

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO  
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA  
DIVISÃO DE MOLÉSTIAS INFECCIOSAS E TROPICAIS

**ANA CAROLINA DE OLIVEIRA MOTA**

**ANÁLISE DO PERFIL MICROBIOLÓGICO E DE  
SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE ESPÉCIES  
DE *Candida spp* ISOLADAS EM CULTURAS DE  
CORRENTE SANGUÍNEA EM PACIENTES  
HOSPITALIZADOS EM LEITO DE TERAPIA INTENSIVA  
EM UM HOSPITAL TERCIÁRIO**

RIBEIRÃO PRETO – SP

NOVEMBRO/2022

ANA CAROLINA DE OLIVEIRA MOTA

**ANÁLISE DO PERFIL MICROBIOLÓGICO E DE  
SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE ESPÉCIES  
DE *Candida spp* ISOLADAS EM CULTURAS DE  
CORRENTE SANGUÍNEA EM PACIENTES  
HOSPITALIZADOS EM LEITO DE TERAPIA INTENSIVA  
EM UM HOSPITAL TERCIÁRIO**

PROJETO APRESENTADO À FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO  
PRETO PARA SUBMISSÃO À VAGA DE MESTRADO

**ORIENTADOR:** PROF. DR. VALDES ROBERTO BOLLELA

**COORIENTADOR:** PROF. DR. GILBERTO GASPAR

**ORIENTANDO:** ANA CAROLINA DE OLIVEIRA MOTA

RIBEIRÃO PRETO – SP

NOVEMBRO/2022

## 1. RESUMO

A infecção de corrente sanguínea por fungos do gênero *Candida* spp, conhecida como candidemia, é um evento grave e requer início de tratamento rápido e adequado, visto sua alta taxa de morbimortalidade. São descritas mais de 100 espécies de *Candidas* que podem causar doenças em seres humanos. Comumente dividimos as *Candidas* em *albicans*, gênero mais comum, e *não albicans*, que engloba, principalmente, os gêneros *C. glabrata*, *C. Krusei*, *C. Tropicalis*, *C. guilhermondi*, *C. parapsilosis* e *C. auris*.

Identificar o gênero correto da *Candida* é importante pois, apesar de serem indiferenciadas quanto ao quadro clínico, apresentam diferentes perfis de sensibilidade aos antifúngicos existentes, acarretando tratamento antifúngico específico.

O diagnóstico microbiológico da candidemia pode ser um desafio, sendo que em grande parte dos casos o início da terapia é empírico. Durante a pandemia de Covid-19, notamos o aumento dos casos de candidemia no cenário da Terapia Intensiva, uma vez que esses eram pacientes críticos e com diversos fatores de risco (ex. uso de antimicrobiano de amplo espectro e diversos dispositivos invasivos). Até o momento foi pouco estudado o impacto da pandemia de SARS-CoV-2 no perfil das *Candidas* isoladas. Conhecer o perfil microbiológico e de sensibilidade aos antimicrobianos desse gênero de fungo é fundamental para guiar a terapêutica adequada.

## 2. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A *Candida* é um fungo leveduriforme que comumente coloniza o trato gastrointestinal, urinário e genital feminino. Nos últimos anos notamos o aumento da incidência de casos de infecções invasivas por esse gênero de fungo, em especial nos pacientes de Unidade de Terapia Intensiva e imunodeprimidos <sup>1</sup>.

A candidemia, como é chamada quando encontramos a *Candida* em culturas do sangue, está entre o 4º ou 5º microrganismo mais encontrado nas hemoculturas e nunca deve ser considerada como contaminante, sendo sempre indicado início de terapia adequada. Estima-se que de 8-10% das infecções de corrente sanguínea são causadas por esses patógenos, sendo que de 35-50% dos pacientes irão evoluir para óbito. Trata-se de

uma infecção com alta mortalidade, responsável pelo aumento do tempo de internação e gastos com serviços de saúde <sup>2,3,4</sup>.

Até o momento são conhecidas mais de 100 espécies diferentes de *Candida ssp*, sendo a *Candida albicans* a espécie mais comumente isolada nas culturas. Porém, nos últimos anos houve o aumento de infecções das espécies de *Candida não albicans* sendo observado com mais frequência a ocorrência de infecções pelos gêneros *C. glabrata*, *C. Krusei*, *C. Tropicalis*, *C. guilhermondi*, *C. parapsilosis* e *C. auris*. Apesar de causarem quadro clínico semelhante, sendo impossível sua diferenciação sem o isolamento microbiológico, os perfis de sensibilidade aos antifúngicos são consideravelmente diferentes <sup>2,5,6</sup>.

