

ATIVIDADE *IN VITRO* DE SULFADIAZINA DE PRATA FRENTE À *CANDIDA GLABRATA* E ESPÉCIES DE GÊNERO *FUSARIUM*

SYDNEY HARTZ ALVES¹
DANIELI URACH MONTEIRO²
CAROLINE B. WEILER³
DÉBORA A. NUNES MÁRIO³
CHARLISE BOLSON NOAL²
LIZANIA RODRIGUES RUSCHEL²
BRENDA CONCENTINO MINUSSI²

1. Professor Associado, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.
2. Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, RS, Brasil, CEP 96815-900
3. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil

Autor responsável: E-mail: daniurach@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Vários fatores influenciam o início de um processo infeccioso micótico, seu prognóstico e sua evolução. A gravidade da infecção fúngica varia desde as formas cutâneas leves até quadros graves fatais que levam a septicemia (HOFLING, 2003). Insuficiências graves nos mecanismos de defesa imunológica como no diabetes mellitus e nas neoplasias malignas são bem conhecidas por serem predisponentes a infecções fúngicas oportunistas; também podemos incluir neste grupo pacientes com SIDA (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida), bem como as que se submetem a longos períodos de quimioterapia ou que sofreram queimaduras extensas (WRIGHT, 1999).

As melhorias na terapia em paciente, tópica e sistêmica, com o uso de agentes antimicrobianos e procedimentos de controle de infecção, são basicamente, centrados no tratamento de infecções bacterianas. Estas intervenções resultam em uma diminuição de infecções bacterianas, mas as infecções fúngicas permanecem relativamente estáveis (ORDER, 1965; PRUITT, 1998). A colonização por infecção fúngica é uma complicação muito comum em pacientes imunocomprometidos. Atualmente, pela alta taxa de mortalidade, as atenções também estão voltadas a fungos patogênicos.

A interação entre bactérias e fungos tem grande significado ecológico. Em muitos casos tais interações são conhecidas por serem sinérgicas, enquanto que em outras, elas são antagonicas. Desta forma, sugere-se que

essa interação possa ter um papel importante em situações clínicas, onde um paciente sofre de infecções mistas ou concorrentes causadas por bactérias e fungos (GUPTA, 2005). Lesões causadas por queimaduras apresentam-se como um local altamente suscetível às bactérias oportunistas e colonização por fungos exógenos e endógenos (PRUITT, 1998). Esta susceptibilidade acentuada em queimaduras está associada a vários fatores, incluindo a presença de proteínas coaguladas, ausência de pêlos no local atingido, diminuição de fatores imunológicos do sangue pelos antibióticos e a reduzida vascularização local (GUPTA, 2005).

A perda da integridade da pele e o desequilíbrio na regulação do pH cutâneo facilitam a colonização da ferida por microorganismos oportunistas. Dependendo do agente que provocou a lesão, a microbiota residente da pele também é eliminada, deixando de exercer seu papel protetor. Pacientes que apresentam grandes áreas da superfície corporal queimadas recebem ampla antibioticoterapia, gerando alto risco para aquisição de infecção fúngica, pois estão geralmente associados a tempo excessivo de hospitalização e alta taxa de mortalidade (STRUCK, 2009). As infecções bacterianas ou fúngicas em queimaduras determinou o desenvolvimento de diferentes agentes antimicrobianos tópicos objetivados a reduzir a área afetada pela ferida bem como as chances de infecção (WRIGHT, 1999). A sulfadiazina de prata 1% é um dos agentes mais utilizados no tratamento, sendo recomendada em queimaduras de segundo

e terceiro grau, bem como em lesões de pele ulceradas de diversas etiologias, diminuindo assim a porta de entrada de vários microorganismos (ANDRADE, 2003; ABDALLA, 2003).

