

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE
NÚCLEO DE PESQUISAS EM IMUNOLOGIA E DOENÇAS PARASITÁRIAS

José Moreira Neto Júnior

Perfil de infecções fúngicas e colonização por leveduras do gênero *Candida* em Juiz de Fora/Minas Gerais: etiologia, epidemiologia, fatores de virulência e perfil de susceptibilidade aos antifúngicos.

Juiz de Fora
2023

JOSÉ MOREIRA NETO JÚNIOR

Perfil de infecções fúngicas e colonização por leveduras do gênero *Candida* em Juiz de Fora/Minas Gerais: etiologia, epidemiologia, fatores de virulência e perfil de susceptibilidade aos antifúngicos.

Dissertação de Mestrado do Curso de Pós Graduação em Saúde: Área Pesquisa Pré-Clínica e de Inovação Tecnológica, para a obtenção do Título de Mestre em Saúde na área de Pesquisa Pré-Clínica e de Inovação Tecnológica.

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Galuppo Diniz

Coorientadora: Profa. Dra. Vanessa Cordeiro Dias

Juiz de Fora

2023

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Júnior , José Moreira Neto .

Perfil das infecções fúngicas causadas por leveduras do gênero Candida em Juiz de Fora/Minas Gerais: etiologia, epidemiologia, fatores de virulência e perfil de susceptibilidade aos antifúngicos. /José Moreira Neto Júnior . -- 2023.

94 f.

Orientador: Cláudio Galuppo Diniz
Coorientadora: Vanessa Cordeiro Dias

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Saúde Brasileira, 2023.

1. Candida . 2. Candidíase . 3. Infecções fúngicas . 4. Epidemiologia . I. Diniz , Cláudio Galuppo , orient. II. Dias , Vanessa Cordeiro , coorient. III. Título.

José Moreira Neto Júnior

Perfil de infecções fúngicas e colonização por leveduras do gênero *Candida* em Juiz de Fora, Minas Gerais: etiologia, epidemiologia, fatores de virulência e perfil de susceptibilidade aos antifúngicos.

Dissertação apresentada
Programa de Pós-
Graduação em Saúde
da Universidade Federal de
Juiz de Fora como requisito
parcial à obtenção do título
de Mestre em Saúde. Área
de concentração: Pesquisa
Pré-clínica e de Inovação
Tecnológica

Aprovada em 06 de dezembro de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Cláudio Galuppo Diniz - Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora

Profa. Dra. Vanessa Cordeiro Dias

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Andre Netto Bastos

Universidade Federal de Juiz de Fora

Profa. Dra. Luana Rossato

Universidade Federal da Grande Dourados

Juiz de Fora, 10/11/2023.



Documento assinado eletronicamente por **Claudio Galuppo Diniz, Professor(a)**, em 19/12/2023, às 13:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Vanessa Cordeiro Dias, Professor(a)**, em 19/12/2023, às 17:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Andre Netto Bastos, Professor(a)**, em 20/12/2023, às 09:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luana Rossato, Usuário Externo**, em 20/12/2023, às 09:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **1569702** e o código CRC **8718606B**.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, por abençoar e me permitir alcançar uma etapa tão importante em minha vida. Creio que Ele abriu todas as portas, me deu forças nos momentos mais difíceis e colocou pessoas especiais em meu caminho, que contribuíram significativamente para conclusão desta etapa.

À minha mãe, que é o meu maior exemplo como ser humano e minha base sólida. Sem ela certamente não estaria concluindo este ciclo, pois sempre atuou nos momentos mais importantes, seja em orações ou conselhos que me fizeram sempre acreditar que seria possível.

À minha família, que é meu maior tesouro, por todo suporte, apoio e por sempre me incentivarem a alcançar meus objetivos.

Ao meu orientador Cláudio Galuppo Diniz, por ter confiado no projeto desde o início, pelo suporte técnico e científico, por todo conhecimento compartilhado e pela paciência e carinho em todos os momentos. Você é um exemplo de conduta e de como um pesquisador deve amar aquilo que faz, sempre guardarei o respeito e a consideração pelo que fez por mim.

À minha coorientadora Vanessa Cordeiro Dias, que sempre considerei mais que uma parceira profissional, mas como uma amiga. Por ter me incentivado desde meus primeiros passos profissionais, sempre extraíndo de mim o melhor que eu poderia ser, e nunca me esquecerei do quanto você me ajudou e o quanto batalhamos pra esse projeto se concluir.

Ao Laboratório Côrtes Villela por acreditar em meu desempenho profissional e por me apoiar neste projeto.

Ao Dr. Ricardo, Dr. Marinho, Dr. André e Dr. Vitor pela compreensão, apoio e pelo imenso suporte dado através do laboratório, por terem me permitido fazer este mestrado concomitantemente ao meu trabalho e pela confiança depositada desde o princípio. Serei eternamente grato por tudo o que o Laboratório Côrtes Villela me proporcionou.

Aos meus amigos Daniel Motta, Haroldo Nemer, Marcos Henrique e José Avelino pelo incentivo e companheirismo durante todo este período.

