

DIAGNÓSTICO DAS INFECÇÕES FÚNGICAS INVASIVAS E DE FUNGEMIAS EM PACIENTES ATENDIDOS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO GETÚLIO VARGAS

Marcos Henrique Gurgel Rodrigues*, Euzenio Moreira de Brito*, Cybelle Souza Lima*
Letícia Bezerra de Oliveira*, Maria Ermelinda Filgueiras de Azevedo**
Rose Mary Correa Santos**, Maria Zeli Moreira Frota***

*Graduandos em Farmácia pela Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

**Farmacêuticas do Hospital Universitário Getúlio Vargas (HUGV/UFAM)

***Farmacêutica da Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

RESUMO

Dados apontam para um aumento na incidência das infecções fúngicas invasivas (IFIs) e de fungemias no mundo, principalmente aquelas causadas por fungos oportunistas, em virtude do aumento de indivíduos imunossuprimidos. Essas micoses são graves e geralmente decorrem da invasão pelo trato respiratório ou da colonização da pele ou mucosas do hospedeiro, e em indivíduos imunossuprimidos, tendem a se disseminar para outros órgãos ou tecidos. Apesar da importância e da gravidade do problema, o diagnóstico de tais infecções ainda representa um desafio para os médicos e microbiologistas, e uma das razões é a deficiência ou inexistência de laboratórios especializados para a realização de diagnóstico micológico na maioria dos hospitais. Diante disto, o projeto objetivou avaliar a ocorrência de IFIs e de fungemias em pacientes internados na UTI e enfermarias do Hospital Universitário Getúlio Vargas, da Universidade Federal do Amazonas. Para isto, foi disponibilizado um serviço de recebimento e de análises micológicas de amostras biológicas de pacientes com suspeitas de infecções sistêmicas, sendo que, para os casos de fungemia, foi utilizado o sistema BACTECTM Série 9000 (BD) para o isolamento primário dos agentes. Durante o período da pesquisa foram analisadas 157 amostras biológicas que deram entrada no laboratório de Microbiologia do Hospital. Destas, foram isolados 3 agentes de infecção fúngica sistêmica: *Candida albicans* (N=2) e *Candida glabrata* (N=1). Espécies pertencentes ao gênero *Candida*, especialmente *C. albicans*, têm sido apontadas como um dos principais agentes etiológicos de IFIs e fungemias no mundo, portanto o presente estudo corrobora com os dados atuais da literatura. Considerando que o HUGV não dispõe de um Laboratório de Micologia, o estudo realizado, além de colaborar com a implantação de um serviço de coleta e de análises micológicas, também contribui para fornecer dados epidemiológicos sobre infecções fúngicas sistêmicas, além de dar suporte técnico e científico na área do diagnóstico micológico no HUGV/UFAM.

Palavras-chave: Micoses oportunistas; fungemias; epidemiologia; diagnóstico.

INTRODUÇÃO

As infecções fúngicas invasivas (IFIs) estão entre as principais causas de morbidade e mortalidade em indivíduos imunossuprimidos, tais como indivíduos com AIDS, doenças hematológicas malignas e outras neoplasias, transplantados, indivíduos submetidos a

procedimentos cirúrgicos invasivos, ou submetidos a terapias prolongadas com drogas imunossupressoras. Nas últimas décadas, tem-se deflagrado um aumento na incidência dessas micoses em todo o mundo, em virtude do aumento crescente da população de indivíduos mais susceptíveis (Ascioglu et al 2002; Sidrim, 2004). Geralmente as IFIs decorrem da invasão pelo trato respiratório, ou mesmo da colonização da pele ou mucosas do próprio hospedeiro. Com foco primário ou fonte de infecção na mucosa orofaríngea, esofágica, trato gastrointestinal ou nos pulmões, essas micoses tendem a se disseminar para outros órgãos ou tecidos, levando à generalização do processo micótico, inclusive com quadros geralmente fatais de fungemia (presença do fungo na corrente sanguínea) (Fridiking et al, 1996; Segal et al, 2002; Castagnola et al, 2008; Vardakas et al, 2009).

Os fungos representam, de acordo com o Ministério da Saúde, o segundo grupo de importância médica nas infecções hospitalares, depois das bactérias (BRASIL, 2004). Algumas espécies fúngicas figuram entre as principais causas de infecções disseminadas em pacientes imunossuprimidos internados, tais como diferentes espécies de *Candida*, *Aspergillus*, *Criptococcus neoformans* dentre outras espécies, sendo a *Candida albicans* e espécies do gênero *Aspergillus* spp., os patógenos mais frequentes (Latge, 1999; Pfaller & Liang Yu, 2001,). Segundo o Ministério da Saúde, a taxa média de infecção hospitalar é de cerca 15%, ao passo que nos EUA e na Europa é de 10%. Cabe lembrar, no entanto, que o índice de infecção hospitalar varia significativamente, pois está diretamente relacionado ao nível de atendimento e complexidade de cada hospital (BRASIL, 2004).