Geralmente os pacientes imunocomprometidos adquirem a infecção fúngica do ambiente circulante, podendo também disseminar esses agentes a seus arredores. Isso gera um risco considerável a todos os pacientes internados em UTIs (MOUSA, 1998). Dentre os fungos patogênicos, o mais frequentemente isolado é *Candida* spp.; as espécies de *Fusarium* spp. também têm sido relatadas como importantes patógenos oportunistas (WHEELER, 1981; MOURA, 1997).

Recentemente, outras espécies de *Candida* como a *C. glabrata*, passaram a ser igualmente importante entre pacientes imunocomprometidos (GUPTA, 2004; LEUNG, 2002; NEDRET, 2002).

Historicamente, *Candida glabrata* foi considerada não patogênica devido a sua presença na microbiota normal do indivíduo saudável, e raramente causa infecções graves em humanos (HALEY, 1961; STENDERUP, 1962; FIDEL, 1999). No entanto, após o uso generalizado de terapia imunossupressora, a frequência de infecções de mucosas e sistêmicas causadas por *Candida glabrata* aumentou significativamente (PFALLER, 1996; SCHWAB, 1997; KNOKE, 1997). Além disto, os dois principais fatores de risco associados com colonização por *Candida* spp. incluem as prolongadas internações e o intensivo uso de antimicrobianos (FIDEL, 1999).

Muito pouco se sabe sobre a virulência de *C. glabrata*, a falta da capacidade de formação de hifas pode ser um fator contribuinte. No entanto, o aumento da prevalência de infecção em indivíduos imunocomprometidos indica que algum nível de defesa do hospedeiro, de fato, existe, sendo que a aquisição nosocomial da mesma é comum (FIDEL, 1999).

As soluções para a prevenção das infecções causadas por *C. glabrata* envolvem a compreensão dos mecanismos de resistência inata e adquirida para facilitar no desenvolvimento de novos agentes antifúngicos; outro ponto crítico na prevenção é o controle desta espécie no ambiente hospitalar, buscando controlar sua disseminação entre profissionais de saúde (GUPTA, 2005).

No homem as espécies do gênero *Fusarium* causam um amplo espectro de infecções, incluindo as formas superficiais, invasiva e disseminada; a última ocorre quase exclusivamente em pacientes imunodeprimidos (NELSON, 1994; NUCCI, 2007). Espécies de *Fusarium* podem também causar doenças alérgicas em indivíduos imunocompetentes e micotoxicoses em animais e humanos após a ingestão de alimentos contaminados por micotoxinas produzidas por *Fusarium* spp. (WICKERN, 1993; NELSON, 1994).

Entre os fatores de virulência de *Fusarium* spp. pode ser citada a capacidade de produção de micotoxinas como os tricotecenos, os quais suprimem a imunidade humoral e celular e degradam tecidos (NELSON, 1994). Além disto, espécies de *Fusarium* têm a capacidade de aderirem ao material protético e de produzirem proteases e colagenases (NUCCI, 2007).

A principal porta de entrada para *Fusarium* spp. são as vias aéreas, seguida da pele (local da injúria tecidual) e finalmente, as mucosas. O papel da pele como portal de entrada é apoiado pelo desenvolvimento de infecções após a desagregação da pele devido a acidentes, queimaduras ou onicomicoses em hospedeiros imunocompetentes (ISENBERG, 1989; NUCCI, 2002; NUCCI, 2007).

A fusariose disseminada afeta principalmente imunocomprometidos e a infecção neste cenário é frequentemente fatal. O sucesso do tratamento depende do estado imunológico do paciente e da severidade da infecção, pacientes imunodeprimidos além da terapia antifúngica, necessitam de estimulantes da colônia de granulócitos e glóbulos brancos (DIGNANI et al, 1997; RODRIGUEZ et al, 2003). A taxa de mortalidade aproxima-se de 100% em pacientes neutropênicos com fusariose disseminada. Estas infecções podem ser clinicamente suspeitadas com base em achados clínicos e laboratoriais, que devem conduzir a terapêutica imediata (NUCCI, 2007; BARNS, 1991).