Aos professores do Instituto de Ciências Biológicas – UFJF pelo apoio e ensinamentos compartilhados durante o estágio docente e aos alunos de pós-graduação do Centro de Estudos em Microbiologia (CEMIC-UFJF) por terem me auxiliado em toda parte experimental do projeto. Faço um agradecimento mais do que especial a Yasmim Passos, que durante seu estágio no CEMIC, contribuiu com imensa dedicação e de forma

muito significativa para este projeto.

Aos colegas que fiz nas turmas do mestrado pela parceria e conselhos que me guiaram muitas vezes durante esta trajetória.

Aos meus colegas do Laboratório Côrtes Villela pelo apoio, suporte, compreensão pela minha dupla jornada e também por assumirem minhas atribuições nos momentos em que precisei me ausentar.

RESUMO

Candida é o gênero fúngico mais implicado no cenário clínico. Algumas espécies são colonizadoras bem-sucedidas do hospedeiro humano, porém, sob certas circunstâncias, podem causar infecções que vão desde a candidíase superficial até a disseminada, com risco de vida. O presente estudo teve como objetivo avaliar a etiologia dessas infecções, de origem comunitária e hospitalar, os fatores de virulência, o perfil de susceptibilidade aos antifúngicos de interesse médico e determinar aspectos epidemiológicos dos indivíduos acometidos por estes processos infecciosos. Dois segmentos de pesquisa foram realizados: uma análise retrospectiva de 2020 e uma prospectiva de 2021 de prontuários eletrônicos de indivíduos hospitalizados e comunitários, atendidos por um serviço de microbiologia clínica, em Juiz de Fora, Minas Gerais. Em 2020, as leveduras foram isoladas de 126 indivíduos hospitalizados e 57 de indivíduos comunitários. Nos comunitários, o sexo feminino (n=47; 82,4%) foi predominante. *Candida* spp. *não albicans* foram as mais frequentemente recuperadas (n=36; 63,2%), sendo a urina (n=19; 33,5) o espécime clínico mais frequente. Dentre os indivíduos hospitalizados, os do sexo feminino também foram mais frequentes (n= 69; 54,7%), predominando aqueles com mais de 61 anos (n=94; 74,8%). *Candida* spp. *não albicans* foram as linhagens mais comuns (n=79; 62,7%). Terapia antifúngica foi prescrita para apenas (n=67; 23,2%) dos indivíduos após diagnóstico. O desfecho de óbito intra-hospitalar foi observado em (n=70; 55,6%) dos indivíduos. Em 2021, as leveduras foram isoladas de 63 indivíduos hospitalizados e de 39 indivíduos comunitários. Entre os indivíduos comunitários, o sexo feminino (n=26; 66,7%) foi predominante. *C. albicans* foi a mais frequentemente recuperada (n=20; 51,3%) entre os indivíduos comunitários e hospitalizados (n=39; 61,9%). Entre os hospitalizados, o sexo feminino também foi mais frequente (n= 32; 50,8%), predominando aqueles com mais de 61 anos (n=48; 76,2%). Terapia antifúngica foi prescrita para apenas (n=16; 25,4%) dos indivíduos após diagnóstico, sendo a Anfotericina B o antifúngico mais prescrito (n=6; 37,5%). O desfecho de óbito intra-hospitalar foi observado em (n=44; 69,8%) dos indivíduos. Das leveduras do estudo prospectivo a atividade hemolítica por *C. albicans* (n=33; 55,9%) e por *Candida* spp. *não albicans* (n=25; 58,1%) foi o fator de virulência mais manifestado. Fluconazol e voriconazol foram os antifúngicos com maior índice de resistência: (n= 47; 79,7%) para *C. albicans* e (n=23; 53,5%) para *Candida* spp. *não albicans*. Esses dados sobre a epidemiologia das candidíases contribuem para estratégias de prevenção, controle e propagação desses microrganismos.

Palavras-chave: *Candida*, candidíase, infecções fúngicas, epidemiologia.

