



Artigo/Article

Aspectos micológicos e suscetibilidade *in vitro* de leveduras do gênero *Candida* em pacientes HIV-positivos provenientes do Estado de Mato Grosso

Mycological aspects and susceptibility *in vitro* the yeast of the genus *Candida* from HIV-positive patients in the State of Mato Grosso

Olivia Cometti Favalessa¹, Marilena dos Anjos Martins² e Rosane Christine Hahn^{1,3,4}

RESUMO

Introdução: A candidíase é uma das infecções fúngicas mais frequentes entre os pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana. O presente estudo objetivou a caracterização das leveduras do gênero *Candida* de distintas amostras clínicas, provenientes de pacientes HIV-positivos, assim como a determinação do perfil de suscetibilidade *in vitro* a cinco drogas antifúngicas. **Métodos:** A caracterização dos isolados de *Candida* sp foi realizada através da metodologia clássica, testes bioquímicos (zimograma e auxanograma) e morfológicos (prova do tubo germinativo e microcultivo em lâmina). Também, foram realizadas a técnica genotípica (PCR) e identificação pelo método comercial API 20C AUX (BioMeriëux). Para a determinação do perfil de suscetibilidade *in vitro*, foram utilizadas cinco drogas antifúngicas (cetoconazol, fluconazol, itraconazol, voriconazol e anfotericina B), através do método comercialmente disponível - Etest. **Resultados:** Foram identificados 105 isolados de leveduras do gênero *Candida* provenientes de 102 pacientes infectados pelo vírus HIV. Destes, foram caracterizadas 82 (78,1%) *Candida albicans*, 8 (7,6%) *Candida parapsilosis*, 8 (7,6%) *Candida tropicalis*, 4 (3,8%) *Candida krusei*, 2 (1,9%) *Candida glabrata* e 1 (1%) *Candida guilliermondii*. **Conclusões:** Considerando o perfil geral de sensibilidade, 60% dos isolados foram suscetíveis a todos os antifúngicos testados, porém as espécies *C. tropicalis* e *C. krusei* demonstraram uma tendência a valores mais elevados de CIMs para os azóis do que os encontrados para *C. albicans*, sugerindo resistência.

Palavras-chaves: Suscetibilidade *in vitro*. *Candida* sp. Pacientes HIV positivos.

ABSTRACT

Introduction: Candidiasis is one of the most common fungal infections among patients infected by human immunodeficiency virus. The present study aimed to characterize yeasts of the genus *Candida* from distinct clinical samples from HIV-positive patients and determine the *in vitro* susceptibility profile to five antifungal drugs. **Methods:** Characterization of *Candida* sp was achieved using the classic methodology: biochemical (zymogram and auxanogram) and micromorphology (germinative tube growth test and slide microculture) tests. Genotypic technique (PCR) and identification by the commercial method API 20C AUX (Biomérieux) were also performed. To determine the *in vitro* susceptibility profile, five antifungal drugs were used (ketoconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole and amphotericin-B) following a commercially available method, the Etest. **Results:** The procedure isolated 105 yeasts of the genus *Candida* from 102 HIV-infected patients. Of these, 82 (78.1%) were characterized as *Candida albicans*, 8 (7.6%) as *C. parapsilosis*, 8 (7.6%) *C. tropicalis*, 4 (3.8%) *C. krusei*, 2 (1.9%) *C. glabrata*, and 1 (1%) as *C. guilliermondii*. **Conclusions:** Considering the general profile of sensitivity, 60% of isolates were susceptible to all the antifungal drugs tested; however, the species *C. tropicalis* and *C. krusei* showed a tendency toward higher MICs to azoles than those obtained for *C. albicans*, suggesting resistance.

Key-words: *In vitro* susceptibility. *Candida* sp. HIV-positive patients.

1. Laboratório de Micologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT. 2. Seção de Micologia, Instituto Adolf Lutz, São Paulo, SP. 3. Hospital Universitário Júlio Müller, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT. 4. Laboratório de Micologia, Hospital Geral Universitário, Cuiabá, MT.

Endereço para correspondência: Dra. Rosane Christine Hahn. Laboratório de Micologia/FCM/UFMT. Av. Fernando Corrêa da Costa 2367, Bairro Boa Esperança, 78060-900 Cuiabá, MT.