A patogênese da candidemia engloba três fatores fundamentais: (1) o aumento da carga fúngica que habitualmente coloniza nosso organismo, extremamente relacionado ao uso de agentes antimicrobianos de amplo espectro; (2) quebra de barreiras cutâneas e mucosas normais como resultado do uso de dispositivos intravasculares internos crônicos, cirurgia abdominais ou trauma recente e mucosite grave associado ao tratamento de neoplasias; e (3) imunossupressão, mais especificamente associado à neutropenia. Em alguns casos a infecções hematogênicas pode ser desenvolvida a partir da contaminação de procedimentos médicos invasivos ou infusão de soluções contaminadas <sup>6,7</sup>.

A grande maioria dos casos de candidemia acontecem em pacientes de unidade de terapia intensiva, em especial nos extremos de idade, sendo os principais fatores de risco para desenvolvimento: presença de cateteres venosos centrais, nutrição parenteral total, uso de antibióticos de amplo espectro, neutropenia prolongada, quimioterapia, altas pontuações no escore APACHE, Insuficiência renal aguda, especialmente se necessitar de hemodiálise, cirurgia anterior, especialmente cirurgia abdominal, perfurações do trato gastrointestinal e vazamentos anastomóticos <sup>7,8,9</sup>.

Durante a pandemia de COVID-19 observamos um aumento expressivo dos episódios de candidemia. Como se tratavam de pacientes altamente críticos, com internação prolongada em leito de CTI, uso de antibióticos de amplo espectro, necessidade de procedimentos invasivos, como inserção de cateteres centrais e de abordagem cirúrgicas devido à complicações, não foi uma surpresa que isso houvesse acontecido. O impacto da pandemia de Covid-19 na microbiologia e o perfil de sensibilidade das *Candidas* isoladas ainda é um mistério em muitos serviços <sup>10,11</sup>.

O espectro de apresentação clínica pode variar desde um quadro séptico, similar ao bacteriano, até a febre persistente, a despeito do uso de antibioticoterapia adequada.

Deve-se sempre ficar atento sobre a possibilidade de disseminação hematogênica para múltiplos órgãos como olhos, pele, rins, cavidade abdominal, olhos, válvulas cardíacas e sistema nervoso central<sup>6,10</sup>.

O diagnóstico pode ser um desafio. O método mais amplamente disponível é a hemocultura, porém, como os episódios de fungemia podem ser autolimitados, a sensibilidade da hemocultura pode variar entre 30-50% dos casos. Em alguns locais há a disponibilidade de biomarcadores que auxiliam no diagnóstico como a dosagem da 1-3- $\beta$ -D glucana, componente da parede celular do fungo, e a reação em cadeia de polimerase (PCR). Infelizmente o custo é um limitante do uso dos exames laboratoriais mais complexos. Em pacientes internados em UTI podemos lançar mão de escores de gravidade para inferir o diagnóstico. Um exemplo é o *Candida* score, derivado de um estudo observacional e multicêntrico, no qual foi atribuído uma pontuação a cada um dos quatro fatores de risco que serão apresentados na tabela a seguir. Os pacientes com uma pontuação superior a 2,5 obtiveram aproximadamente 8 vezes mais probabilidade de ter candidemia provada do que os pacientes com uma pontuação de 2,5 ou menos. Esse escore possui uma sensibilidade de 81% e uma especificidade de 74% em predizer o diagnóstico de candidemia e início de tratamento empírico. Para utilizar o escore é necessário entender a incidência de candidemia do serviço e o perfil microbiológico da instituição<sup>8,11,12,13</sup>.

Fatores de risco	Pontuação aplicada
Colonização multifocal	1 ponto
Regime de nutrição parenteral	1 ponto
Cirurgia prévia	1 ponto
Presença de sepse	2 pontos

**Tabela 1:** Fatores de risco utilizados para o *Candida* score. Uma pontuação >2,5 poderá se beneficiar de início de terapia antifúngica imediata.

Já foi descrito que o tempo entre o diagnóstico e a instituição de terapia adequada é de extrema relevância para a recuperação do doente. Um atraso maior que 12 horas, do isolamento do fungo na hemocultura, para início de terapia antifúngica adequada está associado ao aumento de três vezes da mortalidade<sup>2</sup>.