ABSTRACT

Candida is the fungal genus most implicated in the clinical setting. Some species are successful colonizers of the human host, but under certain circumstances they can cause infections ranging from superficial candidiasis to life-threatening disseminated candidiasis. The present study aimed to evaluate the etiology of these infections, of community and hospital origin, the virulence factors, as well as the susceptibility profile to antifungals of medical interest, and to determine the epidemiological aspects of the individuals affected by these infectious processes, in order to provide data on the epidemiology, aiming to contribute to prevention, control and propagation strategies of these microorganisms. Two research follow-ups were carried out, a 2020 retrospective analysis and a 2021 prospective analysis of electronic medical records of hospitalized and community-based individuals, assisted by a clinical microbiology service, in Juiz de Fora, Minas Gerais. In 2020, yeasts were isolated from 126 hospitalized individuals and 57 from community individuals. In community members, females (n=47; 82.4%) were predominant. Non-*albicans Candida* spp. were the most frequently retrieved (n=36; 63.2%), with urine (n=19; 33.5) being the most frequent clinical specimen. Among hospitalized individuals, females were also more frequent (n=69; 54.7%), with a predominance of those over 61 years old (n=94; 74.8%). Non-*albicans Candida* spp. were the most common strains (n=79; 62.7%). Antifungal therapy was prescribed for only (n=67; 53.2%) subjects after diagnosis. The outcome of in-hospital death was observed in (n=70; 55.6%). In 2021, yeasts were isolated from 63 hospitalized individuals and 39 community individuals. Among community individuals, females (n=26; 66.7%) were predominant. *Candida albicans* was the most frequently recovered (n=20; 51.3%) among community and hospitalized individuals (n=39; 61.9%). Among those hospitalized, females were also more frequent (n=32; 50.8%), with a predominance of those over 61 years of age (n=48; 76.2%). Antifungal therapy was prescribed for only (n=16; 25.4%) of the individuals after diagnosis. The outcome of in-hospital death was observed (n=44; 69.8%). Of the yeasts in the prospective study, hemolytic activity by *C. albicans* (n=33; 55.9%) and by non-*albicans Candida* spp. (n=25; 58.1%) was the most common virulence factor. Fluconazole and voriconazole were the antifungals with the highest resistance index: (n= 47; 79.7%) for *C. albicans* and (n=23; 53.5%) for non-*albicans Candida* spp. These data on the epidemiology of candidiasis contribute to strategies for the prevention, control and spread of these microorganisms.

Keywords: *Candida*, candidiasis, fungal infections, epidemiology.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Oligoiniciadores usados para identificação de espécies clinicamente relevantes de <i>Candida</i> , tamanhos dos fragmentos esperados visualizados em eletroforese de gel de agarose e condições de amplificação.	28
Tabela 2: Aspectos epidemiológicos e microbiológicos dos indivíduos comunitários com infecção por <i>Candida</i> spp. (n=57).	33
Tabela 3: Aspectos epidemiológicos e microbiológicos dos indivíduos hospitalizados com infecção por <i>Candida</i> spp. (n=126).	34
Tabela 4: Prescrição de drogas antimicrobianas antes e após o diagnóstico de infecção fúngica nos indivíduos hospitalizados (n=126).	36
Tabela 5: Aspectos epidemiológicos e microbiológicos dos indivíduos comunitários com infecção por <i>Candida</i> spp. (n=39).	38
Tabela 6: Aspectos epidemiológicos e microbiológicos dos indivíduos hospitalizados com infecção por <i>Candida</i> spp. (n=63).	39
Tabela 7: Produção de fatores de virulência por espécies de <i>Candida</i> spp. isoladas de indivíduos comunitarios e hospitalizados.....	43
Tabela 8: Teste de susceptibilidade aos antifungicos de <i>Candida</i> spp. isoladas de indivíduos comunitarios e hospitalizados.....	44
Tabela 9: Avaliação estatística dos fatores de virulencia x desfecho clínico dos isolados de <i>Candida</i> spp. <i>não albicans</i>	45
Tabela 10: Avaliação estatística dos fatores de virulencia x desfecho clínico dos isolados de <i>Candida albicans</i> (2021).	46

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 INFECÇÃO FÚNGICA E FATORES DE RISCO	2
2.2 FATORES DE VIRULÊNCIA	9
2.2.1 Hemolisinas.....	10
2.2.2 Coagulase	11
2.2.3 Catalase	12
2.2.4 Slime e produção de biofilme	14
2.3 TERAPIA ANTIFÚNGICA	15
2.3.1 Equinocandinas	17
2.3.2 Derivados Poliênicos.....	19
2.3.3 Derivados Azólicos.....	20
2.4 DIAGNÓSTICO DAS INFECÇÕES FÚNGICAS POR <i>Candida</i>	21
3 OBJETIVOS	23
3.1 OBJETIVO GERAL.....	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1 DESENHO EPIDEMIOLÓGICO E POPULAÇÃO A SER AMOSTRADA.....	23
4.2 COLETA E PROCESSAMENTO DOS ESPÉCIMES CLÍNICOS.....	26
4.3 IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES DE <i>Candida</i>	26
4.4 EXTRAÇÃO DE DNA DAS LEVEDURAS ISOLADAS	26
4.5 IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DAS LEVEDURAS	27
4.6 FATORES DE VIRULÊNCIA	29
4.6.1 Avaliação da capacidade hemolítica – Produção de hemolisinas	29
4.6.2 Detecção da produção de biofilme	29
4.6.3 Detecção da produção da enzima coagulase.....	30
4.6.4 Produção de slime.....	30
4.6.5 Detecção da produção da enzima catalase	30
4.7 TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIFÚNGICOS	31
4.8 INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO: OBSERVAÇÃO DE PRONTUÁRIOS	31
4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
5 RESULTADOS	32
5.1 ESTUDO RETROSPECTIVO (2020).....	32

5.2 ESTUDO PROSPECTIVO (2021).....	37
6 DISCUSSÃO	46
7 CONCLUSÃO	52
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
ANEXO A	66

1 INTRODUÇÃO

A morfologia da maioria das espécies de *Candida* consiste em células elípticas, redondas ou ovaladas, coráveis pelo método de Gram, com aspecto morfotintorial compatível com Gram positivo. São microrganismos eucariontes, desprovidos de pigmentos fotossintetizantes, que possuem parede celular composta basicamente por quitina e uma membrana plasmática fosfolipídica que contém vários esteróis, com predomínio do ergosterol, e que crescem exponencialmente em forma de blastoconídios.

