

PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE AO ANTIFÚNGICOS CONVENCIONAIS DE ISOLADOS CLÍNICOS DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO REGIONAL DE MARINGÁ

Vitória Monteiro de Araújo Vilela (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Patrícia de Souza Bonfim de Mendonça (Coorientador), Érika Seki Kioshima Cotica (Orientador), e-mail: eskcotica@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Microbiologia - Micologia

Palavras-chave: *Candida*, epidemiologia, suscetibilidade.

Resumo:

Infecções hospitalares causadas pelo gênero *Candida* são responsáveis por alta mortalidade, principalmente em pacientes imunocomprometidos. Embora a espécie de *Candida* mais prevalente ainda seja a *C. albicans*, as demais espécies têm vem ganhando destaque. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar as espécies de fungos isolados de pacientes atendidos no Hospital Universitário Regional da Universidade Estadual de Maringá - PR e o perfil de susceptibilidade aos antifúngicos convencionais. As amostras isoladas foram identificadas pelos métodos automatizados e/ou clássico, e a identificação foi confirmada pela metodologia de MALDI-TOF MS. Os dados dos pacientes atendidos indicam uma maior incidência de infecções fúngicas em pacientes de idade avançada e do sexo feminino, corroborando os dados da literatura. Entre as espécies, *C. albicans* foi a mais frequente, porém a alta incidência de *C. glabrata* isolada durante o período analisado é alarmante. Esta espécie apresenta um perfil intrinsecamente menos susceptível aos antifúngicos da classe dos azólicos, em especial o fluconazol, que é amplamente utilizado no ambiente hospitalar como profilático ou para controlar infecções causadas por leveduras. Visto que a resistência a antifúngicos é um problema de saúde pública que enfrentamos em escala global na atualidade, o perfil de suscetibilidade dos isolados de *C. glabrata* foi determinado contra antifúngicos convencionais. A maioria dos isolados se mostraram suscetíveis ou suscetível-dose dependente a grande parte dos fármacos, porém no caso desta espécie devemos manter a vigilância e identificação de isolados resistentes.

Introdução

O aumento da incidência e da gravidade das micoses invasivas em todo mundo, principalmente no ambiente hospitalar. Desta maneira, as infecções

hospitalares (IH) são um problema de saúde pública, reconhecidas como uma das principais causas de mortalidade e morbidade (Alves et al., 2018). Entre os fungos, as leveduras são os microrganismos mais isolados de infecções em pacientes hospitalares, estando associadas a altas taxas de mortalidade. Mesmo a *Candida albicans* sendo considerada a espécie mais isolada, o perfil de incidência vem mudando com a emergência de *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. lusitaniae* e *C. guilliermondii* (Doi et al., 2016) assim como o aumento de resistência aos agentes antifúngicos como anfotericina B e os derivados azólicos (Demitto et al., 2012). Segundo um estudo realizado em hospitais brasileiros, *C. glabrata* é a espécie que mais tem aumentado, caracterizando um cenário alarmante, uma vez que esta espécie não responde ao tratamento com fluconazol, antifúngico muito usado tanto na profilaxia quanto para o tratamento empírico, devido ao menor custo e baixa toxicidade (Doi et al., 2016). Desta maneira, o objetivo deste trabalho, foi avaliar as espécies de fungos isolados de pacientes atendidos no Hospital Universitário Regional da Universidade Estadual de Maringá-PR entre o período de maio de 2018 a janeiro de 2020, e ainda analisar o perfil de suscetibilidade dos isolados de *C. glabrata* frente a antifúngicos convencionais.

Materiais e métodos

Análise dos dados: Foram coletadas informações de amostras clínicas vindas da rotina do HUM (Hospital Universitário de Maringá) no período de maio de 2018 a janeiro de 2020. Todas as informações foram retiradas dos prontuários médicos, de modo a realizar a análise do perfil de pacientes com infecções fúngicas atendidos na região de Maringá – PR. A análise foi realizada pelo Excel®.

Teste *in vitro* de suscetibilidade aos compostos selecionados: Para os testes de suscetibilidade, foram utilizados isolados clínicos vindos apenas da rotina do HUM, que tiveram sua identificação confirmada pela metodologia de MADI-TOF MS e, posteriormente, foram armazenados a -80 °C na Micoteca do Setor de Micologia Médica. A reativação foi realizada em 3 mL de meio Sabouraud Dextrose Broth (SDB) em tubo Falcon, 37 °C por 48h. Uma alçada foi transferida para um meio cromogênico (CHROMagar Candida) pela técnica de estrias descontínuas para verificar e a espécie e a viabilidade do isolado. Após 48 horas, observando o crescimento, uma colônia foi isolada em meio Sabouraud Dextrose Agar (SDA) pela técnica de esgotamento para que possibilitasse a utilização da cepa na avaliação do perfil de suscetibilidade posteriormente. Antes de cada ensaio, foi preparado um inóculo de 1×10^7 células/mL, por contagem em câmara de Neubauer. A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada para cada antifúngico pelo método de microdiluição em caldo, conforme as normas de padronização pelo *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2010), publicadas no documento M-27A4. Em cada placa foram incluídos controles

negativo e positivo. Os inóculos foram preparados em tampão salina estéril (0,85%) e devidamente contabilizados na câmara de Neubauer, depois foi diluído em meio RPMI e aliqotado 100µL em 11 poços da microplaca de 96 poços, juntamente com 100µL de antifúngico, também diluído em meio RPMI em diferentes concentrações. Os controles foram RPMI sem inóculo (negativo) e RPMI acrescido do inóculo preparado (positivo). O tempo de incubação foi de 48 horas a 37 °C, sendo realizada uma leitura visual em 24 horas e outra no tempo de 48 horas.