Tradicionalmente, o tratamento de infecções fúngicas tem sido limitado por causa dos desafios do diagnóstico e de um limitado arsenal de antimicrobóticos. No entanto, a introdução de novos antifúngicos, menos tóxicos, demarcou o início de uma era de melhorias no combate contra fungos. Foi demonstrado que a identificação de patógenos somente pelo diagnóstico histopatológico é insuficiente, devido à variação de gênero do fungo e perfil de resistência da espécie aos antifúngicos (SCHOFIELD, 2007; MURRAY, 2008). Publicações recentes revelam a importância clínica da gestão adequada das infecções fúngicas, especialmente aquelas relacionadas com pacientes imunocomprometidos ou com 30 a 60% da superfície corporal queimada, onde registra-se elevadas taxas de mortalidade neste casos (MURRAY, 2008).

A sulfadiazina de prata 1% é uma substância com grande propriedade cicatrizante e antimicrobiana de amplo espectro utilizada com sucesso há anos no tratamento de úlceras de pele, principalmente provocadas por queimaduras, oferecendo aumento na sobrevivência dos pacientes queimados através da ampla proteção antimicrobiana e ação contra alguns fungos.

Neste contexto, propôs-se avaliar a suscetibilidade *in vitro* de espécies de *Fusarium* e isolados de *Candida glabrata*, ambos patógenos de difícil tratamento, frente a sulfadiazina de prata 1%.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados testes com sulfadiazina de prata para avaliar a sensibilidade ou resistência dos isolados; utilizaram-se a técnica de microdiluição em caldo, de acordo com as normas de padronização publicadas no documento M27-A2, 2002 (para *Candida* spp) M38-A2, 2008 (para *Fusarium* spp) do CLSI/NCCLS.

Este estudo experimental foi realizado com fungos do banco de microorganismos do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal de Santa Maria. A atividade da sulfadiazina de prata 1% foi avaliada frente a 12 cepas de *Candida glabrata* (resistente ao fluconazol) e 29 cepas de *Fusarium* spp.

Primeiramente obteve-se a solução I, pesando-se 9,6mg de sulfadiazina de prata 1% e imediatamente solubilizando-a em 6ml de DMSO (dimetilsulfóxido) resultando uma concentração final de 1600 µg/ml.

Solução II: adicionou-se 160 µl da solução I e 3840 µl de caldo RPMI, obtendo-se uma solução de 4000 µl com concentração de 64 µg/ml.

Solução III: adicionou-se 80 µl da solução I e 3920 µl de caldo RPMI obtendo uma concentração final de 32 µg/ml.

Para as amostras de *Fusarium* spp. utilizou-se a solução III diretamente na microplaca, sendo que as concentrações finais foram: 16/8/4/2/1/0,5/0,25/0,125/0,06 µg/ml respectivamente. Para as amostras de *Candida glabrata* utilizou-se da solução II (mais concentrada), sendo que as concentrações finais foram 32/16/8/4/2/1/0,5/0,25/0,125µg/ml.

A seguir, realizaram-se as diluições em duplicata na microplaca de poliestireno com fundo chato, previamente contendo 100 µL de Caldo RPMI (exceto na primeira fileira), na seqüência o volume de 100µL do inóculo era inoculado em cada poço, exceto no controle negativo.

Preparação do inóculo fúngico:

***Candida glabrata*:** Após cultivos sucessivos em Ágar Sabouraud Dextrose a 35°C (cultura de 48hs) 5 colônias foram suspensas em solução salina estéril, seguida de homogeneização durante 15 segundos em vortex. A seguir, corrigia-se a turvação da suspensão em espectrofotômetro na transmitância de 88 a 92% no $\lambda = 530$ nm. Em seguida, realizavam-se diluições de 1:50 em salina e nova diluição 1:20 no caldo RPMI, resultando em $(1,5 - 1,0) \times 10^3$ células por mL.