Dentre as espécies associadas ao gênero, relacionadas a doenças em seres humanos, destacam-se: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. metapsilosis*, *C. orthopsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. dubliniensis*, *C. pelliculosa*, *C. kefyr*, *C. lipolytica*, *C. famata*, *C. inconspícua*, *C. rugosa*, *C. norvegensis*, entre outras. Mais recentemente, *C. auris* vem sendo reportada em todo mundo como patógeno emergente e causando preocupação em decorrência da expressão de inúmeros fatores de virulência, como a resistência a múltiplos antifúngicos. Devido à sua propensão a causar surtos e à sua resistência aos antifúngicos, a *C. auris* representa um risco para os indivíduos nos estabelecimentos de saúde.

Essas leveduras estão presentes como constituintes da microbiota na cavidade oral, pele, trato gastrointestinal, região genital, dentre outros órgãos. Com isso, os processos infecciosos causados por este gênero fúngico podem ser de origem endógena e de origem exógena, quando as leveduras estão presentes no meio externo, oriundas de superfícies hospitalares e de dispositivos invasivos, das mãos de profissionais de saúde e até mesmo do manejo inadequado dos indivíduos.

A presença de fatores predisponentes contribui para o desenvolvimento das candidíases, tais como o sistema imunológico debilitado (indivíduos submetidos à quimioterapia, envolvidos em transplante de órgãos, entre outros), diabetes, uso de terapia antimicrobiana prolongada e a população idosa, devido a todos os componentes biofisiológicos que envolvem o processo de envelhecimento.

A candidemia é a principal causa de morbidade e mortalidade dentre as infecções fúngicas no ambiente hospitalar, e sua incidência vem aumentando devido à crescente complexidade clínica dos pacientes. *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. krusei* representam mais de 95% de todos os casos diagnosticados, mas sua frequência relativa pode variar dependendo da região geográfica, exposição antifúngica

prévia, população envolvida e idade do indivíduo. A pneumonia causada por espécies de *Candida* deve ser destacada, uma vez que essas leveduras participam da microbiota orofaríngea e das vias respiratórias superiores, sendo frequentemente associadas a infecções hospitalares. Estudos recentes destacam também o aumento da incidência de candidúria em pacientes hospitalizados, devido ao uso de dispositivos de demora, terapia antimicrobiana de longo prazo, nutrição parenteral e imunossupressão.

Assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar a etiologia das infecções causadas por *Candida*, tanto de origem comunitária quanto hospitalar e investigar aspectos clínicos e epidemiológicos dos pacientes acometidos, pois este é um passo importante para o conhecimento dos riscos associados às estas patologias e também para minimizar impactos de terapia antibacteriana inapropriada e terapia antifúngica empírica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 INFECÇÃO FÚNGICA E FATORES DE RISCO

Devido ao incremento na sobrevivência de pacientes com algum tipo de imunossupressão, como vírus da imunodeficiência humana, o uso de modificadores imunológicos, o recebimento de transplantes de órgãos sólidos e os progressos obtidos no campo da medicina, seja ela clínica e/ou laboratorial, contribuíram para o aumento da incidência de infecções fúngicas - as micoses - em todo o mundo. Nos consultórios médicos, principalmente em países tropicais, diariamente são observados diferentes casos de micoses nos mais diversos sítios anatômicos (Lockhart e Guarner, 2019).

Atualmente, infecções fúngicas são consideradas um problema de saúde pública, devido à alta prevalência e aumento de sua incidência nas últimas décadas. Além do exposto, essas infecções são de interesse especial em saúde pública pelo aumento da ocorrência de resistência às medicações antifúngicas, atualmente disponíveis e utilizadas na rotina médica, que podem refletir em altos custos de tratamento (Maria et al., 2022).

Os fungos são importantes constituintes da microbiota humana. Em determinadas circunstâncias, podem causar infecções em hospedeiros imunocomprometidos, sendo referidos como patógenos oportunistas. Em tempos atuais, vividos após a pandemia, indivíduos com coinfeções fúngicas associadas à COVID-19, com condições

predisponentes e medicamentos imunossupressores, estão apresentando maior gravidade e morte (Naveen et al., 2022).

Em 2022, foi publicado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) um relatório apresentando a primeira lista de patógenos fúngicos prioritários. Essa pesquisa selecionou dezenove fungos que retratam ameaça à saúde pública e estes foram divididos em três categorias de prioridade, dentre elas, encontramos as seguintes espécies do gênero *Candida*: crítica (*Candida auris* e *Candida albicans*), alta (*Candida glabrata*, *Candida tropicalis* e *Candida parapsilosis*) e média (*Candida krusei*). Essa classificação foi exposta, sobretudo, em função do impacto na saúde pública e também pelo risco emergente de resistência a antifúngicos exibidos por esses fungos (Who, 2022).

