i>C. glabrata</i>	16	-	-	-	16 (17,6%)
<i>C. parapsilosis</i>	4	3	3	-	10 (10,9%)
<i>C. Krusei</i>	2	1	1	-	4 (4,4%)
Total	64	13	9	5	91 (100%)

TOT: aspirado traqueal.

de sua internação, particularmente pacientes de UTI ou expostos a outros fatores de risco, como idade avançada, antibioticoterapia de amplo espectro, uso de corticosteroides e imunossupressores, presença de anormalidades do trato urinário, diabetes, sondagem vesical de demora e longo tempo de internação hospitalar<sup>(15, 16)</sup>. Estudos indicam que candidúria pode estar significativamente associada à candidemia, aumentando ainda mais o fator de risco para o desenvolvimento de complicadas infecções<sup>(3)</sup>.

Em razão da alta ocorrência e gravidade das infecções fúngicas, verifica-se que é de extrema importância obter o diagnóstico rápido e preciso para que se inicie um

tratamento eficaz e seguro. Devido a fatores limitantes dos métodos de diagnóstico convencionais, o tratamento com antifúngicos é frequentemente empírico em pacientes com risco elevado para infecção, causando problemas de toxicidade e aparecimento de resistência aos antifúngicos<sup>(13, 28)</sup>.

Os resultados dos testes de MD e DD estão sumarizados na **Tabela 2**.

Neste estudo, o teste de MD recomendado para avaliação da suscetibilidade *in vitro* de leveduras aos antifúngicos mostrou, em relação ao fluconazol, 100% de sensibilidade para os isolados de *C. albicans* e *C. parapsilosis*.

**Tabela 2** Correlação entre os testes de microdiluição em caldo e difusão em disco para as espécies de *Candida*

Espécies (n)	Antifúngicos	Microdiluição (%)			Disco difusão (%)			Correlação (%)
		S	SDD	R	S	SDD	R	
<i>C. albicans</i> (38)	Anfotericina B	100	0	0	97,4	0	2,6	97,4
	Itraconazol	97,4	2,6	0	89,5	10,5	0	86,8
	Fluconazol	100	0	0	100	0	0	100
	Voriconazol	100	0	0	100	0	0	100
	Anidulafungina	100	0	0	-	-	-	-
<i>C. tropicalis</i> (23)	Anfotericina B	100	0	0	100	0	0	100
	Itraconazol	100	0	0	47,8	52,2	0	43,5
	Fluconazol	95,7	0	4,3	95,7	0	4,3	100
	Voriconazol	95,7	0	4,3	95,7	0	4,3	100
	Anidulafungina	100	0	0	-	-	-	-
<i>C. glabrata</i> (16)	Anfotericina B	100	0	0	100	0	0	100
	Itraconazol	25	31,2	43,8	6,2	25	68,8	31,3
	Fluconazol	75	18,8	6,2	37,5	12,5	50	37,5
	Voriconazol	93,8	6,2	0	56,3	6,2	37,5	56,3
	Anidulafungina	100	0	0	-	-	-	-
<i>C. parapsilosis</i> (10)	Anfotericina B	100	0	0	100	0	0	100
	Itraconazol	100	0	0	70	30	0	70
	Fluconazol	100	0	0	100	0	0	100
	Voriconazol	100	0	0	100	0	0	100
	Anidulafungina	100	0	0	-	-	-	-
<i>C. krusei</i> (4)	Anfotericina B	100	0	0	100	0	0	100
	Itraconazol	50	50	0	0	75	25	0
	Fluconazol	0	100	0	0	0	100	0
	Voriconazol	100	0	0	50	50	0	50
	Anidulafungina	100	0	0	-	-	-	-

S: sensível; SDD: sensível dependente de dose; R: resistente.

Para *C. tropicalis*, foi detectado 4,3% de resistência; para *C. krusei*, foi encontrado 100% de isolados SDD; e para *C. glabrata*, 18,8% de SDD e 6,2% de R. Em relação a *C. glabrata* e *C. krusei*, esses resultados eram esperados, visto que essas espécies têm baixa sensibilidade intrínseca ao fluconazol<sup>(36)</sup>.

O aumento da CIM exigida pelas diferentes espécies de leveduras pode estar relacionado à exposição prévia ao fluconazol<sup>(32)</sup>, que é a droga de escolha, seja para profilaxia ou para tratamento, na maioria dos casos, por sua farmacocinética favorável e baixa toxicidade, quando comparado a outros antifúngicos<sup>(20)</sup>; o uso excessivo pode selecionar o aparecimento de resistência em isolados previamente sensíveis<sup>(1)</sup>.