Tel: 55 65 3615-8809

e-mail: rchahn@terra.com.br

Recebido para publicação em 23/04/2010

Aceito em 01/09/2010

INTRODUÇÃO

Estima-se em 40 milhões o número de indivíduos infectados pelos vírus da imunodeficiência humana (HIV) no mundo. De 1980 a junho de 2007, foram notificados no Brasil 474.273 casos de pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), sendo 26.757 casos no Centro Oeste¹. O Brasil apresenta taxa de prevalência de 0,6% na população de 15 a 49 anos¹.

A candidíase orofaríngea (COF) é a infecção fúngica oportunista que mais frequentemente acomete indivíduos HIV positivos². Na maioria destes indivíduos, cerca de 90%, apresentam pelo menos um episódio de COF durante o curso da AIDS, quando a contagem de linfócitos T CD₄ (+) encontra-se inferior a 200 células/mm³ e, em muitas vezes, é detectada em episódios recorrentes³. Com a utilização dos novos antirretrovirais, na terapia HAART (*highly active antiretroviral therapy*), houve uma redução na ocorrência das infecções oportunistas em geral. Porém, para os pacientes de diagnóstico tardio ou aqueles que não respondem de forma adequada ao tratamento a candidíase orofaríngea ainda é muito frequente^{4,5}.

Nos últimos anos, têm sido obtidos importantes avanços na utilização dos testes de suscetibilidade *in vitro* aos antifúngicos. Com a implantação dos protocolos de referência do CLSI, tornou-se possível a comparação e validação dos resultados destes testes contribuindo para o conhecimento de cepas resistentes, muitas vezes predictoras de insucesso terapêutico⁶.

Várias técnicas vem sendo desenvolvidas e empregadas para o estudo do perfil de suscetibilidade *in vitro* a antifúngicos, dos quais o método de microdiluição em caldo é considerado o método de referência, de acordo com documento M27-A3 do *Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)*⁸. Métodos alternativos estão sendo implantados para facilitar a utilização e implantação destes testes na rotina laboratorial, como técnicas de difusão em ágar utilizando fitas impregnadas com gradiente de

concentração de antifúngicos (E-test). Este método tem sido utilizado com frequência, pois, permite discernir uma cepa resistente de uma sensível, determinar os valores de concentração inibitória mínima (CIM), além de ser uma técnica de fácil e rápida execução, exibindo satisfatória correlação com o método de referência (CLSI)⁷⁻⁹.

O tratamento das candidíases orais tem sido bastante discutido na atualidade, principalmente nesta população de pacientes HIV positivos com a finalidade de avaliar o uso racional das drogas antifúngicas disponíveis no mercado, como os azólicos, destacando o fluconazol¹⁰⁻¹². O objetivo deste estudo foi caracterizar e determinar o perfil de suscetibilidade *in vitro* de leveduras do gênero *Candida* isoladas de pacientes infectados pelo HIV frente aos antifúngicos utilizando a metodologia Etest (AB Biodisk). Este estudo apresenta dados inéditos referentes ao Mato Grosso (Centro Oeste do Brasil).

MÉTODOS

População estudada

Os indivíduos infectados pelos HIV foram selecionados da demanda de pacientes atendidos nos serviços de saúde de Cuiabá e Várzea Grande, MT. Foram incluídas, neste estudo, sete unidades hospitalares; sendo três hospitais públicos (dois hospitais universitários e o Hospital Santa Casa de Misericórdia, em Cuiabá, MT), dois pronto-socorros municipais (Cuiabá e Várzea Grande, MT), um hospital privado e o Centro Estadual de Referência em Média e Alta Complexidade (CERMAC), da Secretaria de Estado de Saúde (SES), ambos de Cuiabá, MT. Foi realizado um estudo descritivo no período compreendido entre Janeiro de 2006 a outubro de 2008.

Pacientes

Foram incluídos no estudo os pacientes com diagnóstico confirmado de infecção pelo HIV, ou que se encontravam em estágio avançado da doença. Estes pacientes foram acompanhados pelos respectivos serviços de saúde, nos quais estavam internados. Os pacientes avaliados assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP). Os dados clínicos foram obtidos a partir de consulta médica e revisão de prontuários.

Caracterização dos isolados

As distintas amostras clínicas, secreção de orofaringe (53); raspado bucal (29); lavado bronco-alveolar (7); fragmentos de unhas (7); raspado de pele (4); secreção vaginal (2); lavado gástrico (1); urina (2) foram devidamente coletadas e encaminhadas ao laboratório de investigação da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT). Após as coletas foram realizadas as provas de identificação: técnica de coloração de Gram, prova do tubo germinativo, micromorfologia segundo a técnica de Ridell, e perfil bioquímico através da assimilação e fermentação segundo Kurtzman & Fell¹³. Os isolados de *C. albicans* provenientes das amostras clínicas de secreção de orofaringe e raspado bucal (67,7%), foram submetidas à metodologia comercial API 20C AUX (BioMérieux) segundo informações do fabricante, além da identificação genotípica por técnica de PCR segundo Mannarelli cols¹⁴ e Chavasco cols¹⁵ para confirmação das espécies de *C. albicans*.