O tratamento da candidemia é baseado em três classes de drogas: os Inibidores não competitivos da síntese de 1,3-beta-D-glucano, componente integral da parede celular fúngica, chamados equinocandinas (Ex: caspofungina e micafungina); Drogas que se ligam ao ergosterol e impedem a síntese de parede celular, cujo exemplo são as formulações de anfotericina; Medicamentos que impedem a conversão de lanosterol em ergosterol, um componente vital da membrana celular fúngica, chamados de azólicos (exemplos: fluconazol e voriconazol)<sup>2,14</sup>.

Na maioria dos casos o tratamento de escolha é uma equinocandina, mas como já foi descrito anteriormente, sabe-se que determinadas espécies de *Candida* são intrinsecamente resistentes à ação de alguns antifúngicos. A *C. albicans* é naturalmente sensível a todas as drogas antifúngicas. Porém, pode haver resistência adquirida a azólicos em pacientes expostos à essa classe por tempo prolongado. A *C. glabrata* apresenta alta taxa de resistência aos azólicos e à anfotericina. A *C. guilhermondi* é usualmente sensível à anfotericina, mas apresenta sensibilidade reduzida a equinocandinas e azólicos. A *C. Krusei* apresenta sensibilidade reduzida a anfotericina e são intrinsecamente resistente a fluconazol. A *C. parapsilosis* tem alta sensibilidade aos azólicos, mas concentrações inibitórias mínimas (MIC) altas para equinocandinas. A *C. auris* ganhou destaque por ser considerada uma espécie "super resistente" sendo a melhor opção terapêutica para esse gênero as equinocandinas <sup>6,15</sup>.

Sendo assim, visto a gravidade, aumento dos casos de candidemia e a dificuldade diagnóstica se faz necessário o conhecimento microbiológico e o perfil de sensibilidade dos espécimes de *Candidas* isolados nas hemoculturas.

Desta forma, a natureza central deste trabalho consiste em analisar o perfil das infecções de *Candida* para que possamos guiar a terapêutica adequada. Além disso, entender qual foi o impacto da pandemia de Covid-19 na mudança do padrão microbiológico das *Candidas* isoladas.

### **3. OBEJTIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Identificar as principais espécies de *Candida*, isoladas em amostras sanguíneas de pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva, e seus respectivos perfis de

sensibilidade aos antifúngicos dois anos e dois anos após o início da pandemia de Covid-19.

### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Estudar o impacto da pandemia de Covid-19 sobre o perfil das espécimes de *Candida* isoladas.
- Avaliar se houve mudança no padrão de sensibilidade antifúngica após a pandemia de Covid-19.
- Analisar o desfecho clínicos dos pacientes com candidemia: cura clínica, cura microbiológica e letalidade.
- Avaliar adequação do tratamento empírico com o perfil de susceptibilidade fúngica observado.
- Os dados sobre o perfil dos agentes mais isolados nos casos de candidemia servirão de base para a elaboração de um novo protocolo institucional para guiar o diagnóstico e tratamento desta infecção. A construção do protocolo será realizada em conjunto com a Comissão de Uso e Controle de Antimicrobianos (CUCA).

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO**

Trata-se de um estudo observacional retrospectivo que analisará os resultados de hemoculturas com isolamento de fungos do gênero *Candida* ssp em pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva geral do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto.

### **4.2 PERÍODO DO ESTUDO**

Serão analisados os dados coletados durante o período de 24 meses que antecederam a pandemia de Covid-19 (2018 e 2019) e os 24 meses após o início da pandemia (2021-2022)

### **4.3 POPULAÇÃO DO ESTUDO E TAMANHO AMOSTRAL**

O tamanho amostral será dado por conveniência, de maneira a obter o maior número de pacientes dentro do período estabelecido que estejam aptos a serem inseridos dentro do estudo.

#### **4.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO**

- Faixa etária > 18 anos.
- Pacientes internados por mais de 48 horas na UTI.
- Internação em UTI geral do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto USP.
- Serão avaliados pacientes cuja internação seja ocasionada por motivos clínicos ou cirúrgicos.
- Deverá haver isolamento de fungos da espécie *Candida ssp* em hemocultura.

#### **4.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO**

- < 18 anos de idade
- Pacientes cujo diagnóstico de candidemia tenha sido realizado através de escore de gravidade (terapia empírica ou preemptiva) e que não tenha sido isolado a espécie *Candida ssp* em cultura de sangue.