Foi observado que voriconazol foi mais efetivo em alguns isolados de leveduras resistentes ao fluconazol; por exemplo, 100% dos isolados de *C. krusei* foram sensíveis, bem como 93,8 % de *C. glabrata* e 95,7% de *C. tropicalis*. Ambos os azólicos, fluconazol e voriconazol mostraram eficácia equivalente *in vitro*. Esse fato pode estar relacionado com a resistência cruzada devido à similaridade da estrutura química desses azólicos<sup>(27)</sup>, pois os isolados resistentes ao fluconazol também apresentaram resistência ao voriconazol.

Dos antifúngicos testados, a anfotericina B e a anidulafungina mostraram os melhores resultados nos testes *in vitro*. Apesar disso, na prática clínica, a anfotericina B deve ser administrada com cautela e ser reservada apenas para casos resistentes a outros medicamentos devido ao risco de toxicidade apresentado<sup>(34)</sup>.

A anidulafungina pertencente à classe das equinocandinas é uma nova classe de antifúngicos que atua inibindo a síntese da (1,3)- $\beta$ -D-glucana, um polissacarídeo presente em grande parte da estrutura da parede celular do fungo. Esse antifúngico é indicado no tratamento de pacientes com candidemia e outras formas de infecção invasiva por *Candida spp.*<sup>(12)</sup>. Fica claro que a anidulafungina vem sendo uma droga promissora para o tratamento de infecções fúngicas, visto que no estudo realizado todos os isolados mostraram-se sensíveis a esse antifúngico. Esta é uma opção terapêutica em infecções causadas por espécies que têm baixa sensibilidade ou que são resistentes ao fluconazol, como *C. glabrata* e *C. krusei*. Diferentes trabalhos afirmam que as equinocandinas consistem de uma boa opção de tratamento, pois têm excelente atividade antifúngica ante as cinco espécies responsáveis por 97% das infecções fúngicas, como *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. krusei*<sup>(2)</sup>.

O método de DD possui menor custo e fácil aplicação para rotina laboratorial quando comparado com o método de MD<sup>(24)</sup>, porém está padronizado e validado somente para fluconazol e voriconazol. Neste estudo, foram incluídos outros antifúngicos usados na prática clínica, entretanto, alguns resultados foram discrepantes em relação ao método de referência.

Caso fossem levados em conta somente os resultados observados em DD, o itraconazol teria sido o antifúngico menos eficiente, uma vez que 10,5% de *C. albicans*, 52,2% de *C. tropicalis* e 30% de *C. parapsilosis* foram SDD, e 25% de *C. krusei* e 68,8% de *C. glabrata* foram resistentes. Quando comparamos os resultados de DD com MD, a concordância foi de 86,8% para *C. albicans*, 43,5% para *C. tropicalis*, 31,3% para *C. glabrata*, 70% para *C. parapsilosis* e nenhuma correlação para *C. krusei*. Essa discrepância pode ser atribuída à dificuldade de difusão do princípio ativo no agar<sup>(25)</sup>. Além disso, alguns isolados de *Candida spp.* podem apresentar fenômeno de crescimento residual, o que implica uma superestimação da CIM, principalmente para antifúngicos nitrogenados, como os derivados azólicos<sup>(22)</sup>.

Dos antifúngicos testados, a anfotericina B foi o que mostrou melhor correlação para *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*; a concordância entre as metodologias de MD e DD foi de 100% e para *C. albicans*, de 97,4%.

Em relação ao fluconazol e ao voriconazol, medicamentos de escolha para o tratamento das infecções invasivas, foi observado 100% de correlação, quando comparados os resultados da DD e MD para *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*. Entretanto, *C. glabrata* e *C. krusei* foram as espécies que apresentaram menor correlação para fluconazol, 37,5% e 0%, respectivamente. Os halos obtidos apresentaram menores diâmetros, dado compatível com suscetibilidade reduzida dessas espécies ao fluconazol. Para voriconazol, a correlação ficou em torno de 50% para ambas as espécies.

Um estudo realizado por Pfaller *et al.*<sup>(29)</sup> relacionando suscetibilidade com antifúngicos por diferentes metodologias em *C. glabrata* observou baixa correlação quando comparado a MD com os métodos de DD e E-test, 64,7% e 52,3%, respectivamente. Nesse estudo, a maioria das discrepâncias observadas foi quase inteiramente devido aos menores erros que consistem em deslocamentos entre a categoria de S ou R para SDD. Portanto, os casos "resistentes" detectados por DD devem ser confirmados pelo método de MD para evitar falsos resistentes, principalmente observados em *C. albicans*<sup>(32)</sup>.

Para Pfaller *et al.*<sup>(32)</sup>, resultados falso-sensíveis não costumam ocorrer, assim o método de DD poderia ser usado na rotina laboratorial para a triagem da atividade antifúngica, sobretudo para fluconazol. Entretanto, nos casos em que foi detectada resistência por DD, há necessidade de um método confirmatório por MD.