Testes de suscetibilidade aos antifúngicos

O perfil de suscetibilidade foi realizado pelo método Etest (AB Biodisk) seguindo as instruções do fabricante¹⁶. Os pontos de corte empregados foram os recomendados pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) utilizado para técnica de

microdiluição em caldo. Os antifúngicos testados foram cetoconazol, fluconazol, itraconazol, voriconazol e anfotericina B da AB Biodisk¹⁶. A atividade das drogas antifúngicas e a reprodutibilidade dos resultados foram asseguradas pela inclusão dos isolados de referência *C. parapsilosis* - ATCC 22019 e *C. krusei* - ATCC 6258, que foram gentilmente cedidas pela Dra. Márcia S.C. Melhem - Instituto Adolfo Lutz - SP. O critério de leitura considerado foi o valor da concentração inibitória mínima (CIM) como sendo capaz de inibir 50% (CIM₅₀) e 90% (CIM₉₀) do crescimento dos isolados para os azólicos e para anfotericina B.

Ética

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP: 247/2006) do Hospital Universitário Julio Müller (HJUM).

RESULTADOS

Das distintas amostras clínicas estudadas provenientes de 125 pacientes infectados pelo HIV, foram obtidas 105 culturas positivas, referentes a 102 pacientes, para espécies de leveduras do gênero *Candida*, sendo 82 (78,1%) *Candida albicans*, 8 (7,6%) *Candida parapsilosis*, 8 (7,6%) *Candida tropicalis*, 4 (3,8%) *Candida krusei*, 2 (1,9%) *Candida glabrata*, e 1 (1%) *Candida guilliermondii*. Dezenove destes pacientes já haviam utilizado previamente algum tipo de antifúngico. O antifúngico mais utilizado previamente foi o fluconazol. O perfil de suscetibilidade aos cinco antifúngicos testados foi realizado para todos os isolados, exceto para um isolado de *C. guilliermondii* pelo fato de contaminação da amostra. Trinta e nove destes pacientes estavam em uso de terapia antirretroviral.

Os resultados das CIMs obtidas frente às cinco drogas, a variação entre os valores mínimos e máximos das CIMs e os valores da CIM₅₀ e CIM₉₀ dos isolados das espécies de *Candida* sp estão apresentados na **Tabela 1**. Os valores de CIM₅₀ e CIM₉₀ corresponderam, respectivamente, às concentrações das drogas que inibiram o crescimento de 50% e 90% dos isolados.

Comparando os valores de CIM de cada droga, observou-se um amplo espectro de variação frente aos antifúngicos testados e resistência em relação aos valores de CIM₉₀ para maioria dos isolados. O isolado caracterizado como *C. krusei* demonstrou resistência para valores de CIM₅₀ e CIM₉₀ para todos os antifúngicos testados, exceto para o voriconazol. Foram observados elevados valores de CIM₅₀ e CIM₉₀ para todos os antifúngicos testados, exceto para a anfotericina B. Considerando todos os antifúngicos testados, o fluconazol foi aquele que contribuiu com maiores valores de CIM, sugerindo resistência para a maioria dos isolados, como se segue: *C. krusei* (100%), *C. albicans* (29,6%), *C. tropicalis* (50%). Também foi observado um número elevado de isolados resistentes ao itraconazol e cetoconazol, para as espécies: *C. krusei* (75%), *C. albicans* (30,8%), *C. tropicalis* (50%), e *C. krusei* (50%); *C. albicans* (23,4%) e *C. tropicalis* (37,5%) respectivamente. A espécie *C. parapsilosis* mostrou-se resistente ao itraconazol (25%) e anfotericina B (12,5%). Também foram encontrados isolados resistentes a anfotericina B, destacando *C. krusei* (75%). As espécies de *C. glabrata* (n^o = 2) mostraram-se suscetíveis aos quatro antifúngicos testados, porém exibiram resistência ao itraconazol.

A porcentagem de isolados suscetíveis (S), resistentes (R) e dose dependentes (SDD) frente aos antifúngicos testados está apresentada na **Tabela 1**. A distribuição de valores de CIM dos antifúngicos testados para as leveduras do gênero *Candida* está apresentada nas **Figuras 1, 2 e 3**.

