



INCIDÊNCIA DE *Candida* spp. EM HEMOCULTURAS DE PACIENTES ATENDIDOS EM HOSPITAL ONCOLÓGICO NO SUL DO BRASIL.

SORENDINO, Gabriele
LAZZAROTTO, Eduarda Sampaio
GONÇALVES, Bruna
KRELLING, Andrea
VASCO, Jannaina Ferreira de Melo (Orientadora)
RODRIGUES, Luiza Souza (Orientadora)

Resumo

As infecções fúngicas sistêmicas são uma preocupação vinculada aos pacientes oncológicos. O câncer favorece a ocorrência de infecções devido aos efeitos da quimioterapia, necessidade de procedimentos cirúrgicos, utilização de dispositivos médicos invasivos, internações repetitivas, entre outros. Neste contexto, *Candida albicans* é o principal microrganismo isolado em fungemias, porém espécies não-albicans vem emergindo como patógenos relevantes. O objetivo deste trabalho foi avaliar a incidência de microrganismos do gênero *Candida* spp. em hemoculturas de pacientes de hospital oncológico no sul do Brasil. Para tanto, realizou-se um estudo experimental prospectivo, com microrganismos recuperados de hemoculturas positivas durante um ano (2015-2016). Do total de amostras positivas, 37 (14%) dos isolados eram leveduras. Destas, nove (24%) foram identificadas como *C. albicans* e 28 (76%) como não-albicans. O estudo demonstrou a importância do levantamento epidemiológico local para adequação da terapia empírica hospitalar contribuindo com a recuperação dos pacientes e nos custos hospitalares.

Palavras-chave: *Candida* spp; infecção; hemocultura; candidemia.

Abstract

Systemic yeast infections are a concern associated to cancer patients. Cancer favors the occurrence of infections due to the effects of chemotherapy, the need for surgical procedures, the use of invasive medical devices, repetitive hospitalizations, among others. In this context, *Candida albicans* is the main organism isolated in fungemias, however, non-albicans are emerging as relevant pathogens. The aim of this study was to evaluate the incidence of microorganisms of the genus *Candida* in blood cultures of patients of a cancer hospital in the South of Brazil. To this end, we carried out an experimental prospective study with microorganisms recovered from positive blood cultures during the period of one year (2015-2016). Of the total positive, 37 (14%) of the isolates were yeast. Among these, nine (24%) were identified as *C. albicans* and 28 (76%) non-albicans. The study demonstrated the importance of epidemiological survey for adequacy of therapy and contributing to hospital costs.

Keywords: *Candida* spp; infection; blood culture; candidemia.

INTRODUÇÃO

O câncer é atualmente um problema de saúde pública, especialmente entre os países em desenvolvimento, onde a expectativa é de que mais de 20 milhões de casos novos são esperados até 2025, sendo a estimativa para os anos de 2016 e 2017 de cerca de 600 mil novos casos da doença (INCA, 2016).

As infecções fúngicas sistêmicas são importantes causas de morbidade e mortalidade prematura em pacientes com câncer, especialmente como resultado da quimioterapia intensiva (DEVIRIM; DEMIRAĞ, YAMAN et al., 2015; RAZA; ZAFAR; MAHBOOB et al., 2016). A quimioterapia é um tratamento que envolve a administração de substâncias citotóxicas, principalmente por via endovenosa, causando como efeito adverso a imunossupressão do paciente, favorecendo, assim, o risco de infecções fúngicas, especialmente hematológicas (SAWADA; NICOLUSSI; OKINO et al, 2015; KEMMELMEIER; FERREIRA; STEFANO-FILHO et al., 2017; SAPOLNIK, 2003).

Além da quimioterapia, outros fatores podem contribuir para ocorrência de infecções, tais como: o uso de dispositivos médicos invasivos, necessidade de nutrição parenteral prolongada, cirurgias e internações hospitalares longas e/ou repetitivas, ou qualquer outra circunstância que comprometa a integridade das barreiras mecânicas do organismo ou que possa expor o paciente a contaminação (SAPOLNIK, 2003).

