



XII Salão de  
Iniciação Científica  
PUCRS

## Identificação e investigação do perfil de susceptibilidade a drogas antifúngicas de leveduras isoladas em ambiente hospitalar.

Luciele Gonzaga Ribeiro<sup>1</sup>, Rafael de Oliveira Schneider <sup>1</sup>; Audrey Menegaz Proença <sup>1</sup>; Carolina Cortina Silva<sup>1</sup>; Luciana Ruschel de Alcântara <sup>2</sup>; Ana Maria Sandri<sup>2</sup>; Renata Medina da Silva<sup>1</sup>  
(orientador)

<sup>1</sup>Faculdade de Biociências, PUCRS, <sup>2</sup> Hospital São Lucas, PUCRS

### Introdução

A importância de infecções hospitalares causadas por fungos, em especial por leveduras, tem se mostrado em destaque na literatura internacional em função do aumento global de incidências nos últimos anos, principalmente nos países em desenvolvimento [1, 2, 3]. Dentro deste contexto, o gênero *Candida* mostra-se como agente etiológico fúngico de maior importância, além de ser a sexta causa mais comum de infecções hospitalares.

Embora a maioria das infecções costume ser causada pela espécie *C. albicans*, dados recentes indicam que mais de 30% das infecções nosocomiais podem ser causadas por outras espécies do gênero *Candida* [1,4]. A preocupação com a incidência relativa das diferentes espécies de *Candida* está ligada ao fato de que, mesmo que *C. albicans* mostre-se na maioria das vezes sensível aos antifúngicos azólicos (fluconazol, entre outros), anfotericina B e caspofungina, isolados das espécies não *C. albicans*, como *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. kruzei* mostram, em diferentes níveis, resistência a uma ou mais destas drogas [4]. Além disso, a maioria das leveduras conhecidas apresenta metabolismo facultativo, isto é, são capazes de respirar ou realizar algum tipo de fermentação. Dentre tais leveduras, algumas são capazes de sobreviver dependendo exclusivamente do seu metabolismo fermentativo, na condição celular chamada “petite”, que costuma se mostrar menos suscetível a drogas antifúngicas azólicas [5,6].

Desta forma, a importância crescente de diferentes espécies de leveduras como agentes etiológicos de muitas infecções nosocomiais em todo o mundo, de forma mais intensa nestas duas últimas décadas em UTIs [7], aliada aos altos índices de candidemia relatados em alguns hospitais brasileiros [8], apontam para a urgente necessidade de uma maior investigação e

conhecimento a respeito do assunto, em especial em hospitais que atendem ao SUS no nosso país. Dentro desta perspectiva, o objetivo do presente trabalho foi identificar em nível de gênero/espécie, bem como investigar o perfil de susceptibilidade a drogas antifúngicas de 50 isolados de leveduras previamente coletados a partir do ambiente e de ferramentas de trabalho de uma unidade de internação do Hospital São Lucas da PUCRS.

## **Metodologia**

Os isolados de leveduras oriundos das diferentes coletas no ambiente hospitalar encontravam-se estocados em glicerol 30% a -20°C. Estes foram recuperados através de cultivo em meio líquido Sabouraud a 30°C. As culturas que se mostraram turvas após este processo foram semeadas em meio de cultura Ágar-Sabouraud para o aparecimento de colônias.

Para a identificação dos isolados, o sistema API<sup>R</sup> C 20 AUX (Biomerieux) para identificação de leveduras foi utilizado devido à sua facilidade de manipulação e confiabilidade em termos dos resultados gerados.

Para testes de susceptibilidade, os isolados foram expostos a um grupo de quatro drogas antifúngicas, Anfotericina B, Cetaconazol, Fluconazol e Itraconazol, através do teste de macrodiluição (de acordo com normas e protocolo do NCCLS).