***Fusarium* spp. :** Após o cultivo de 7 dias em Ágar Sabouraud Dextrose (35°C/2dias e 25°C/tempo restante), cobriu-se a massa fúngica com aproximadamente 1

ml de salina estéril acrescida de 1gtt de Tween 20 para facilitar a remoção dos conídios, fez-se uma leve raspagem com alça estéril. A seguir, verteu-se esta suspensão de conídios para um tubo de ensaio estéril, deixando em repouso por 5 minutos. A seguir, transferiu-se o sobrenadante para novo tubo de ensaio estéril e ajustou-se a concentração do inóculo em espectrofotômetro na transmitância de 68 a 70% no $\lambda = 530$ nm. Em seguida, a suspensão foi diluída 1:50 em caldo RPMI, estando pronta para inoculação das placas.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM):

As placas foram incubadas em aerobiose a 35°C durante 48hs para *Candida glabrata* e para as espécies de *Fusarium*. A determinação da Concentração Inibitória Mínima consistiu em registrar a menor concentração do agente antimicrobiano capaz de inibir o crescimento fúngico. A determinação das CIMs foi realizada em duplicata para cada espécie de fungo. Os controles negativos (ausência do crescimento) eram o próprio meio de cultura acrescido dos fármacos e isento de inoculação, o qual se manteve límpido após a incubação.

RESULTADOS

O perfil de susceptibilidade *in vitro* para os 12 isolados de *Candida glabrata*, que foram determinados frente à sulfadiazina de prata 1% encontram-se dispostos na tabela 1. A inibição do crescimento fúngico pode ser observado em 8 cepas distintas, num percentual de 66,6%.

Tabela 1. Concentração Inibitória Mínima de sulfadiazina de prata frente *Candida glabrata*

| <i>Candida glabrata</i> | CIM (µg/ml) |
|-------------------------|-------------|
| Cg01R | 16 |
| Cg02R | 16 |
| Cg03R | >32 |
| Cg04R | >32 |
| Cg05R | 8 |
| Cg06R | 32 |
| Cg07R | 32 |
| Cg08R | >32 |
| Cg09R | >32 |
| Cg10R | 16 |
| Cg11R | 32 |
| Cg12R | 8 |

A concentração inibitória mínima das 29 amostras de *Fusarium* spp. foram em sua grande maioria resistentes a sulfadiazina de prata 1%. Excepcionalmente uma amostra de *Fusarium chlamyosporum* foi susceptível a medicação testada como observado na tabela 2.

Tabela 2. Concentração Inibitória Mínima de sulfadiazina de prata frente a espécies de *Fusarium*.

| Cepas de <i>Fusarium</i> spp. | CIM ($\mu\text{g/ml}$) |
|---------------------------------------|--------------------------|
| <i>Fusarium chlamyosporum</i> (n=3) | >16 |
| <i>Fusarium chlamyosporum</i> (n=1) | 8 |
| <i>Fusarium moniliforme</i> (n=3) | >16 |
| <i>Fusarium nygamai</i> (n=1) | >16 |
| <i>Fusarium oxysporum</i> (n=6) | >16 |
| <i>Fusarium proliferatum</i> (n=2) | >16 |
| <i>Fusarium sporotrichoides</i> (n=1) | >16 |
| <i>Fusarium solani</i> (n=12) | >16 |

A CIM capaz de inibir 50% dos isolados de *Candida glabrata* (CIM₅₀) foi de 16 $\mu\text{g/ml}$ e a Concentração Inibitória Mínima capaz de inibir 90% dos isolados (CIM₉₀) foi de 32 $\mu\text{g/ml}$ com uma média geométrica de 16 $\mu\text{g/ml}$. Conforme demonstrado na tabela 3, a sulfadiazina de

prata 1% não evidenciou atividade antifúngica frente as diferentes espécies de *Fusarium* spp. estudados no presente estudo.