Existem várias espécies de fungos capazes de causar infecção de corrente sanguínea (fungemia), no entanto, *Candida* spp. é o gênero mais comum, sendo responsável por cerca de 80% dos casos (BLUMBERG; JARVIS; SOUCIE et al., 2001; CORTES; REYES; GÓMEZ et al., 2014). Estas leveduras vivem como comensais, colonizando a microbiota normal de indivíduos saudáveis, porém na ocorrência de um desequilíbrio na sua relação com o hospedeiro pode causar prejuízos a saúde do mesmo (GIOLO; SVIDZINSKI, 2010; NAGLIK; CHALLACOMBE; HUBE, 2003).

As principais espécies de *Candida* spp. causadoras de infecções de corrente sanguínea, situação também conhecida como candidemia, são

Candida albicans, *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis*. Ainda que *C. albicans* seja o principal responsável por estas infecções, observa-se que espécies não-albicans vem emergindo como importantes patógenos nosocomiais (FRIDKIN; JARVIS, 1996; GIOLO; SVIDZINSKI, 2010).

No que diz respeito à *Candida albicans*, sua capacidade de formação de biofilme lhe confere proteção contra o meio ambiente estranho e resistência ao estresse físico e químico, aumentando assim sua virulência (GABRIEL; RYCHŁOWSKI, 2017; GIOLO; SVIDZINSKI, 2010). Fatores como produção de proteases e fosfolipases, capazes de promover destruição da membrana celular do hospedeiro também são importantes, pois influenciam para um processo infeccioso eficiente (AGUIAR, 2007; GIOLO; SVIDZINSKI, 2010). Além disso, sua capacidade de formar micélio verdadeiro é de grande importância para sua disseminação (GIOLO; SVIDZINSKI, 2010; KARKOWSKA-KULETA; RAPALA-KOZIK; KOZIK, 2009).

As infecções por espécies não-albicans vem se tornando cada vez mais relevantes devido ao maior potencial de resistência a antifúngicos empregados na prática clínica, requerendo muitas vezes uma nova abordagem antifúngica. Além disso, algumas espécies apresentam maior virulência e podem ser, inclusive, capazes de produzir biofilme (COLOMBO; GUIMARÃES, 2003; FRIDKIN; JARVIS, 1996; GIOLO; SVIDZINSKI, 2010).

O conhecimento sobre a incidência de infecções por espécies de *Candida* spp. é importante pois pode impactar na taxa de morbimortalidade dos pacientes hospitalizados, auxiliar nas medidas necessárias para o seu controle, diagnóstico e tratamento (COLOMBO; GUIMARÃES, 2003).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a incidência de microrganismos do gênero *Candida* spp. em hemoculturas de pacientes atendidos em hospital oncológico no sul do Brasil.

MATERIAL E MÉTODO

Após aprovação pelo Comitê de Ética do Hospital Erasto Gaertner sob o protocolo 2434/2015, parecer 1.181.747, foi realizado um estudo experimental prospectivo pelo período de um ano a partir de Setembro de

2015. Todas as análises foram realizadas no laboratório de Microbiologia Clínica do Centro Universitário Autônomo do Brasil – UniBrasil, com os microrganismos cedidos pelo hospital oncológico da cidade de Curitiba-Paraná (PR), envolvido no estudo.

Os microrganismos encaminhados para o projeto foram previamente recuperados pelo laboratório de microbiologia do hospital, a partir de amostras de hemocultura de pacientes atendidos durante o período de realização do estudo.

A recuperação desses microrganismos pelo laboratório foi realizada após incubação das amostras de sangue (coletadas segundo prescrição médica) a 35°C em frasco de hemocultura do equipamento BD BACTEC™ 9120 *Blood Culture System* (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA), de acordo com as recomendações do fabricante.