Os isolados que se mostraram resistentes aos antifúngicos azólicos foram investigados quanto à ocorrência de células petite. Para tal, estes isolados foram cultivados em caldo Sabouraud, diluídos e semeados em placas com Ágar-Sabouraud. Após o aparecimento de colônias estas foram submetidas à coloração com o Cloreto de Trifenil-Tetrazólio (TTC), através da aplicação de um “top-ágar”. Posteriormente, as colônias brancas tiveram a sua condição não-respirante confirmada em meio sólido não-fermentável YPG, onde petites não são capazes de crescer.

## **Resultados**

Dos 50 isolados analisados, 45 tiveram uma identificação em nível de espécie que se mostrou entre confiável e excelente, através do sistema API<sup>R</sup> C 20 AUX. Destes 45 isolados, 29 foram identificados como *Candida parapsilosis*, três como *C. albicans*, três como *C. lusitaniae*, dois como *C. famata*, dois como *C. glabrata*, e apenas um como *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. Guilliermondi*, *C. magnoliae*, *Rhodotorula mucilaginosa* e *Saccharomyces*

*cerevisiae*. Além disso, muitos destes isolados apresentaram baixa susceptibilidade a pelo menos um dos antifúngicos testados. Em relação à formação de colônias petite, a minoria dos isolados resistentes a antifúngicos azólicos foi capaz de induzir esta condição celular não respirante, sendo que alguns induziram de forma bastante instável, retornando facilmente à condição respirante.

### **Conclusão**

Os dados levantados indicam que leveduras potencialmente patogênicas, como espécies do gênero *Candida*, mostram-se bastante freqüentes no ambiente hospitalar investigado. De forma especial, foi possível verificar que a espécie *Candida parapsilosis* apresenta uma grande prevalência, visto que correspondeu a 64% dos isolados investigados neste estudo. Não menos importante é também a evidência de isolados resistentes a drogas antifúngicas como circulantes no ambiente hospitalar. A alta freqüência de tais microrganismos pode ser devida à grande circulação, tanto de pacientes como de profissionais, na Unidade Hospitalar investigada.

### **Referências**

- [1] PFALLER,MA. Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs, and modes of transmission. **Clin. Infect. Dis.** 22, Suppl 2:S89-94 (1996).
- [2] DIZBAY, M.; KALKANCI, A.; SEZER, B.E.; AKTAS, F.; AYDOGAN, S.;FIDAN, I.;KUSTIMUR, S.& SUGITA, T. Molecular Investigation of a Fungemia Outbreak Due to *Candida parapsilosis* in an Intensive Care Unit. **Brazilian J. Infect. Dis.** 2(5):395-399 (2008).
- [3] BONASSOLI, L.A.; BERTOLI, M. & SVIDZINSKI, T.I.E. High frequency of *Candida parapsilosis* on the hands of healthy hosts. **J. Hosp. Infect.** 59, 159–162 (2005).
- [4] PUKINSKAS,S.R.B.S. & MELHEM,M.S.C. Desafios do laboratório na investigação de infecção hospitalar por leveduras. **Prática Hospitalar** 60:18-19 (2008).
- [5] FOURY, F. Repair of mitochondrial DNA in *Saccharomyces cerevisiae*. Induction of cytoplasmic petite mutants in a nuclear mutant exhibiting thermosensitive mitochondrial deoxyribonuclease activity. **J Biol Chem** 257(2): 781-7 (1982).
- [6] CONTAMINE, V.; PICARD, M. Maintenance and integrity of the mitochondrial genome: a plethora of nuclear genes in the budding yeast. **Microbiol Mol Biol Rev** 64(2): 281-315, (2000).
- [7] SCHELENZ, S. & Gransden, W.R. Candidaemia in a London teaching hospital: analysis of 128 cases over a 7-year period. **Mycoses** 46: 390–6 (2003).
- [8] HINRICHSEN1, S.L.; FALCÃO, E; VILELLA, T.A.S.; RÊGO, L; LIRA,C.; ALMEIDA, L.; MARTINS, M.; ARAÚJO, C.; DUARTE, M.; LOPES, G. *Candida* isolates in tertiary hospitals in northeastern Brazil. **Braz. J. Microbiol.** 40: 325-328. (2009)