As infecções causadas por *Candida* podem ser classificadas como: infecção superficial, cutânea, mucosa e sistêmica (profunda e disseminada). Quando *Candida* spp. infecta a cavidade oral, pele, genitália, sistema respiratório, e o resto do trato gastrointestinal, a infecção é classificada como do tipo superficial. Já a candidíase invasiva é uma infecção caracterizada por condições extremamente graves, como a candidemia, onde a levedura atinge a corrente sanguínea; meningite quando afeta o cérebro e endocardite quando acomete o coração (De Rosa et al., 2009).

Nos últimos anos, estudos ainda apontam a *Candida albicans* como a espécie mais frequentemente isolada nos casos de candidíase, porém, ao mesmo tempo, observa-se um aumento no isolamento de algumas espécies consideradas como emergentes. Infecções causadas por *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Candida dubliniensis* e *Candida auris* são atualmente causas de grande preocupação, pois são considerados como patógenos oportunistas emergentes, que torna necessária a identificação das leveduras do gênero em nível de espécie e o conhecimento de seus padrões de suscetibilidade para a elaboração de uma terapia antifúngica correta, o que pode contribuir para a redução das taxas de mortalidade atribuídas a essas infecções (Caceres et al., 2019).

As infecções por *Candida* podem ser assintomáticas devido à capacidade do sistema imunológico do indivíduo imunocompetente impedir sua disseminação pelo organismo. No entanto, depleção no sistema imunológico, alterações no equilíbrio da microbiota, rupturas nas barreiras cutânea e gastrointestinal (por exemplo, devido à perfuração gastrointestinal) juntamente com outros fatores, podem facilitar a sua disseminação e ao desenvolvimento de processos infecciosos, muitas vezes fatais (Dadar

et al.,2018). Assim, as leveduras pertencentes a este gênero representam uma ameaça real, principalmente para pessoas imunocomprometidas ou indivíduos hospitalizados por longos períodos (Czechowicz et al, 2022).

Em pacientes hospitalizados e com sistema imunológico comprometido, a infecção invasiva é uma causa significativa de morbidade e mortalidade, com altas taxas de incidência e prevalência. A candidemia é a quarta infecção da corrente sanguínea associada à assistência à saúde e a infecção fúngica grave mais frequente que se desenvolve em pacientes críticos em unidades de terapia intensiva (UTIs); é uma importante condição clínica que prolonga o tempo de internação e aumenta a morbimortalidade e os custos hospitalares. Alguns fatores de risco comuns para o desenvolvimento de candidemia incluem: tratamento prolongado em unidades de terapia intensiva, cateteres venosos centrais, cirurgia GI, politraumatismo, extremos de idade, imunossupressão, neutropenia, tumores sólidos e neoplasias hematológicas. Cateteres venosos centrais (CVCs) e outros dispositivos intravasculares são comumente implicados em pacientes com candidemia, mas outras fontes devem ser consideradas, especialmente entre pacientes neutropênicos, nos quais o trato gastrointestinal é uma fonte comum (Bassetti et al., 2019).

Um estudo conduzido por Vannini e colaboradores (2022) avaliou a epidemiologia da candidemia durante um período de cinco anos. 304 linhagens foram isoladas e as três *Candida* spp. mais comumente isoladas de hemoculturas no presente estudo foram *C. albicans* (44%), *C. glabrata* (22%) e *C. parapsilosis* (13%). Um estudo nacional conduzido por Brandt e colaboradores (2022), avaliou aspectos epidemiológicos das candidemias durante o período de pandemia da COVID-19. Neste estudo, foram analisados 89 pacientes com hemocultura positiva para *Candida*, sendo que 26 (29,2%) tinham infecção pela COVID-19 e as principais espécies causadoras da candidemia foram *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis* tanto nos pacientes com COVID-19 como nos demais, com uma tendência em maior incidência de *C. krusei* nos pacientes com COVID-19. Os achados do presente estudo corroboram com a elevada incidência de candidemia em pacientes com COVID-19 e sua associação com o uso de corticoides e necessidade de cuidados intensivos.

A incidência de candidemia e a proporção de *Candida* spp. *não albicans* responsáveis por este quadro clínico vem aumentando consideravelmente, levando a um prolongamento do tempo de internação, aumento da mortalidade e custos mais elevados

com a terapêutica. Diante disso, o conhecimento da epidemiologia local da candidemia se torna crucial para prevenção e cuidados adequados. A mudança no perfil de resistência que pode estar associada à identificação assertiva das espécies do gênero pode mostrar mudanças necessárias na terapia empírica, mas, principalmente, auxiliar uma terapia antifúngica mais adequada (Papadimitriou-Olivgeris et al., 2019).