TABELA 1 - Concentração inibitória mínima das cinco drogas antifúngicas frente às espécies de leveduras do gênero *Candida* dos distintos espécimes clínicos.

| Drogas antifúngicas | <i>Candida</i> sp | Variação | CIM ($\mu\text{g/mL}$) | | Perfil de susceptibilidade <i>in vitro</i> | | |
|-----------------------|---|---------------|--------------------------|------|--|---------|-------|
| | | | 50 | 90 | S (%) | SDD (%) | R (%) |
| Cetoconazol | <i>Candida albicans</i> (n ^o =82) | 0,002 a >32 | 0,19 | >32 | 76,5 | - | 23,4 |
| | <i>Candida parapsilosis</i> (n ^o =8) | 0,016 a 0,75 | 0,125 | 0,50 | 100,0 | - | 0,0 |
| | <i>Candida tropicalis</i> (n ^o =8) | 0,25 a >32 | 1,5 | >32 | 62,5 | - | 37,5 |
| | <i>Candida krusei</i> (n ^o =4) | 3,0 a 6,0 | 3 | 4 | 50,0 | - | 50,0 |
| Fluconazol | <i>Candida albicans</i> (n ^o =82) | 0,023 a >256 | 4 | >256 | 66,7 | 3,8 | 29,6 |
| | <i>Candida parapsilosis</i> (n ^o =8) | 0,19 a 12,0 | 2 | 8 | 87,5 | 12,5 | 0,0 |
| | <i>Candida tropicalis</i> (n ^o =8) | 1,0 a >256 | 2 | >256 | 50,0 | 0,0 | 50,0 |
| | <i>Candida krusei</i> (n ^o =4) | 64 a >256 | 64 | >256 | 0,0 | 0,0 | 100,0 |
| Itraconazol | <i>Candida albicans</i> (n ^o =82) | 0,003 a >32 | 0,032 | >32 | 67,9 | 1,2 | 30,8 |
| | <i>Candida parapsilosis</i> (n ^o =8) | 0,004 a 3,0 | 0,032 | 1,5 | 62,5 | 12,5 | 25,0 |
| | <i>Candida tropicalis</i> (n ^o =8) | 0,012 a >32 | 0,5 | >32 | 25,0 | 25,0 | 50,0 |
| | <i>Candida krusei</i> (n ^o =4) | 0,50 a >256 | 2 | >32 | 0,0 | 25,0 | 75,0 |
| Voriconazol | <i>Candida albicans</i> (n ^o =82) | 0,012 a >32 | 0,064 | >32 | 72,8 | 1,2 | 25,9 |
| | <i>Candida parapsilosis</i> (n ^o =8) | 0,012 a 0,032 | 0,032 | 0,19 | 100,0 | 0,0 | 0,0 |
| | <i>Candida tropicalis</i> (n ^o =8) | 0,047 a >32 | 0,094 | >32 | 50,0 | 0,0 | 50,0 |
| | <i>Candida krusei</i> (n ^o =4) | 0,38 a 0,75 | 0,50 | 0,75 | 100,0 | 0,0 | 0,0 |
| Anfotericina B | <i>Candida albicans</i> (n ^o =82) | 0,38 a 0,50 | 0,125 | 0,5 | 98,7 | - | 1,2 |
| | <i>Candida parapsilosis</i> (n ^o =8) | 0,25 a 3 | 0,50 | 0,75 | 87,5 | - | 12,5 |
| | <i>Candida tropicalis</i> (n ^o =8) | 0,012 a 1,0 | 0,38 | 1 | 100,0 | - | 0,0 |
| | <i>Candida krusei</i> (n ^o =4) | 1,0 a 4,0 | 2 | 3 | 25,0 | - | 75,0 |

CIM: concentração inibitória mínima (CIM₅₀ e CIM₉₀, concentração capaz de inibir o crescimento dos isolados em 50% e 90% respectivamente), S: susceptível, SDD: susceptível dose-dependente, R: resistente.