#### **4.6 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS LABORATORIAIS**

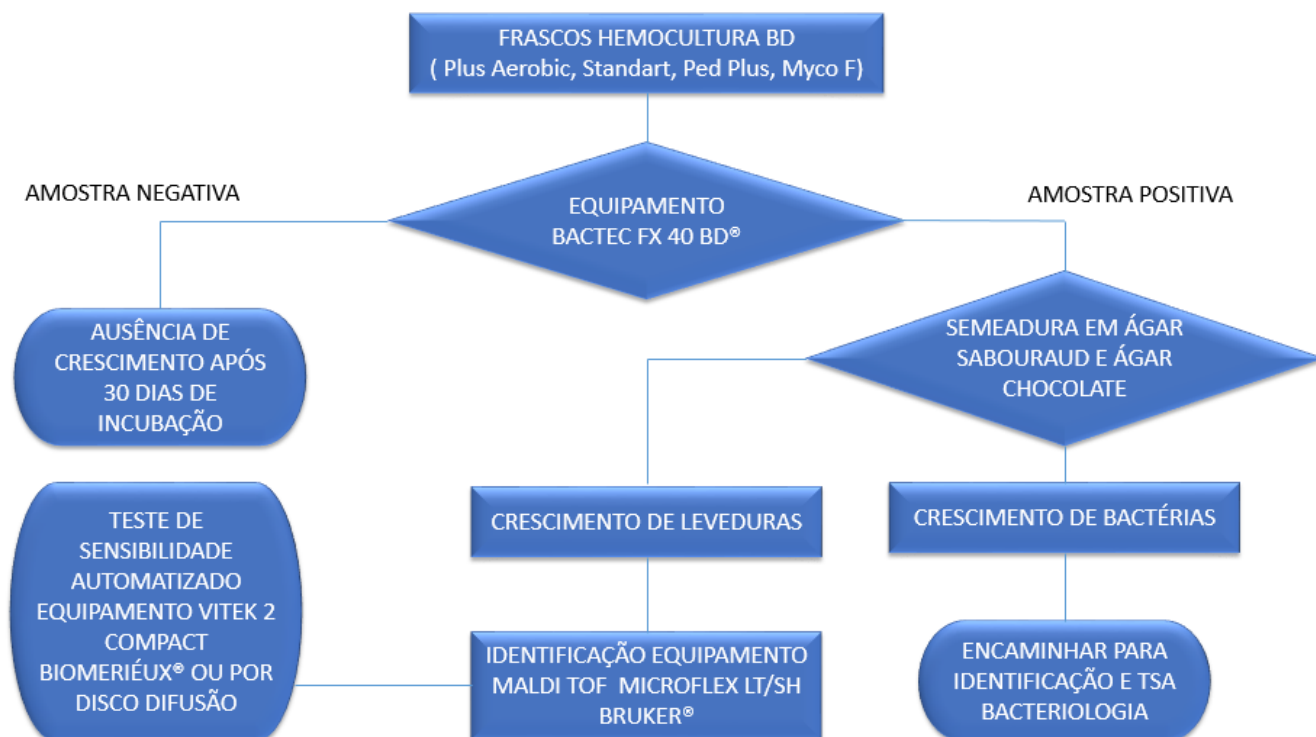
As culturas dos fungos do gênero *Candida ssp* analisadas serão aquelas que foram processadas pelo laboratório de microbiologia dos Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto.

As amostras foram coletadas em frascos de hemocultura padronizados pela instituição. Logo após, foram armazenadas no equipamento Bactec FX 40™, um sistema automatizado desenvolvido para detectar crescimento de microrganismos. As amostras ficam armazenadas durante o período de até 30 dias. Uma vez identificado a presença de microrganismos foi realizada semeadura em Ágar Sabouraud e Ágar Chocolate.

Quando houve crescimento de leveduras as amostras foram encaminhados para identificação automatizada no equipamento Maldi Tof Microflex LT/SH Bruker®.

Os testes disponibilizados para detecção do padrão de sensibilidade dos fungos identificados foram realizados através do equipamento Vitek 2 Compact Biomerieux® ou por meio de disco de difusão.





**Fluxograma 1:** Processamento das amostras laboratoriais de culturas de fungos.

#### 4.6 COLETA DOS DADOS

Será utilizado o sistema de prontuário médico informatizado (ATHOS) para coleta de dados:

- Dados demográfico (idade, sexo, clínica de origem, comorbidades, procedimento cirúrgico, uso de nutrição parenteral, uso de antimicrobiano prévio e atual, tempo de jejum, dispositivos invasivos e desfecho clínico).
- Dados clínicos, como principais sintomas infecciosos presentes no momento do diagnóstico.
- Dados de tempo entre o diagnóstico de candidemia e o tempo entre o início de terapia antifúngica
- Desfecho clínico, como a taxa de mortalidade da candidemia.
- Dados laboratoriais, como resultados de culturas de fungos e o perfil de sensibilidade das *Candidas ssp* isoladas.