DISCUSSÃO

As infecções provocadas por *Fusarium* spp. em seres humanos podem ser locais superficiais, invasivas ou disseminadas. As primeiras ocorrem principalmente em decorrência de lesões traumáticas ou infecções secundárias a queimaduras. A queimadura representa um local suscetível à colonização por fungos oportunistas. Pacientes com fatores predisponentes como idade avançada, profundidade de lesão em combinação a utilização de antimicrobianos de largo espectro ficam muito mais susceptíveis a infecções fúngicas causadas por este patógeno (PRUITT, 1998).

O perfil de susceptibilidade "in vitro" com espécies de *Fusarium* tem demonstrado relativa resistência à maioria dos antifúngicos. No entanto diferentes espécies podem apresentar diferentes padrões de susceptibilidade, como visto nos resultados deste trabalho.

Infelizmente, com concentrações de 16/8/4/2/1/0,5/0,25/0,125/0,06 $\mu\text{g/ml}$ de sulfadiazina de prata 1% não se detectou atividade antifúngica importante frente à *Fusarium* spp. ; das 29 amostras analisadas, detectou-se apenas uma amostra sensível a sulfadiazina de prata.

Vale ressaltar a importância da correta identificação do fungo a partir da lesão, pois é dessa forma que se pode relacioná-los com a resistência primária aos agentes antifúngicos, sugerindo-se tratamento mais correto.

A recuperação de organismos não-bacterianos das feridas de queimaduras aumentou com o uso de agentes

Tabela 3. Parâmetros de suscetibilidade de *Candida glabrata* e *Fusarium* spp. frente à sulfadiazina de prata 1%

| Fungo | Faixa de susceptibilidade | CIM50 ($\mu\text{g/ml}$) | CIM90 ($\mu\text{g/ml}$) | Média geométrica |
|---------------------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------|
| <i>C. glabrata</i> (n=12) | 8 - >32 | >16 | 32 | 16 |
| <i>Fusarium chlamyosporum</i> (n=4) | 8 - >16 | >16 | >16 | >16 |
| <i>Fusarium moniliforme</i> (n=3) | >16 | >16 | >16 | >16 |
| <i>Fusarium nygamai</i> (n=1) | >16 | >16 | >16 | >16 |
| <i>Fusarium oxysporum</i> (n=6) | >16 | >16 | >16 | >16 |
| <i>Fusarium proliferatum</i> (n=2) | >16 | >16 | >16 | >16 |
| <i>Fusarium sporotrichoides</i> (n=1) | >16 | >16 | >16 | >16 |
| <i>Fusarium solani</i> (n=12) | >16 | >16 | >16 | >16 |

tópicos antibacterianos; espécies de *Candida* são os fungos mais frequentemente encontrados neste tipo de lesão, onde estão associadas com tempo excessivo de internação e alta taxa de mortalidade. Desta forma novas propostas terapêuticas tópicas tornaram-se importantes alvos de pesquisa, pois sendo a lesão uma porta de entrada a vários microorganismos um medicamento eficaz tanto para bactérias como para alguns tipos de fungos seria ideal para combater esse tipo de lesão.

O perfil de suscetibilidade de *C. glabrata* a sulfadiazina de prata 1% obtido no presente estudo caracterizou-se por faixa de suscetibilidade de 8 µg/ml a >32 µg/ml com média geométrica de 16 µg/ml; a CIM₅₀ = 16 µg/ml e CIM₉₀ = 32 µg/ml.

Tomando por base que dos 12 isolados de *C. glabrata* neste estudo analisados, 8 (66,6%) foram sensíveis a sulfadiazina de prata 1%, comprova-se a atividade antifúngica deste fármaco em relação a esta espécie. Sua atividade antifúngica pode estar relacionada a vários fatores como rápida atividade, lenta liberação de íons prata na ferida, aumentando seu tempo de ação, debridaçãõ de tecidos necrosados, combate a infecção local além de aumentar a taxa de reepitelização e de ser um dos principais agentes promotores da neovascularização (ABDALLA, 2003).