No contexto das patologias fúngicas que acometem indivíduos em comunidade, fora do ambiente hospitalar, as vulvovaginites, principal queixa nas consultas ginecológicas, também merecem destaque. Estima-se que a candidíase vulvovaginal (CVV) seja a segunda causa mais comum de vaginite após a vaginose bacteriana, sendo a *Candida albicans* responsável por 85% a 90% dos casos. Pode-se definir a candidíase vulvovaginal como uma vaginite sintomática (inflamação da vagina), que frequentemente envolve a vulva (eritema e inchaço), de origem infecciosa. Os fatores de risco para candidíase vulvovaginal incluem a gravidez e outras situações que aumentam os níveis de estrogênio (por exemplo, uso de anticoncepcionais e terapia com estrogênio), diabetes mellitus, imunossupressão e antibióticos sistêmicos de uso prolongado. A incidência de candidíase vulvovaginal aumenta com o início da atividade sexual, mas não são encontradas evidências diretas de que a candidíase vulvovaginal seja sexualmente transmissível (Martin Lopez, 2015).

Segundo o estudo nacional conduzido por Medeiros e colaboradores (2022), no Brasil, a maior incidência de candidíase vulvovaginal é causada por *C. albicans*, que foi relatada por estudos epidemiológicos em 92,3% dos casos. Porém, outro estudo nacional conduzido por Pereira (2021), avaliou as perspectivas atuais da candidíase vulvovaginal, com participantes com suspeitas clínicas sintomáticas e assintomáticas em consulta ginecológica, tendo as espécies isoladas com maior frequência: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* respectivamente, mas ressaltando como agentes etiológicos de CVV emergentes nas duas últimas décadas, espécies de *Candida* spp. não *albicans*, outrora tidas como apenas comensais, tais como *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*. Devido aos altos índices de recorrência de CVV em função das poucas opções terapêuticas, sugere-se atualmente tratamentos alternativos não azólicos, uma vez que esta classe de antifúngicos apresentam falhas terapêuticas sobre determinadas espécies.

Dentro do contexto das infecções fúngicas causadas por *Candida* spp., a candidíase orofaríngea é uma infecção oportunista da mucosa, causada na maioria dos casos, pela *Candida albicans*. Também pode ser causada por outras espécies, como *C.*

glabrata, *C. tropicalis* e *C. krusei*. Os quatro principais tipos de candidíase orofaríngea são: (1) pseudomembranosa (aftas); (2) eritematosa; (3) hiperplásica e (4) estomatite induzida por dentadura (Pankhurst, 2013). Estima-se que a *Candida* é um fungo presente na cavidade oral de até 60% das pessoas saudáveis, mas a manifestação de um processo infeccioso está associada a fatores como imunossupressão, diabetes, antibióticos de amplo espectro e uso de corticosteróides. A candidíase orofaríngea é a manifestação oral mais comum da infecção pelo HIV. As pessoas soropositivas para o HIV podem apresentar candidíase orofaríngea recorrente e se não tratada persiste por meses ou anos, a menos que os fatores de risco associados sejam tratados ou eliminados (Pankhurst, 2013).

Um estudo nacional conduzido por Goulart e colaboradores (2018) avaliou a colonização oral por espécies de *Candida* em 197 indivíduos HIV positivos. A colonização oral por espécies de *Candida* foi detectada em 51,3% dos pacientes, sendo *C. albicans* a espécie mais comum (80%), seguida por *C. glabrata* (14%), *C. tropicalis* (4%) e *C. krusei* (2%), indicando também a relevância da identificação precisa das espécies de *Candida* para a seleção adequada do agente terapêutico em pacientes com candidíase oral. Um estudo conduzido por Nouraei e colaboradores (2021) avaliou a patogenicidade das espécies de *Candida* isoladas da cavidade oral de pacientes com Diabetes Mellitus. Um total de 108 linhagens, sendo 75 de *Candida albicans* e 33 de *Candida* spp. não *albicans* foram recuperadas e fatores de virulência associados a essas leveduras, mostraram-se cruciais na patogênese e na gravidade dos sinais e sintomas das infecções da cavidade oral por *Candida* spp., em pacientes diabéticos.

A onicomicose é definida como a infecção ungueal causada por fungos, responsável por aproximadamente 50% de todos os distúrbios associados às unhas. Vários fungos podem causar essa infecção. Um dos principais causadores é a *Candida* spp., sendo a terceira causa mais comum de onicomicose (Widaty et al., 2020). A *Candida* spp., é um comensal que pode ser um dos microrganismos que estão presentes na unha e é muitas vezes causa de infecção em pacientes imunossuprimidos, como na imunodeficiência humana (HIV), ou com distúrbios endócrinos e doenças imunológicas. Indivíduos que exercem determinadas funções (como pescadores, donas de casa e agricultores cujas mãos estão expostas a umidade) e fatores como tabagismo, desnutrição, trauma ungueal e doenças vasculares periféricas também podem contribuir para a incidência de infecção por *Candida* nas unhas (Jayatilake et al., 2009). A idade

avançada também desempenha um papel no desenvolvimento de onicomicose, uma vez que indivíduos mais envelhecidos possuem como característica a diminuição do crescimento das unhas, má circulação, menos consciência para unhas danificadas e sistema imunológico mais debilitado (Widaty et al., 2020).