Com base nesses resultados e de acordo com dados fornecidos por outros estudos<sup>(23, 26, 29)</sup>, é possível destacar que o método de DD é útil para a determinação de resistência ao fluconazol, no entanto, ele não é confiável para a diferenciação entre isolados suscetíveis e SDD. Além disso, sabe-se que o principal objetivo é detectar a resistência aos antifúngicos. Portanto, o método de DD pode ser extremamente útil para tal determinação<sup>(33)</sup>, porém mais pesquisas devem ser realizadas para garantir a padronização do método para outros agentes antifúngicos, além do fluconazol e do voriconazol.

## Conclusão

Atualmente, os testes de suscetibilidade *in vitro* fornecem orientações importantes para o tratamento de

candidíase. O teste de MD, apesar de ser considerado o método de referência, nem sempre está disponível na rotina laboratorial, em oposição a metodologias mais simples, como o teste de DD. Apesar dos dados apresentados sugerirem que a metodologia de DD pode ser implantada para a triagem dos principais antifúngicos utilizados na prática clínica para tratamento da maioria dos casos de candidíase invasiva, como fluconazol, voriconazol e anftericina B, é importante o laboratório dispor do método de MD para confirmação de isolados resistentes. Outrossim, é fundamental identificar as leveduras ao nível de espécie e realizar estudos de vigilância epidemiológica continuamente para surpreender mudanças no perfil de suscetibilidade em função das práticas terapêuticas.

## Agradecimentos

Agradecemos a ANVISA, a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), a Fundação Araucária e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) o suporte financeiro.

## Referências

- AKINS, R. An update on antifungal targets and mechanisms of resistance in *Candida albicans*. *Med Mycol*, v. 43, n. 4, p. 285-318, 2005.
- ALMIRANTE, B. *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*, v. 43, n. 4, p. 1829-35, 2005.
- ALVAREZ-LERMA, F. *et al.* Candiduria in critically ill patients admitted to intensive care medical units. *Intensive Care Med*, v. 29, n. 7, p. 1069-76, 2003.
- ASMUNSDOTTIR, L. R. *et al.* Molecular epidemiology of candidemia: evidence of clusters of smoldering nosocomial infections. *Clin Infect Dis*, v. 47, n. 1, p. 17-24, 2008.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts: approved guideline M44-A2. *CLSI*, Wayne, PA, USA, 2010.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard-third edition M27-A3. *CLSI*, Wayne, PA, USA, 2008.
- COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida spp.* *Rev Soc Bras Med Trop*, v. 36, n. 1, p. 599-607, 2003.
- COLOMBO A. L. *et al.* Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide 165 sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. *J Clin Microbiol*, v. 44, n. 8, p. 2816-23, 2006.
- DA MATTA, D. A. *et al.* Antifungal susceptibility of 1000 *Candida* bloodstream isolates to 5 antifungal drugs: results of a multicenter study conducted in São Paulo, Brazil, 1995-2003. *Diagn Microbiol Infect Dis*, v. 57, n. 1, p. 399-404, 2007.
- DIEKEMA, D. J. *et al.* Epidemiology of candidemia: 3-year results from the emerging infections and the epidemiology of Iowa organisms study. *J Clin Microbiol*, v. 40, n. 4, p. 1298-1302, 2002.
- DIGNANI, M. C.; SOLOMKIN, J. S.; ANAISSIE, E. *Candida*. In: ANAISSIE, E.; Mc GINNIS, M. R.; PFALLER, M. A. (Eds.). *Medical Mycology*. 1. ed. Filadélfia: Churchill Livingstone, 2003. p.195-239.
- DODDS-ASHLEY, E. S. *et al.* Pharmacology of systemic antifungal agents. *Clin Infect Dis*, v. 43 (Suppl. 1), p. S28-39, 2006.
- ELLEPOLA, A. N. B.; MORRISON, C. J.; Laboratory diagnosis of invasive candidiasis. *J Microbiol*, v. 43, n. special, p. 65-84, 2005.
- EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY. Method for determination of minimal inhibitory concentration (MIC) by broth dilution of