Resultados e Discussão

Um total de 271 amostras foram analisadas no setor de Micologia Medica do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC/UEM), 185 foram provenientes do HUM, sendo isoladas de 122 pacientes diferentes. Os resultados apontam que houve uma maior incidência no sexo feminino (109; 58,6%) e em pacientes com mais de 60 anos (104; 55,9%). A maior parte dos isolados vieram de amostras de urina (179; 66,0%), seguidas das de sangue (55; 22,3%). Comparado ao perfil de amostras analisadas pelo LEPAC, os dados do HUM foram concordantes, mostrando que este perfil epidemiológico tem se mantido na região. *C. albicans* foi a espécie mais frequente (104; 38,4%), seguido por *C. glabrata* (83; 30,6%) com uma incidência alarmante e *C. tropicalis* (39; 14,4%) (**Figura 1**). Além disso, outras espécies de *Candida* também foram identificadas, assim como outros gêneros de fungos. Dando importância a presença de *Kodamaea oohmeri* (3; 1,1%) e *Cryptococcus neoformans* (20; 7,4%).

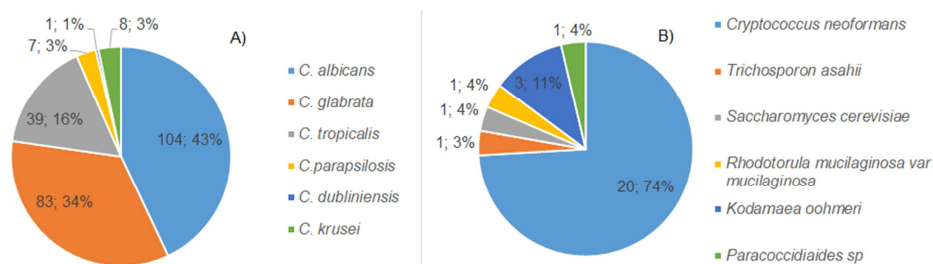


Figura 1 – Leveduras isoladas no Hospital Universitário Regional da Universidade Estadual de Maringá. (A) porcentagem de *Candida* spp. identificadas (B) Leveduras pertencentes aos demais gêneros identificados no período.

Dos 38 isolados que tiveram seu perfil de sensibilidade analisados, 37 eram *Candida glabrata* e 1 era da espécie *C. dubliniensis* (**Tabela 1**). O critério para determinar o perfil do isolado foi seguido pelas normas do CLSI frente a quatro antifúngicos. Quinze isolados de *C. glabrata* apresentaram valores elevados para concentração mínima inibitória do voriconazol. Estes valores não foram condizentes com o perfil de susceptibilidade encontrado para o fluconazol e, portanto, deverá ser reavaliado para confirmação do perfil de susceptibilidade encontrado. O mesmo se aplica ao três isolados, cujo valor de CIM ficaram fora do convencional.

Tabela 1 – Perfil de suscetibilidade de isolados clínicos do HUM de *Candida glabrata* e *Candida dubliniensis* a antifúngicos convencionais.

Fármaco	Espécie	S	SDD	R	NS
Anfotericina B	<i>C. glabrata</i>	37 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	<i>C. dubliniensis</i>	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Caspofungina	<i>C. glabrata</i>	34 (91,9%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (8,1%)*
	<i>C. dubliniensis</i>	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Fluconazol	<i>C. glabrata</i>	0 (0%)	37 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
	<i>C. dubliniensis</i>	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Voriconazol	<i>C. glabrata</i>	22 (59,5%)	0 (0%)	15 (40,5%)*	0 (0%)
	<i>C. dubliniensis</i>	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

S: Suscetível; SDD: Suscetível-dose dependente; R: Resistentes; NS: Não suscetível.

*Isolados que necessitam de confirmação dos valores de CIM encontrados.

Conclusões

Os dados analisados da região de Maringá seguiram o padrão mundial, sendo *C. albicans* a espécie mais frequente. Por outro lado, *C. glabrata* aumentou consideravelmente o número de casos, ultrapassando espécies de *Candida* não-*C. albicans* que a anos se mostravam mais frequentes no ambiente hospitalar, como é o caso da *C. tropicalis*. Embora seja alarmante a alta incidência de *C. glabrata*, nenhum dos isolados apresentou perfil de resistência comprovada contra os antifúngicos convencionais. Desta forma, é de extrema importância continuar o acompanhamento dos isolados clínicos bem como os perfis de suscetibilidade aos fármacos.

Agradecimentos

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo incentivo à pesquisa e a expansão da ciência.

Referências

ALVES, Priscila Guerino Vilela et al. **Epidemiologia de infecção por *Candida spp.*** relacionadas a corrente sanguínea, ocorridas no Hospital de Clínicas de Uberlândia. 2018.

DEMITTO, Fernanda de Oliveira et al. **Suscetibilidade a antifúngicos in vitro de *Candida spp.*** Em pacientes do Hospital Universitário Regional de Maringá-PR. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 48, n. 5, p. 315-322, 2012.

DOI, André Mario et al. **Epidemiology** and microbiologic characterization of nosocomial candidemia from a Brazilian national surveillance program. *PloS one*, v. 11, n. 1, p. e0146909, 2016.

MEDEIROS, Mariana Araújo Paulo de et al. **Epidemiology** and prognostic factors of nosocomial candidemia in Northeast Brazil: A six-year retrospective study. *PloS one*, v. 14, n. 8, p. e0221033, 2019.