Um estudo conduzido por Paškevičius e colaboradores (2020), determinou a distribuição das espécies de *Candida* em onicomicoses e a análise in vitro do perfil de susceptibilidade dessas espécies. Um total de 8.149 casos clínicos-ambulatoriais e de pacientes internados de onicomicoses foram investigados, sendo a *C. albicans* (38,6%) a espécie mais isolada, seguida por *C. krusei* (33,7%), *C. tropicalis* (11,1%), *C. parapsilosis* (7,9%) e outras espécies do gênero (8,7%). Os autores reiteram que a identificação das espécies, bem como a análise do perfil de susceptibilidade são fundamentais para um diagnóstico mais assertivo e com maiores chances de sucesso no tratamento das onicomicoses.

A Candidúria, caracterizada pela presença de espécies de *Candida* na urina, é um achado clínico comum, particularmente em pacientes hospitalizados. O isolamento de *Candida* spp. de uroculturas pode indicar colonização, sendo a grande maioria dos pacientes assintomáticos; infecção do trato urinário (cistite, pielonefrite, prostatite, entre outros), mas também pode indicar uma candidíase sistêmica grave ou até mesmo candidemia. A descoberta de espécies de *Candida* em amostras de urina representa hoje um desafio diagnóstico e terapêutico para médicos que atuam tanto na atenção primária ou em doenças infecciosas, quanto em medicina intensiva e cirurgia. A presença de espécies de *Candida* na urina pode representar várias condições que requerem uma interpretação cuidadosa do laudo, desde contaminação da amostra até infecções do trato urinário, incluindo candidíase disseminada (Odabasi e Mert., 2020).

O uso de sonda vesical de demora, obstrução urinária, internação em unidades de terapia intensiva, idade avançada, a anatomia favorável do sexo feminino, anormalidades do trato urinário, cateteres de drenagem usados em pacientes hospitalizados, diabetes, neoplasias, assim como o uso de antibióticos de amplo espectro, corticoides e agentes imunossupressores, são condições de alto risco para o desenvolvimento de infecções do trato urinário (Odabasi e Mert., 2020).

Um estudo conduzido por Pramodhini e colaboradores (2021) fez a avaliação dos fatores de virulência e padrão de suscetibilidade antifúngica de leveduras do gênero *Candida*. Foram obtidos 70 isolados, sendo a *C. tropicalis* a espécie isolada com maior

frequência (65,7%), seguida por *C. albicans* (14,3%), *C. glabrata* (7,1%), *C. krusei* (5,7%), *C. parapsilosis* (4,3%) e *C. dubliniensis* (2,9%). Uma tendência crescente no isolamento de *Candida* spp. não *albicans* de isolados urinários foi observada e, devido a isto, o isolamento dessas leveduras no ITU - que são intrinsecamente resistentes tanto a certos agentes antifúngicos, como os azólicos, quanto ao aumento da incidência de resistência a antifúngicos - é essencial para monitorar o perfil de suscetibilidade antifúngica das espécies de *Candida* causadoras de candidúria.

Um estudo nacional conduzido por Santana e colaboradores (2019) avaliou o perfil epidemiológico de indivíduos com candidúria e a análise da mortalidade dos participantes. Os resultados sobre a epidemiologia dessas infecções no presente estudo foram: um total de 93 pacientes com candidúria foram avaliados e *Candida tropicalis* foi encontrada mais comumente (n=35; 37,6%), seguida por *Candida albicans* (n=34; 36,6%), *Candida glabrata* (n=18; 19,3%), complexo de psilose (n=4; 4,3%), *Candida lusitanae* (n=1; 1,1%) e *Candida krusei* (n=1; 1,1%). Além disso, a antibioticoterapia (100%) e o uso de sonda vesical de demora (n=83; 89,2%) foram os fatores predisponentes mais frequentes. As taxas de mortalidade foram 48% maiores entre os pacientes com candidúria e insuficiência renal. O estudo mostrou que fatores predisponentes estão relacionados à candidúria, mas que apesar da alta prevalência em pacientes hospitalizados, a presença de *Candida* na urina ainda tem significado incerto devido à falta de critérios bem estabelecidos para auxiliar o diagnóstico.

A pneumonia causada por espécies de *Candida* deve ser mencionada, uma vez que essas leveduras constituem a microbiota orofaríngea e das vias respiratórias superiores. Cerca de 80% das espécies são conhecidas por causarem infecções nosocomiais e, com isso, são mais frequentemente isoladas de secreções respiratórias em pacientes ventilados, devido à invasão pulmonar durante a disseminação hematogênica ou aspiração de conteúdo orofaríngeo ou gástrico previamente colonizado, pois a colonização do epitélio respiratório por espécies de *Candida* é um pré-requisito para infecções invasivas. A pneumonia por *Candida* é uma infecção vista como parte de uma infecção disseminada associada a circunstâncias clínicas predisponentes, como uso indevido de antibióticos e pacientes imunossuprimidos (Pendleton et al., 2017). A existência de pneumonia por *Candida* tem sido amplamente debatida ao longo dos anos devido à sua raridade e presença de colonização frequente. A demonstração de espécies de *Candida* por biópsia pulmonar, juntamente com evidência de inflamação, é atualmente

a única maneira de confirmar esta entidade. A interpretação da *Candida* em espécimes respiratórios e a decisão de iniciar a terapia antifúngica é controversa devido à falta de evidências clínicas (Meena e Kumar, 2022).