Dentre os fatores de risco destacam-se: uso mais frequente de dispositivos prostéticos; o aumento dos transplantes de medula óssea e órgãos sólidos, bem como das melhorias das condutas pós-transplantes; a introdução da infecção pelo HIV como uma pandemia da sociedade no século XX; os avanços terapêuticos com a introdução de drogas antimicrobianas de amplo espectro e a consequente “seleção” de cepas resistentes e o uso de drogas imunomoduladoras. (Sidrim, 2004; Timsit et al., 2015).

A despeito do aumento na incidência das infecções fúngicas invasivas, causadas por patógenos oportunistas no mundo e da gravidade de seus quadros clínicos, o diagnóstico dessas micoses e a emergência com que o mesmo deve ser estabelecido, ainda hoje representam um grande desafio para os médicos e microbiologistas nos serviços públicos de saúde. Com este estudo objetivou-se analisar a ocorrência de infecções fúngicas invasivas (IFIs) e de fungemias, em pacientes internados na UTI e enfermarias do Hospital Universitário Getúlio Vargas, da Universidade Federal do Amazonas (HUGV/UFAM).

METODOLOGIA

Estudo descritivo, do tipo transversal, que objetivou avaliar a ocorrência de infecções fúngicas invasivas (IFIs) e de fungemias em pacientes sob internação no Hospital Universitário Getúlio Vargas. A amostragem foi por conveniência, em que foram analisadas todas as amostras biológicas de pacientes com suspeitas de infecções sistêmicas que foram encaminhadas para o laboratório de Microbiologia do Hospital, durante o período de fevereiro a junho de 2016. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUGV/UFAM sob o CAAE 52219215.7.0000.5020 e número de parecer 1.434.068.

As amostras de sangue foram encaminhadas ao laboratório de Microbiologia do HUGV/UFAM, conforme o fluxo de procedimentos deste hospital. Para a inoculação no sistema Bactec 9000 (BD Diagnostic Systems Europe). Os frascos BACTEC previamente inoculados foram rapidamente colocados no equipamento BACTEC 9000, incubados à 35°C e

continuamente monitorados pelo equipamento quanto ao crescimento fúngico, até a indicação de positividade (sinal sonoro) ou até completar o período de incubação de 50 dias. Os frascos com as amostras positivas foram encaminhados para a realização das análises micológicas. As amostras de líquido e outros líquidos corpóreos, amostras biológicas provenientes de fragmentos de biópsias, ou de raspagem de lesões ulceradas foram inoculadas diretamente em meios de cultura de isolamento contidos em tubos de ensaio, os quais foram mantidos em temperatura ambiente durante 20 dias de incubação.

Para o diagnóstico micológico pelos métodos convencionais as amostras foram submetidas aos exames direto e de cultura. Para o exame direto foram empregados o método do KOH a 20%, coloração de Gram e nas amostras de líquido, tinta nanquim, seguido da análise por microscopia óptica. O exame de cultura foi realizado a partir do isolamento primário em Agar Sabouraud (DIFCO) acrescido de cloranfenicol contido em tubos de ensaio, os quais foram semeados em duplicata e incubados à temperatura estufa bacteriológica à 37 °C, durante o período satisfatório em que a colônia fúngica tenha alcançado um diâmetro máximo de crescimento, ou até o período de 20 dias para serem definitivamente consideradas negativas. Para a identificação das colônias fúngicas foram realizados os estudos da macro e micromorfologia, e no caso das leveduras, foram feitos os testes do tubo germinativo e testes cromogênicos, de acordo com os procedimentos e critérios utilizados em rotina laboratorial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período de 04 meses, foi analisado um total de 157 amostras, sendo 128 de sangue, 23 de líquido e 6 amostras de outros líquidos biológicos, as quais foram encaminhadas para o setor de Microbiologia do Hospital, conforme a demanda de rotina do laboratório. Destas, apenas 02 amostras apresentavam solicitação médica de pesquisa para fungos. No intuito de obter informações clínicas que motivaram o pedido do exame laboratorial e que pudessem dar um direcionamento para as análises microbiológicas das amostras, observou-se que 57,9% das requisições não continham justificativa ou qualquer dado clínico, ou apresentavam apenas informações vagas e insatisfatórias. Vale destacar que a requisição médica se constitui em uma ferramenta importante de comunicação entre o profissional médico e a equipe de laboratório envolvidos na assistência ao paciente, e que, diante da grande diversidade etiológica das infecções microbianas, é de fundamental importância a obtenção de alguns dados clínicos, a fim de que as análises possam ser realizadas de forma mais direcionada ou mais abrangente conforme o quadro clínico ou as hipóteses diagnósticas em questão. Isto permitiria maior eficiência na escolha dos métodos de análises microbiológicas e otimizaria os gastos laboratoriais, evitando-se a realização de procedimentos desnecessários.