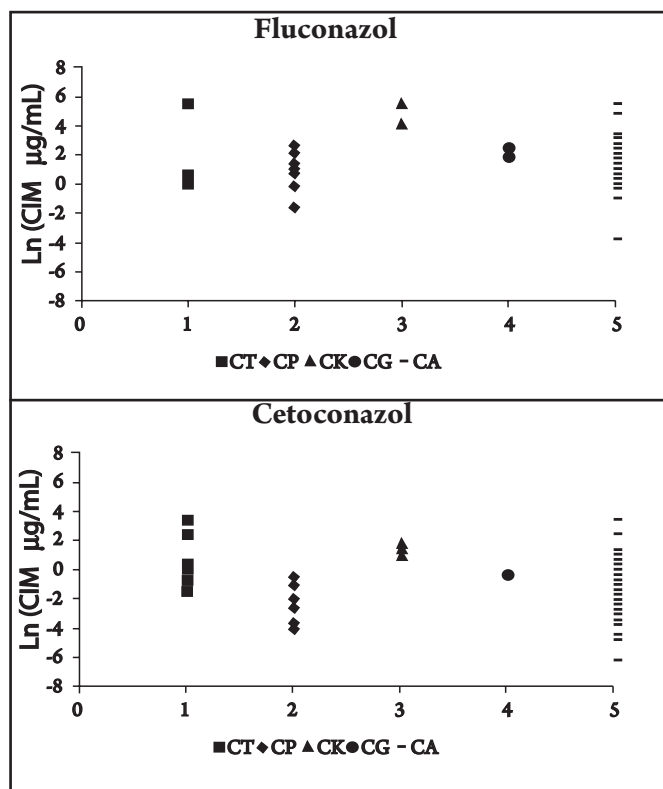


FIGURA 1 - Distribuição de valores de CIM de fluconazol e cetoconazol frente às espécies de leveduras do gênero *Candida* sp (CT: *Candida tropicalis*, CP: *Candida parapsilosis*, CK: *Candida krusei*, CG: *Candida glabrata* e CA: *Candida albicans*).

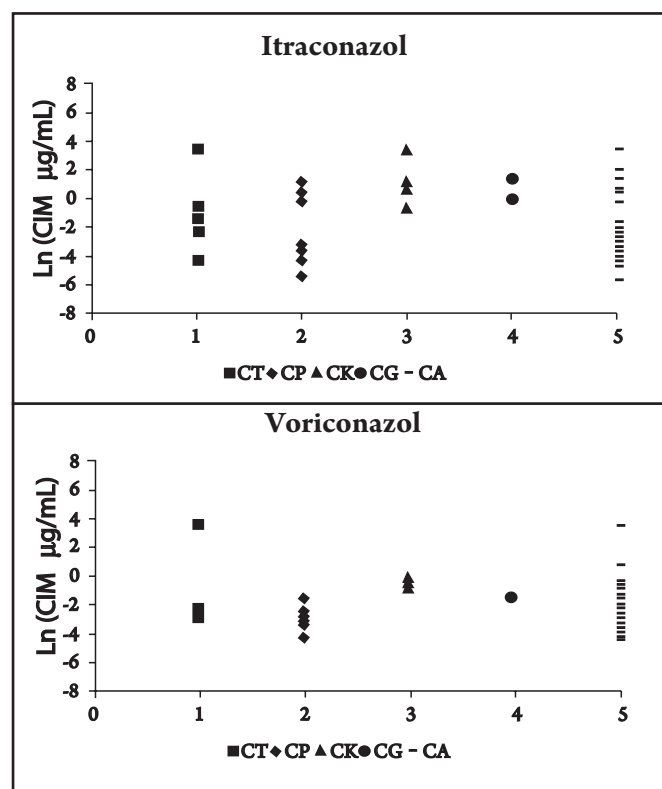


FIGURA 2 - Distribuição de valores de CIM de itraconazol e voriconazol frente às espécies de leveduras do gênero *Candida* sp (CT: *Candida tropicalis*, CP: *Candida parapsilosis*, CK: *Candida krusei*, CG: *Candida glabrata* e CA: *Candida albicans*).

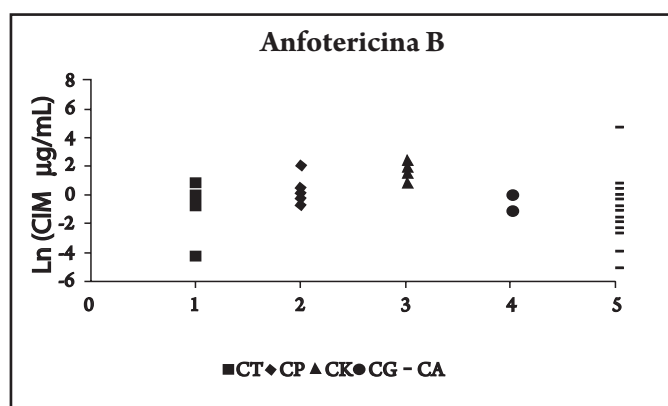


FIGURA 3 - Distribuição de valores de CIM de anfotericina B frente às espécies de leveduras do gênero *Candida* sp (CT: *Candida tropicalis*, CP: *Candida parapsilosis*, CK: *Candida krusei*, CG: *Candida glabrata* e CA: *Candida albicans*).