A sulfadiazina de prata 1% vem mostrando seus benefícios terapêuticos nas micoses sistêmicas desde 1940, o início da moderna antifungoterapia. De modo geral, as sulfas antagonizam o ácido para-aminobenzoico e inibem a síntese de ácido fólico pelo fungo (SIDRIM, 2004) Bult & Plug destacam em seu estudo que na aplicação tópica desta medicação, a prata é liberada lentamente ao redor da ferida, sendo que mais de 99% dos íons prata permanecem nesta região (Bult & Plug, 1984). Entretanto concentrações sistêmicas de sulfadiazina são detectáveis em alguns pacientes, pois, cerca de 10% de sulfadiazina pode ser absorvida. Dentro de 72 horas, 60 a 80% do fármaco absorvido pode ser recolhido na urina, quer como um metabólito ou em sua forma inalterada (AHUJA, 2008).

A biópsia é necessária para a confirmação de infecções por fungos que ocorrem em feridas graves, especialmente naquelas onde as defesas do hospedeiro estejam comprometidas. Como podemos observar neste estudo, diferentes espécies de fungos podem gerar diferentes resultados frente a um tipo de medicação específica. Dessa forma a identificação correta do fungo em questão e avaliação das atividades antifúngicas dos medicamentos utilizados na lesão é de importância para comprovação da terapêutica.

Por outro lado, o fato dos fungos do gênero *Fusarium* spp. evidenciarem resistência ao fármaco estudado, não significa um achado inusitado, pois, o perfil de suscetibilidade deste hifomiceto é de resistência a maioria dos antifúngicos disponíveis. Neste caso nossos resulta-

dos podem servir de alerta para preparações de colírios a base de sulfadiazina de prata que poderiam ser utilizadas na ceratites por *Fusarium*; com base na suscetibilidade das espécies avaliadas, tal uso estaria contra-indicado.

CONCLUSÕES

A escolha do agente tópico ou tipo de cobertura a ser utilizada no tratamento de queimaduras deve ser realizada com base na avaliação das características da ferida, bem como, em achados apresentados na literatura. A identificação correta do fungo em questão é extremamente importante para o devido tratamento a ser ministrado. A escolha dos agentes tópicos deve permitir a prevenção de infecção ou minimizar a proliferação de bactérias e fungos nas feridas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLA, S.; DADALTI, P. Uso da sulfadiazina de prata associada ao nitrato de cério em úlceras venosas: relato de dois casos. *An. Bras. Dermatol.* v.78, p.227-233, 2003.
- AHUJA, R.B.; GUPTA, A.; GUR, R. A prospective double-blinded comparative analysis of framycetin and silver sulphadiazine as topical agents for burns: A pilot study. *Burns.* v.35, p.672-676, 2008.
- ANDRADE et al. Curativo do paciente queimado: uma revisão de literatura. *Rev. Esc. Enferm.- USP.* v.37, p.44-51, 2003.
- BARNES et al. Evolutionary relationships among pathogenic *Candida* species and relatives. *J. Bacteriol.* v.173, p.2250-2255, 1991.
- BULT, A.; PLUG, C.M. *Silver sulfadiazine: Analytical Profile of drug substances.* (Ed.) K. Florey. 13.Ed. Academic Press, 1984. 569p.
- DIGNANI et al. Treatment of neutropenia-related fungal infections with granulocyte colony-stimulating factor-elicited white blood cell transfusions : a pilot study. *Leukemia.* v.11, p. 1621-1630, 1997.
- FIDEL, P.L.JR.; VAZQUEZ, J.A.; SOBEL, J.D. *Candida glabrata*: Review of Epidemiology, Pathogenesis, and Clinical Disease with Comparison to *C. albicans.* *Clin. Microbiol. Rev.* v.12, p.80-96, 1999.
- GUPTA et al. Epidemiology and molecular typing of *Candida* isolates from burn patients. *Mycopathologia.* v.158, p. 397-405, 2004.
- GUPTA et al. Interactions between bacteria and *Candida* in the burn wound. *Burns.* v. 31, p.375-378, 2005.
- HALEY, L. D. Yeasts of medical importance. *Am. J. Clin. Pathol.* v.36, p.227-234, 1961.
- HOFLING-LIMA et al. Estudo laboratorial das micoses oculares e fatores associados às Ceratites. *Arq. Bras. Oftalmol.* v.68, p.21-7, 2003.