No laboratório do hospital, todos os casos positivados foram repicados em lâmina para a realização da bacterioscopia por coloração de GRAM e subcultivados em meio de cultura ágar chocolate, sendo incubados à 35°C ± 2°C, em tensão de CO₂, por até 48 horas em estufa bacteriológica. Após o crescimento do microrganismo, uma alíquota foi transferida para uma placa de ágar triptona de soja (TSA) e encaminhado ao UniBrasil em caixa de isopor com tampa em temperatura ambiente. Estes foram armazenados em microtubos contendo 1,0 mL de skim-milk, autoclavados e congelados a - 20°C.

Ao término da coleta das amostras, os microrganismos foram semeados em ágar sabouraud dextrose (ASD) e ágar cromogênico, para verificar a pureza do crescimento microbiano, seu aspecto macromorfológico e para a discriminação de espécie, seguindo interpretação conforme orientações do fabricante do ágar cromogênico. A discriminação de *C. albicans*, *C. krusei* e *C. tropicalis* foi realizada pela coloração em ágar cromogênico, que crescem com coloração esverdeada, roxa/rosa e azul, respectivamente. Além disso, foi realizado o exame direto em lâmina, para a confirmação de levedura e o teste do tubo germinativo.

Para a prova do tubo germinativo, inoculou-se uma colônia isolada em tubo de ensaio autoclavado contendo 0,5 mL de soro humano e incubado a

37°C por 2 horas para posterior verificação da presença da estrutura correspondente ao tubo germinativo, o qual foi observado ao microscópio óptico em aumento final de 400 vezes.

Todos os dados obtidos foram transferidos para uma planilha eletrônica do EXCEL[®] (Windows 7), na qual foi realizado o cálculo da incidência de *Candida* spp. nas hemoculturas positivas de pacientes oncológicos, bem como do número e percentual de *C. albicans* e não-*albicans*.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Durante o período de setembro de 2015 a setembro de 2016 foram liberados 3102 resultados de hemoculturas provenientes dos pacientes atendidos no hospital oncológico envolvido no estudo, sendo que, dentre estes, 271 (9%) foram positivos. Do total de hemoculturas positivas, em 146 (54%) foram isolados cocos Gram-positivos, 87 (32%) bacilos Gram-negativos e 37 (14%) leveduras, segundo a classificação morfo-tintorial da coloração de GRAM (Figura 1).

Obteve-se o isolamento de 37 leveduras, das quais foram isoladas 28 *Candida* não-*albicans* de 17 pacientes diferentes e 9 *Candida albicans* de 9 pacientes diferentes.

Os resultados obtidos pelas características macromorfológicas das colônias em ágar cromogênico *Candida* (LABORCLIN) e pela prova do tubo germinativo para as leveduras recuperadas no estudo, estão descritos nas figuras 2 e 3. Houve 100% de concordância entre os resultados das duas técnicas utilizadas.

Em 2015, Menezes et al. realizaram um estudo no Hospital de Clínicas de Uberlândia em culturas de fluidos corporais com suspeita de candidíase, sendo que 63 amostras foram positivas para *Candida* spp. Dentre os isolados, 18 (28,5%) foram identificados como *C. albicans* e 45 (72,5%) como espécies não-*albicans* (MENEZES, R.P et al., 2015), assemelhando-se aos resultados obtidos em nosso estudo, no qual foram encontradas 9 (24%) *C. albicans* e 28 (76%) como *Candida* não-*albicans*.

Tanto este como outros estudos anteriormente publicados apresentaram dados próximos aos apresentados em nossa pesquisa, como demonstra o estudo de Colombo et al., em 2007, no qual os autores descreveram o predomínio das espécies não-albicans em seis hospitais brasileiros, demonstrando a emergência destas espécies em hospitais, onde sua adaptação é fácil, devido ao fato de sua resistência intrínseca a antifúngicos utilizados na prática hospitalar (COLOMBO et al., 2006).