DISCUSSÃO

Em indivíduos imunocomprometidos, as infecções oportunistas fúngicas têm representado um importante desafio para o tratamento. Vários trabalhos têm sido realizados com o objetivo de conhecer a distribuição de espécies de leveduras do gênero *Candida* e perfil de suscetibilidade *in vitro* em pacientes HIV positivos e com AIDS. As espécies de *Candida* são detectadas em sua maioria na mucosa oral em 40 a 60% da população em geral, principalmente em pacientes infectados pelo HIV. Destas, a *C. albicans* é a mais comum isolada representando cerca de 80 a 92% dos isolamentos¹⁷⁻²¹.

Sant'Ana cols¹⁷ recuperaram de 130 pacientes, 142 isolados de *Candida* sp da cavidade oral de pacientes com AIDS, sendo que a espécie *Candida albicans* foi a mais frequentemente isolada (91%). Neste estudo, a partir de 102 pacientes foram isoladas 105 leveduras do gênero *Candida*, provenientes de distintas amostras clínicas de pacientes infectados pelo HIV, e a *C. albicans* foi o isolado mais frequente (78,1%). A maior parte dos isolados foram provenientes de secreção de orofaringe (50,5%) e raspado bucal (27,6%).

Considerando as espécies *não-albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata* e *C. guilliermondii* foram identificadas neste trabalho, achados similares a outros estudos¹⁷⁻¹⁹. As espécies *não-albicans* mais isoladas neste estudo foram: *C. parapsilosis* (8), *C. tropicalis* (8), enquanto no estudo realizado por Sant'Ana cols¹⁷ a *C. glabrata* (5) foi a espécie mais frequente. Não obstante em um trabalho realizado por Melo cols²⁰, no qual foram avaliados 114 pacientes tratados com antirretrovirais, foi demonstrada a existência da grande variedade de espécies. A coexistência de várias espécies em uma mesma amostra clínica tem ocorrido como relatado em estudo realizado por Gutiérrez cols²¹, fato verificado em três pacientes. Vale salientar que o maior número de isolamentos referentes às leveduras do gênero *Candida* foi detectado neste estudo, em secreção de orofaringe e raspados de mucosa oral, achado este similar aos registros encontrados na literatura^{10,17,21,22}.

Sant'Ana cols¹⁷, no Brasil, registraram que em 115 de 130 pacientes, a contagem de linfócitos TCD₄⁺ apresentaram valores oscilando entre 0 a 454 cel/mm³, e média de 42 cel/mm³. Apenas 10 pacientes mostraram valores elevados superiores a 200 cel/mm³. Esses valores contrastam com os encontrados neste estudo, pois a média de células encontradas foi de 170 cel/mm³. No entanto, vale ressaltar, que em 40% dos pacientes não foi possível obter informações

referentes aos valores de TCD₄⁺. Já em relação à terapia HAART, taxas muito próximas foram encontradas por aqueles autores (37%) e neste trabalho (38,2%).

Em Mato Grosso, não foram registrados, até o momento, dados referentes ao perfil de suscetibilidade dos isolados de *Candida* sp provenientes de pacientes HIV positivos e com AIDS. Os resultados encontrados evidenciaram resistência *in vitro* aos antifúngicos testados, com ênfase ao fluconazol. Dados publicados por Sánchez-Vargas cols¹⁹ evidenciaram que 10,8% das leveduras isoladas a partir de 111 pacientes mexicanos, infectados pelo vírus HIV, mostraram-se resistentes a um ou mais derivados azólicos. Ao considerarmos a espécie *C. albicans*, verificamos que foram obtidos percentuais superiores, sugerindo resistência dessa espécie aos azólicos e anfotericina B.

As espécies *não-albicans* (*C. tropicalis* e *C. krusei*) identificadas demonstraram uma tendência a valores de CIMs para os azóis mais elevados do que os encontrados para a espécie *C. albicans*, evidenciando menor suscetibilidade.