- ISENBERG et al. Single source outbreak of *Candida tropicalis* complicating coronary bypass surgery. *J. Clin. Microbiol.* v.27, p.2426-2428, 1989.
- KNOKE, M.; SCHULZ, K.; Bernhardt, H. Dynamics of *Candida* isolations from humans from 1992–1995 in Greifswald, Germany. *Mycoses.* v.40, p.105–110, 1997.
- LEUNG et al. *Candida tropicalis* fungaemia in adult patients with haematological malignancies: clinical features and risk factors. *J. Hosp. Infect.* v.50, p.316–319, 2002.
- MOUSA, H.A. Aerobic, anaerobic and fungal burn wound infections. *J. Hosp. Infect.* v. 37, p.317-23, 1997.
- MOUSA, H.A.; BADER, S.M.; HASSAN, D.A. Correlation between fungi isolated from burn wounds and burn care units. *Burns.* v.25, p.145-147, 1998.
- MURRAY et al. Incidence of systemic fungal infection and related mortality following severe burns. *Burns.* v. 34, p.1108-1112, 2008.
- NCCLS, Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard-Third Edition, M27-A3. 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2002.
- NCCLS, Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standard-Second Edition, M38-A2, 2nd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
- NEDRET et al. Outbreak of nosocomial fungemia caused by *Candida glabrata*. *Mycoses.* v.45, p.470–475, 2002.
- NELSON, P. E.; DIGNANI, M.C.; ANAÏSSIE, E.J. Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. *J. Clin. Microbiol.* v. 7, p.479–504, 1994.
- NUCCI, M.; ANAÏSSIE, E. Cutaneous infection by *Fusarium* species in healthy and immunocompromised hosts: implications for diagnosis and management. *Clin. Infect. Dis.* v.35, p.909–920, 2002.
- NUCCI, M.; ANAÏSSIE, E. *Fusarium* Infections in Immunocompromised Patients. *Clin. Microbiol. Rev.* v. 20, p.695–704, 2007.
- ORDER et al. Arterial vascular occlusion and devitalization of burn wounds. *Ann. Surg.* v.161, p.502–8, 1965.
- PFALLER, M. A. Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs, and modes. *Clin. Infect. Dis.* v.22, p.S89–S94, 1996.
- PRUITT et al. Burn wound infections: current status. *World J. Surg.* v.22, p.135–45, 1998.
- RODRIGUEZ et al. Successful treatment of disseminated fusariosis. *Bone Marrow Transplantation.* v. 31, p. 411-412, 2003.
- SCHOFIELD et al. Correlation of culture with histopathology in fungal burn wound colonization and infection. *Burns.* v.33, p.341–346, 2007.
- SCHWAB et al. Molecular typing and fluconazole susceptibility of urinary *Candida glabrata* isolates hospitalized patients. *Diag. Microbiol. Infect. Dis.* v.29, p.11–17, 1997.
- SIDRIM, J.J.C.; ROCHA, M.F.G. (Ed.) *Micologia Médica à Luz de Autores Contemporâneos*. 1 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A, 2004, 408p.
- STENDERUP, A.; PEDERSON, G.T. Yeasts of human origin. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* v.54, p.462–472, 1962.
- STRUCK, M.F.; REICHEL, B.; STEEN, M. Hot Topic- Mycoses in burn patients. *Burns.* v.34, p.137-143, 2009.
- WHEELER et al. *Fusarium* infection in burned patients. *Am. J. Clin. Pathol.* v.75, p.304-311, 1981.
- WICKERN, G. M. *Fusarium* allergic fungal sinusitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* v.92, p.624–625, 1993.
- WRIGHT et al. Efficacy of topical silver against fungal burn wound pathogens. *J. Infect. Control.* v.27, p.44-50, 1999.