No entanto, é válido citar que no trabalho em questão devemos considerar a obtenção de amostras repetidas de pacientes com candidemia, provindos de sítios de coleta e/ou períodos diferentes, como um dos fatores que pode ter causado a alta incidência de espécies não-albicans. Obteve-se o isolamento de 37 leveduras, na qual foram isoladas 28 *Candida* não-albicans de 17 pacientes diferentes e 9 *Candida albicans* de 9 pacientes diferentes.

Algumas instituições apresentaram, diferentemente do atual estudo, maior incidência de *C. albicans*, como os estudos de Cortes et al., em 2014 e Viana et al em 2012, demonstrando a importância da investigação da epidemiologia local (CORTES, REYES, GÓMEZ et al., 2014; SAWADA; NICOLUSSI, OKINO et al., 2004).

É importante salientar que o ágar cromogênico utilizado no estudo é aplicável na identificação presuntiva de *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Candida tropicalis*, porém para a identificação das demais espécies do gênero a utilização de métodos mais eficazes é necessária, pois há baixa discriminação de cor. Além disso, embora *Candida albicans* seja a principal espécie recuperada de amostras clínicas com prova de tubo germinativo positivo, *Candida dubliniensis* também é capaz de produzir esta estrutura sendo recomendada a utilização de metodologias baseadas em proteômica ou genômica para diferenciação (ODDS; BERNAERTS, 2013; VIANA; CARVALHO, 2012).

CONCLUSÃO

A incidência de leveduras no total de hemoculturas positivas foi compatível com dados levantados anteriormente no Brasil e no Mundo. No

presente estudo houve maior incidência de espécies não-albicans como causadoras de infecção na corrente sanguínea, o que pode estar relacionado com a melhor adaptação dessas espécies ao ambiente hospitalar por possuírem resistência intrínseca a alguns antifúngicos utilizados na prática médica e às condições clínicas dos pacientes hospitalizados em hospital oncológico.

As provas fenotípicas para identificação presuntiva de *Candida albicans* demonstraram-se reprodutíveis, tendo 100% de correlação entre os resultados obtidos pelo ágar cromogênico e pelo tubo germinativo.

Por fim, ressaltamos que o conhecimento sobre a incidência de infecções por espécies de *Candida* spp. é de suma importância, pois seu impacto na taxa de morbimortalidade dos pacientes oncológicos é altamente relevante, assim como no auxílio da rápida adequação de tratamentos farmacológicos, tornando-os eficazes e aumentando a chance de recuperação dos pacientes.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, Michele Maria Gonçalves Barão de. **Desenvolvimento de novos comprimidos bucais de nistatina para o tratamento de candidíase oral.** Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro como requisito para obtenção de Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Rio de Janeiro, 2007.

BLUMBERG, Henry M; JARVIS, William R; SOUCIE, Michael J et al. Risk Factors for Candidal Bloodstream Infections in Surgical Intensive Care Unit Patients: The NEMIS Prospective Multicenter Study. **Clinical Infectious Diseases**, v. 33, n. 2, p.177-186, 15 July 2001.

COLOMBO, Arnaldo Lopes; NUCCI, Marcio; PARK Benjamein J et al. Epidemiology of Candidemia in Brazil: a Nationwide Sentinel Surveillance of Candidemia in Eleven Medical Centers. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 8, p. 2816-2823, Aug 2006.

COLOMBO, Arnaldo Lopes; GUIMARAES, Thaís. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**, v. 36, n. 5, p. 599-607, Oct. 2003.

CORTES, Jorge Alberto; REYES, Patricia; GÓMEZ, Carlos Hernando et al . Clinical and epidemiological characteristics and risk factors for mortality in patients with candidemia in hospitals from Bogotá, Colombia. **Braz J Infect Dis**, v. 18, n. 6, p. 631-637, Dec. 2014.

DEVIRIM, İlker; DEMIRAĞ, Bengü; YAMAN, YÖNTEM et al. A 7-year study of the distribution of nosocomial candidemia in children with cancer. **The Turkish Journal of Pediatric**, v. 57, n.3, p.225-229, 2015.