Considerando o voriconazol, foram obtidos dados que mostraram 25,9% de resistência à *C. albicans*. Já para a espécie *C. krusei*, o voriconazol demonstrou boa atividade *in vitro*, e não foram detectados isolados resistentes, mostrando que nos casos de espécies intrinsecamente resistentes ao fluconazol e/ou em casos de resistência a anfotericina B o voriconazol apresenta ação efetiva, assim como relatado por Swinne cols²³. Em trabalho publicado por Wingeter cols⁵, avaliando 100 pacientes infectados pelo HIV, foram obtidas 58 culturas positivas para *Candida* sp, sendo a espécie *C. albicans* a mais frequentemente isolada, como neste estudo. De forma geral, a suscetibilidade foi alta, mais de 60% dos isolados foram suscetíveis a todos os antifúngicos testados, sendo que para o cetoconazol foi observado maior número de isolados resistentes em oposição ao presente estudo, que aponta o maior número de isolados resistentes ao itraconazol. Wingeter e cols⁵, também, relataram que, para o cetoconazol e itraconazol, foi observada uma variação maior de suscetibilidade entre as amostras testadas, isto é 72% dos isolados apresentaram CIM < 1µg/mL para o cetoconazol, enquanto 77% foram suscetíveis ao itraconazol com CIM < 1µg/mL.

Por outro lado, alguns autores relatam que o uso profilático de antifúngicos em pacientes com AIDS foi associado à redução da suscetibilidade ao fluconazol para espécies isoladas de *C. albicans*, em episódios de candidíase oral ou recorrente²⁴.

Na Colômbia, Gutiérrez cols²¹ avaliaram a suscetibilidade ao fluconazol e voriconazol a partir de isolamentos da mucosa oral provenientes de 54 pacientes com AIDS. Os resultados mostraram que 72% das cepas isoladas de *Candida* sp foram suscetíveis ao fluconazol, 6,3% suscetíveis dose-dependentes e 20,8% resistentes. Resultados semelhantes foram encontrados, neste estudo, apontando 66,7% de suscetibilidade. Já considerando as cepas suscetíveis dose-dependentes, foram encontrados valores inferiores (3,8%), e superiores em se tratando de resistência (29,6%).

A tendência observada em relação à resistência aos azólicos pode ser embasada na redução de suscetibilidade ao itraconazol e ocorrência de resistência cruzada ao fluconazol em pacientes com AIDS que receberam profilaxia de longa duração. Os derivados azólicos suprimem a multiplicação fúngica pela inibição da enzima 14-alfa-demetilase, justificando o fato da resistência cruzada. A ocorrência de candidíase refratária aos azólicos parece ser mais prevalente entre os pacientes em estágios avançados da doença,

e história pregressa de candidíase oral recorrente, expostos a terapêutica intermitente ou contínua.

A utilização da metodologia do E-test na rotina laboratorial torna-se adequada, pela praticidade e fácil exequibilidade frente às necessidades clínicas considerando candidíases em pacientes HIV positivos e/ou com AIDS. Para tanto, a equipe profissional deve ser bem treinada para a correta leitura dos testes realizados, buscando alcançar maior paralelismo entre dados obtidos *in vitro* e resposta terapêutica *in vivo*.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não haver nenhum tipo de conflito de interesse no desenvolvimento do estudo.

SUPOORTE FINANCEIRO

Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura (UNESCO).