#### 4.8 ANÁLISE DOS DADOS

Serão realizadas análises descritivas dos principais agentes de *Candida* responsáveis por infecções de corrente sanguínea e os seus respectivos perfis de sensibilidade.

Além disso, será realizada uma análise comparativa entre os casos de candidemia pré e pós pandemia de Covid-19 avaliando se houve mudança dos agentes envolvidos na candidemia e se ocorreu aumento de fungos resistentes às equinocandinas, azólicos e anfotericinas.

#### 5. PLANEJAMENTO ORÇAMENTÁRIO

Estão previstos para esse projeto gastos com material de escritório (folhas de papel sulfite, caneta, impressões e xerox), sendo o custo aproximado de 300 reais.

#### 6. CRONOGRAMA

	2º semestre de 2022	1º semestre de 2023	2º semestre 2023	1º semestre 2024
Revisão bibliográfica	X			
Submissão do projeto do CEP	X			
Coleta de dados		X	X	
Análise dos dados coletados			X	X
Elaboração de dissertação e protocolo			X	X

Divulgação dos resultados na forma de protocolo institucional elaborado em conjunto com a CUCA e um artigo a ser submetido para publicação				<b>x</b>
--	--	--	--	----------

## **BIBLIOGRAFIA**

1- COLOMBO, Arnaldo Lopes; GUIMARÃES, Thaís. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 36, p. 599-607, 2003.

2- VERONESI, Ricardo; FOCACCIA, Roberto. Tratado de infectologia. Volume2. 6ª ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2021.

3- WEINSTEIN, Robert A.; FRIDKIN, Scott K. The changing face of fungal infections in health care settings. Clinical Infectious Diseases, v. 41, n. 10, p. 1455-1460, 2005.

4- PFALLER, Michael A.; DIEKEMA, DJ1797637. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clinical microbiology reviews, v. 20, n. 1, p. 133-163, 2007.

5- KOLLEF, Marin et al. Septic shock attributed to *Candida* infection: importance of empiric therapy and source control. Clinical infectious diseases, v. 54, n. 12, p. 1739-1746, 2012.

6- COLOMBO, A. L. et al. Tratamento das principais infecções causadas por *Candida* spp.: relato de reunião conjunta de três sociedades médicas. Braz J Infect Dis, v. 16, p. 1-42, 2012.

7- CHOW, Jennifer K. et al. Risk factors for albicans and non-albicans candidemia in the intensive care unit. Critical care medicine, v. 36, n. 7, p. 1993-1998, 2008.

8- KULLBERG, Bart Jan; ARENDRUP, Maiken C. Invasive candidiasis. New England Journal of Medicine, v. 373, n. 15, p. 1445-1456, 2015.

9- GASPAR, Gilberto Gambero et al. Evaluation of the predictive indices for candidemia in an adult intensive care unit. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 48, p. 77-82, 2015.

10-ARASTEHFAR, Amir et al. Candidemia among Coronavirus Disease 2019 patients in Turkey admitted to intensive care units: a retrospective multicenter study. In: Open forum infectious diseases. US: Oxford University Press, 2022. p. ofac078.

11- SEAGLE, Emma E. et al. The landscape of candidemia during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic. Clinical Infectious Diseases, v. 74, n. 5, p. 802-811, 2022.

- 12- LEÓN, Cristóbal et al. Usefulness of the “Candida score” for discriminating between Candida colonization and invasive candidiasis in non-neutropenic critically ill patients: a prospective multicenter study. *Critical care medicine*, v. 37, n. 5, p. 1624-1633, 2009.
- 13- OSTROSKY-ZEICHNER, L. et al. Multicenter retrospective development and validation of a clinical prediction rule for nosocomial invasive candidiasis in the intensive care setting. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, v. 26, n. 4, p. 271-276, 2007.
- 14- CLANCY, Cornelius J.; NGUYEN, M. Hong. Finding the “missing 50%” of invasive candidiasis: how nonculture diagnostics will improve understanding of disease spectrum and transform patient care. *Clinical infectious diseases*, v. 56, n. 9, p. 1284-1292, 2013.
- 15- GAFTER-GVILI, Anat et al. Treatment of invasive candidal infections: systematic review and meta-analysis. In: *Mayo Clinic Proceedings*. Elsevier, 2008. p. 1011-1021.
- 16- Centers for Disease Control and Prevention. Clinical Alert to U.S. Healthcare Facilities - Global Emergence of Invasive Infections Caused by the Multidrug-Resistant Yeast *Candida auris*. <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/candidiasis/candida-auris-alert.html> (Acesso em setembro de 2022).