FRIDKIN, Scott K; JARVIS, William R. Epidemiology of nosocomial fungal infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 9, n. 4, p. 499-511, 1996.

GABRIEL, Iwona; RYCHŁOWSKI, Michał. Consequences of lysine auxotrophy for *Candida albicans* adherence and biofilm formation. **Acta Biochimica Polonica**, v.64, n.2, p. 323-329, 2017.

GIOLO, Muriel Padovani; SVIDZINSKI, Terezinha Inez Estivalet. Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 46, n.3, p.225–234, 2010.

Instituto Nacional de Cancer José de Alencar Gomes da Silva/ Ministério da Saúde. **Estimativa 2016: A incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2016.**

KARKOWSKA-KULETA, Justina; RAPALA-KOZIK, Maria; KOZIK, Andrzej. Fungi pathogenic to humans: molecular bases of virulence of *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* and *Aspergillus fumigatus*. **Acta Bichomica Polonica**. v. 56, n. 2, p. 211–224, 2009.

KEMMELMEIER, EG; FERREIRA, ME; STEFANO-FILHO, LC; SVIDZINSK TIE. COLONIZAÇÃO DA MUCOSA ORAL POR LEVEDURAS, EM PACIENTES ONCOLÓGICOS, ENCAMINHADOS PARA QUIMIOTERAPIA EM MARINGÁ – **PR Cienc Cuid Saude**, v. 7, n. 1, p.69-75, 2008. Disponível em:<<http://www.periodicos.uem.br/ojs/index.php/CiencCuidSaude/article/view/6567/3887> > Acesso em: 14 set. 2017.

MENEZES, Ralciane de Paula; FERREIRA, Joseane Cristina; SÁ, Walkiria Machado de et al . FREQUENCY OF *Candida* SPECIES IN A TERTIARY

CARE HOSPITAL IN TRIANGULO MINEIRO, MINAS GERAIS STATE, BRAZIL. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, v. 57, n. 3, p. 185-191, June 2015.

NAGLIK, Julian R; CHALLACOMBE, Stephen J; HUBE, Bernhard. *Candida albicans* aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. **Microbiol Mol Biol**, v. 67, n. 3, p.400-428, 2003.

ODDS, Frank C; BERNAERTS, Ria. CHROMagar Candida, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important Candida species. **J Clin Microbiol**, v.32, n.8, p. 923-928, 2013.

PIRES, Emanuene Galdino; FREITAS, Edimilson Martins de; BONAN, Paulo Rogério Ferreti; NOBRE, Sérgio Avelino Mota. Agreement between RAPD, API20C AUX, CHROMagar Candida and microculture on oral Candida identification. **Braz. J. Oral Sci.**, v. 14, n. 2, p. 149-153, June 2015.

RAZA, Aun; ZAFAR, Waleed; MAHBOOB, Amjad et al. Clinical features and outcomes of Candidaemia in cancer patients: Results from Pakistan. **J Pak Med Assoc**, v. 66, n.5, p. 584-589, May 2016.

SAPOLNIK, Roberto. Suporte de terapia intensiva no paciente oncológico. **Jornal de Pediatria**, v.79, n.2, p. 231-249, 2003.

SAWADA, Namie Okino; NICOLUSSI, Ana Cristina; OKINO, Liyoko et al. Avaliação da qualidade de vida de pacientes com câncer submetidos à quimioterapia. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 43, p. 581-587, 2004.

VIANA, Luana de Oliveira; CARVALHO, Maria de Fátima Farias Peixoto. Identificação de leveduras do gênero *Candida* pelo método chromagar candida e levantamento de fatores de risco. **Biofar Revista de Biologia e Farmácia**, v.8, n.1 p.92-98, 2012.