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico AIDS-DST. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2007. Disponível em <http://www.aids.gov.br/data/Pages/>.
2. Tapia C, Gonzales P, Pereira A, Pérez J, Noriega LM, Palavecino ES. Susceptibilidad antifúngica de *Candida albicans* recuperadas de pacientes con SIDA y candidiasis orofaríngea y esofágica. Experience com Etest Rev Med Chile 2003; 131:515-519.
3. Campos J, Del Romero J, Castilha J, Garcia S, Rodriguez C, Bascones A. Oral candidiasis as a clinical marker related to viral load, CD4 lymphocyte count and CD4 lymphocyte percentage in HIV-infected patients. J Oral Pathol Med 2002; 31:5-10.
4. Eyeson JD, Tenant-Flowers M, Cooper DJ, Johnson NW, Warnakulasuriya KAS. Oral manifestations of an HIV positive cohort in the era of highly active anti-retroviral therapy (HAART) in South London. J Oral Pathol Med 2002; 1:169-174.
5. Wingeter MA, Guilhermetti E, Shinobu CS, Takaki I, Svidizinski TIE. Identificação microbiológica e sensibilidade *in vitro* de *Candida* isoladas da cavidade oral de indivíduos HIV positivos. Rev Soc Bras Med Trop 2007; 40:272-276.
6. Pfaller MA. Antifungal susceptibility testing methods. Curr Drugs Targets 2005; 6:929-943.
7. Ballesté R, Arteta Z, Barloco A, Mier C, Fernández N, Mousqués N, et al. Evaluación Del desempeño diagnóstico Del método de difusión em Agar Etest para El estudio de sensibilidad a los antifúngicos. Rev Med Urug 2006; 22:128-135.
8. CLSI.M27-A3. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of 304 Yeasts. Third Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2008;305.
9. Vandenbossche I, Vanechoutte M, Vandevenne M, De Baere T, Verschraegen G. Susceptibility testing of fluconazol by the NCCLS broth macrodilution method, E-Test, and disk diffusion for application in the routine laboratory. J Clin Microbiol 2002; 40:918-921.
10. Salobreña AC, Cepeda LAG, Cañada FO, Barrionuevo DO, García LC, Quindós G. Resistência *in vitro* a los antifúngicos en *Candida albicans* de pacientes infectados por el VIH con y sin candidosis oral. Rev Iberoam Micol 1999; 16:194-197.
11. Diz P, Ocampo A, Miralles C, Otero Y, Iglesias Y, Martínez C. Candidosis oroesofágica resistente AL fluconazol em pacientes com SIDA. Enferm Infecc Microbiol Clin 1993; 11:36-39.
12. Heinic GS, Stevens DA, Greenspan D, Macphail LA, Dodd CL, Stringari S, et al. Fluconazole-resistant *Candida* in AIDS patients: reports of two cases. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1993; 76:711-715.
13. Kurtzman CP, Fell JW. The yeast. A taxonomic study. Elsevier: Amsterdam;1998.
14. Mannarelli BM, Kurtzman CP. Rapid identification of *Candida albicans* and other human pathogenic yeasts by using short oligonucleotides in a PCR. J Clin Microbiol 1998; 36:1634-1641.
15. Chavasco JK, Paula CR, Hirata MH, Aleva NA, Melo CR, Gambale W, et al. Molecular Identification of *Candida dubliniensis* isolated from oral lesions of HIV-negative patients in São Paulo, Brazil. Rev Inst Med Trop São Paulo 2006; 428:21-26.
16. AB BIODISK. Etest Technical guide 4b: Antifungal susceptibility testing of yeasts. Piscataway, New Jersey: AB BIODISK; 1994.
17. Sant'Ana PL, Milan EP, Martinez R, Queiros-Teles F, Ferreira MS, Alcântara AP, et al. Multicenter Brazilian Study of Oral *Candida* Species Isolated from Aids Patients. Mem Inst Oswaldo Cruz 2002; 97:253-257.
18. Barchiesi F, Maracci M, Radi B, Arzeni D, Baldassarri I, Giacometti A, et al. Point prevalence, microbiology and fluconazole susceptibility patterns of yeast isolates colonizing the oral cavities of HIV-infected patients in the era of highly active antiretroviral therapy. J Antimicrob Chemother 2000; 50:999-1002.
19. Sánchez-Vargas LO, Ortiz-lópez GN, Villar M, Moragues MD, Aguirre JM, Cashat-cruz M, et al. Point prevalence, microbiology and antifungal susceptibility patterns of oral *Candida* isolates colonizing or infecting Mexican HIV/AIDS patients and healthy persons. Rev Iberoam Micol 2005; 22:83-92.
20. Melo NR, Taguchi H, Jorge J, Pedro RJ, Almeida OP, Fukushima K, et al. Oral *Candida* flora from Brazilian human immunodeficiency virus-infected patients in the highly active antiretroviral therapy era. Mem Inst Oswaldo Cruz 2004; 99:425-431.
21. Gutiérrez C, Bedout C, Tobón AM, Cano LE, Arango M, Tabares AM, et al. Sensibilidad a fluconazol y voriconazol de aislamientos de *Candida* spp, obtenidos de mucosa oral de pacientes com sida. Infectio 2007; 11:183-189.
22. Silva MRR, Paula CR, Silva SC, Costa TR, Costa MR. Drug resistance of yeast isolated from oropharyngeal candidiasis in AIDS patients. Rev Microbiol 1998; 29:1-7.
23. Swinne D, Watelle M, Nolar N. *In vitro* activities of voriconazole, fluconazole, itraconazole and amphotericin B against nom *Candida albicans* yeast isolates. Rev Iberoam Micol 2005; 22:24-28.
24. Goldman M, Cloud GA, Smedema M, Lemonte A, Connolly P, Mckinsey D, et al. Does long-term itraconazole prophylaxis result *in vitro* azole resistance in mucosal *Candida albicans* isolates from persons which advanced human immunodeficiency virus infection? Antimicrob Agents Chemother 2000; 44:1585-1587.