Das análises realizadas, 02 amostras de hemoculturas e 01 amostra de secreção traqueal foram positivas para fungos, confirmadas por meio de exame direto e exame de cultura. Destes casos positivos, foram isoladas *Candida albicans* (N=2) de uma hemocultura e de uma amostra de secreção traqueal e *Candida glabrata* (N=1) isolada de hemocultura. Uma das amostras de sangue foi obtida de uma paciente que foi à óbito antes de obter o diagnóstico de infecção fúngica. Para a identificação das culturas foram utilizados os métodos presuntivos de identificação em nível de espécie, tais como teste do tubo germinativo (TTG), microcultivo em agar fubá e análise em meio cromogênico (BBL CHROMagar Candida Medium).

CONCLUSÃO

Apesar das dificuldades encontradas para a obtenção de amostras e de resultados representativos sobre a ocorrência das IFIs e de fungemias em pacientes sob regime de internação hospitalar no HUGV, verificou-se a importância dos fungos do gênero *Candida* na etiologia dessas infecções. O diagnóstico laboratorial com a definição etiológica das infecções bacterianas e fúngicas especialmente em pacientes de UTI, é indispensável para o tratamento eficaz, e para a vigilância epidemiológica das infecções relacionadas à assistência à saúde, bem como dos casos de resistência medicamentosa. As lacunas evidenciadas neste projeto, e a perspectiva de apoio para a criação, em breve, de um serviço de diagnóstico micológico no próprio Hospital, nos motivou a elaborar uma nova proposta para dar continuidade ao mesmo e ampliar a pesquisa, no sentido de investigarmos também a susceptibilidade dos isolados fúngicos de pacientes com IFIs ou fungemias, frente às drogas antifúngicas mais empregadas na rotina clínica. Sendo que para isto, maior esforço será envidado para uma maior divulgação, treinamentos e melhor cooperação entre os agentes de saúde e os setores envolvidos.

AGRADECIMENTOS

FAPEAM - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas; HUGV – Hospital Universitário Getúlio Vargas; UFAM – Universidade Federal do Amazonas.

REFERÊNCIAS

Ascioglu S, Rex JH, de Pauw B, Bennett JE, Bille J, Crokaert F, Denning DW, Donnelly JP, Edwards JE, Erjavec Z, Fiere D, Lortholary O, Maertens J, Meis JF, Patterson TF, Ritter J, Selleslag D, Shah, PM, Stevens DA, Walsh TJ. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clinical Infectious Disease*. 2002; 34(1):7-14.

BRASIL, Ministério da Saúde. Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde Edição Comemorativa para o IX Congresso Brasileiro de Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar. Salvador, 30 de agosto a 3 de setembro de 2004.

Castagnola E, Faraci M, Moroni C, Bandettini R, Granata C, Caruso S, Bagnasco F, Caviglia I, Malgorzata M, Furfaro E, Natalizia AR, de Fazio V, Morreale G, Lanino E, Haupt R, Dini G, Viscoli C. Invasive mycoses in children receiving hemopoietic SCT. *Bone Marrow Transplantation*. 2008; 41(suppl.2):S107–S111.

Fridkin SK, Jarvis WR. Epidemiology of Nosocomial Fungal Infections. *Clinical Microbiology Reviews*. 1996; 9(4):499-511.

Latgé, JP. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. *Clin Microbiol Rev*. 1999; 12(2):310-350.

Pfaller, MA; Liang Yu, W. Antifungal Susceptibility Testing: New technologies and Clinical Applications. *Infectious Disease Clinics of North America*. 2001;15(4):1227-1261.

Segal BH, Bow EJ, Menichetti F. Fungal infections in nontransplant patients with hematologic malignancies. *Infect Dis Clin North Am.* 2002; 16(4):935-964.

Sidrim JJC, Moreira JLB. *Fundamentos Clínicos e laboratoriais da Micologia Médica.* Editora Guanabara Koogan, 2. ed. São Paulo, 2004.

Timsit JF, Perner A, Bakker J, Bassetti M, Benoit D, Cecconi M, Azoulay E. Year in review in *Intensive Care Medicine* 2014: III. Severe infections, septic shock, healthcare-associated infections, highly resistant bacteria, invasive fungal infections, severe viral infections, Ebola virus disease and paediatrics. *Intensive Care Medicine.* 2015; 41(4):575–588.

Vardakas KZ, Michalopoulos A, Kiriakidou KG, Siampali EP, Samonis G, Falagas ME. Candidaemia: incidence, risk factors, characteristics and outcomes in immunocompetent critically ill patients. *Clin Microbiol Infect.* 2009; 15(3):289–292.