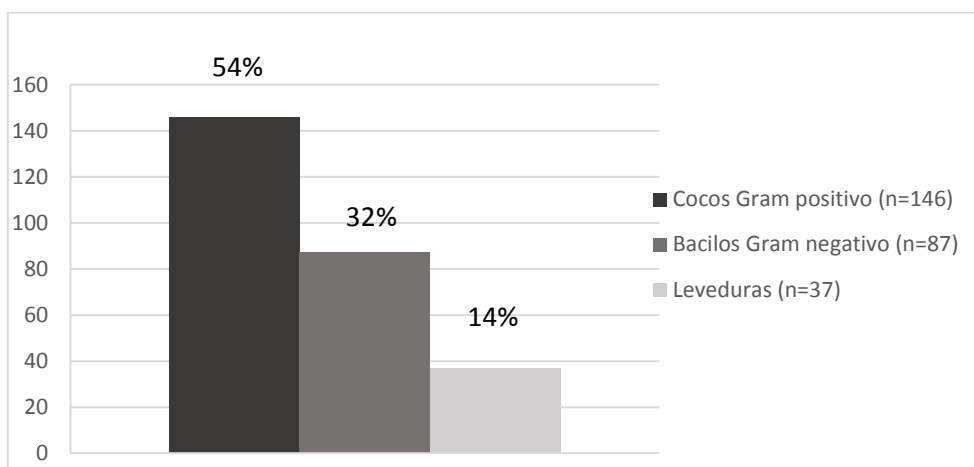


Figura 1 - Distribuição dos microrganismos conforme características morfotintoriais da coloração de Gram.

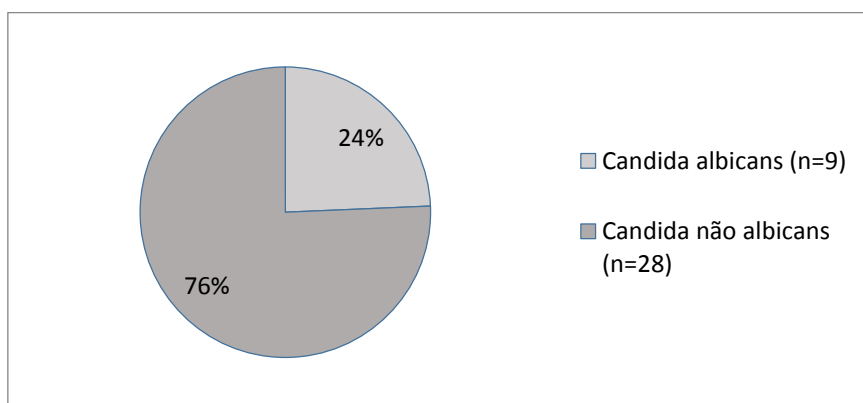


Figura 2 - Distinção das espécies de *Candida* spp isoladas no estudo pelo tubo germinativo.

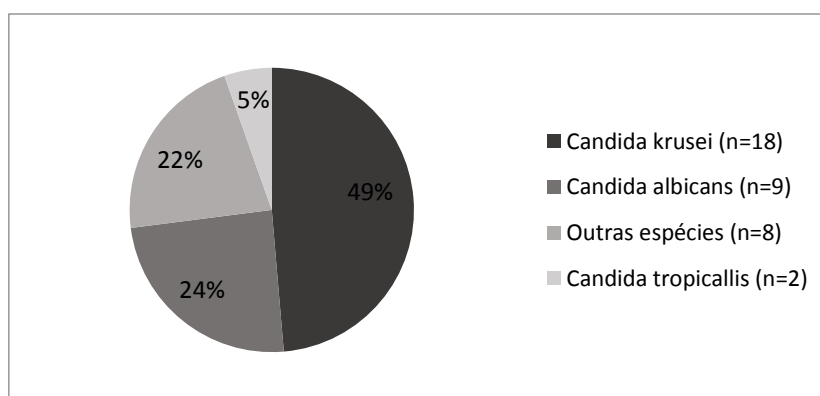


Figura 3 - Distinção das espécies de *Candida* spp isoladas no estudo pelo ágar cromogênico