- fermentative yeasts. Discussion document E. Dis. 7.1. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Taufkirchen, Germany. 2002.
15. FISHER, J. F. *et al.* *Candida* urinary tract infection: pathogenesis. *Pathogenesis*, v. 52, (suppl. 6), p. S437-51, 2011.
  16. FRAISSE, T. *et al.* Recommendations of the infectious disease committee of the French Association of Urology. Diagnosis, treatment and monitoring candiduria. *Prog Urol*, v. 21, n. 13, p. 314-21, 2011.
  17. GALVAN, B.; MARISCAL, F. Epidemiologia de la candidemia en UCI. *Rev Iberoam Micol*, v. 23, n. 12, p. 12-5, 2006.
  18. HORAN, T. C.; ANDRUS, M.; DUDECK, M. A. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control*, v. 36, n. 5, p. 309-32, 2008.
  19. KRUMHOLTZ, V.; BARNES, A. J. Non-*albicans Candida spp.* causing fungemia: pathogenicity and antifungal resistance. *J Hosp Infect*, v. 50, n. 4, p. 243-60, 2002.
  20. KRIENKAUYKIAT, J.; ITO, J. I.; DADWAL, S. S. Epidemiology and treatment approaches in management of invasive fungal infections. *Clin Epidemiol*, v. 3, n. 1, p. 175-91, 2011.
  21. KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W. *The yeasts: a taxonomic study*. New York: Elsevier Science, 1998.
  22. MALDONADO, I. *et al.* Evaluación de tres métodos para la detección de la sensibilidad *in vitro* de especies de *Candida* a los antifúngicos. *Rev Argent Microbiol*, v. 43, n. 2, p. 120-6, 2011.
  23. MATAR, M. J. *et al.* Correlation between E-Test, disk diffusion, and microdilution methods for antifungal susceptibility testing of fluconazole and voriconazole. *Antimicrob Agents Chemother*, v. 47, n. 5, 1647-51, 2003.
  24. MILICI, M. E. *et al.* Comparison between disk diffusion and microdilution methods for determining susceptibility of clinical fungal isolates to caspofungin. *J Clin Microbiol*, v. 45, n. 11, p. 3529-33, 2007.
  25. MOCK, M. *et al.* Tinea capitis dermatophytes: susceptibility to antifungal drugs tested *in vitro* and *in vivo*. *Dermatology*, v. 197, n. 4, p. 361-7, 1998.
  26. NEGRI, M. *et al.* Correlation between Etest®, disk diffusion, and microdilution methods for antifungal susceptibility testing of *Candida* species from infection and colonization. *J Clin Lab Anal*, v. 23, n. 5, p. 324-30, 2009.
  27. PANACKAL, A. A. *et al.* Clinical significance of azole antifungal drug cross-resistance in *Candida glabrata*. *J Clin Microbiol*, v. 44, n. 5, p. 1740-3, 2006.
  28. PERLROTH, J.; CHOI, B.; SPERLLBERG, B. Nosocomial fungal infection: epidemiology, diagnosis and treatment. *Med Mycol*, v. 45, n. 4, p. 321-46, 2007.
  29. PFALLER, M. A. *et al.* Evaluation of the Etest and disk diffusion methods for determining susceptibilities of 235 bloodstream isolates of *Candida glabrata* to fluconazole and voriconazole. *J Clin Microbiol*, v. 41, n. 5, p. 1875-80, 2003.
  30. PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J.; SHEEHAN, D. J. Interpretive breakpoints for fluconazole and *Candida* revisited: a blueprint for the future of antifungal susceptibility testing. *Clin Microbiol Rev*, v. 19, n. 2, p. 435-47, 2006.
  31. PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol*, v. 20, n. 1, p. 133-63, 2007.
  32. PFALLER, M. A. *et al.* Comparison of results of fluconazole disk diffusion testing for *Candida*. *J Clin Microbiol*, v. 42, n. 8, p. 3607-12, 2004.
  33. REX, J. H.; PFALLER, M. A. Has antifungal susceptibility testing come of age? *Clin Infect Dis*, v. 35, n. 8, p. 982-9, 2002.
  34. SAFDAR, A. *et al.* Drug-induced nephrotoxicity caused by amphotericin B lipid complex and liposomal amphotericin B: a review and meta-analysis. *Medicine*, v. 89, n. 4, p. 236-44, 2010.
  35. SILVA, V. V.; DÍAZ, M. C.; FEBRÉ, N. Vigilancia de la resistencia de levaduras a antifúngicos. *Rev Chil Infect*, v. 19, n. 1, p. 56-65, 2002.
  36. SWINNE, D. *et al.* *In vitro* activities of voriconazole (UK-109, 496), fluconazole, itraconazole and amphotericin B against 132 non-*albicans* bloodstream yeast isolates (CANARI study). *Mycoses*, v. 47, n. 5-6, p. 177-83, 2004.

**Endereço para correspondência**

Lilian Cristiane Baeza  
 Universidade Estadual de Maringá  
 Avenida Colombo, 5.790, zona 7  
 CEP: 87020-900 – Maringá-PR  
 Tel.: (44) 3011-4809  
 Fax: (44) 3011-4959  
 e-mail: lilianbaeza@gmail.com