Considerações em relação ao tratamento da pneumonia por *Candida* são amplamente debatidas com a falta de diretrizes práticas, devido à raridade da doença e dificuldade no diagnóstico. A interpretação entre os clínicos sobre o isolamento de espécies de *Candida* é variável, podendo ser por contaminação, comensalismo, colonização ou doença invasiva. Assim, a decisão sobre a terapia antifúngica em tais indivíduos permanece controversa. Além disso, fatores como resistência aos medicamentos antifúngicos, os efeitos adversos e o custo do tratamento são as principais preocupações em casos de terapia antifúngica inadvertida (Meena e Kumar, 2022).

2.2 FATORES DE VIRULÊNCIA

Os fungos são uma causa comumente subestimada de doenças graves associadas à alta morbidade e mortalidade. A sobrevivência e crescimento de determinados fungos no hospedeiro, bem como os danos causados, podem estar associados a fatores de virulência. Nas infecções fúngicas, dois processos são necessários para a patogênese: o primeiro deles está relacionado à sobrevivência e crescimento do microrganismo infectante e o segundo, ao dano causado no hospedeiro, que irá promover uma ruptura da homeostase e, conseqüentemente, a aparição de sintomas da doença (Brunke et al., 2016).

A sobrevivência de microrganismos dentro do hospedeiro é essencial para o estabelecimento inicial de uma infecção. Atributos necessários para esta sobrevivência e posterior reprodução podem ser de natureza geral, como por exemplo, metabolismo de nutrientes ou específicos para hospedeiros, como fatores de invasão. Estes atributos microbianos adicionais são denominados de "fatores de virulência" (Brunke et al., 2016).

Os principais fatores de virulência encontrados em *Candida* spp. são: termotolerância, presença de adesinas, barreiras de membrana e parede celular, formação de biofilme, expressão de genes de resistência aos antifúngicos, produção de toxinas, formação de tubo germinativo, bem como a produção de enzimas extracelulares, tais como fosfolipases, proteinases e hemolisinas (Staniszewska., 2020). Considerando o surgimento de novas espécies de *Candida* e o aumento de imunossuprimidos na

população mundial devido à síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), câncer e outras doenças imunossupressoras, a prevenção e controle de infecções fúngicas são desafios contínuos, que estimulam a pesquisa sobre os fatores de virulência da *Candida* spp. e a resposta imunológica ao fungo. Entendendo as interações entre os fungos, seus fatores de virulência e o sistema imunológico do hospedeiro, também se pode permitir o desenvolvimento de novos tratamentos antifúngicos, como imunoterapias ou vacinas antifúngicas. Por consequência, há interesse no estudo dos fatores de virulência destas leveduras, para a definição de estratégias de controle com antifúngicos e medidas preventivas. Hoje, entender os fatores de virulência se torna fundamental para determinar a patogênese das candidíases, as peculiaridades de cada espécie, além de contribuir para a descoberta de possíveis novos fármacos antifúngicos e também para regimes terapêuticos mais adequados (Oliver et al., 2019).

2.2.1 Hemolisinas

A capacidade de produzir enzimas como as hemolisinas é um importante fator de virulência do gênero *Candida*. A atividade hemolítica permite que as leveduras adquiram ferro dos tecidos do hospedeiro, que posteriormente será utilizado pelo fungo para o seu metabolismo, crescimento e invasão durante o processo infeccioso, uma vez que o ferro é um elemento essencial para quase todos os organismos, tanto unicelulares quanto multicelulares (Furlaneto et al., 2018).

O ferro pode ser encontrado em algumas proteínas, dentre elas a hemoglobina - que faz parte da composição dos eritrócitos - e a capacidade de utilização da hemoglobina para obtenção de ferro por leveduras do gênero *Candida* foi descrita pela primeira vez por Moors e colaboradores (1992), que demonstrou que, para ocorrer essa obtenção, a levedura deve possuir um mecanismo que destrua a porção heme, permitindo consequentemente a extração do ferro elementar. As enzimas responsáveis por tal atividade são denominadas hemolisinas. No estudo citado, mostra-se ainda que um dos primeiros passos no processo infeccioso da *C. albicans* é a ligação aos eritrócitos por meio de receptores do sistema complemento. Posteriormente a esse processo, ocorre a produção de uma manoproteína que é um fator de hemólise e que provoca a lise dos eritrócitos, favorecendo a proliferação da levedura nos sítios de infecção.

A capacidade de indução de hemólise por leveduras do gênero *Candida* in vitro em

sangue de carneiro foi descrita pela primeira vez por Manns e colaboradores (1994), neste estudo foi observado que as leveduras exibiam uma atividade hemolítica ao ser cultivada em ágar com sangue enriquecido, revelada por um anel ao redor das colônias, concluindo, assim, que o fator hemolítico pode ser secretado também em um meio de crescimento. Luo e colaboradores (2001) conduziram o primeiro estudo a demonstrar os perfis variáveis de expressão de hemolisinas por diferentes espécies de *Candida* e a fazer a classificação do perfil hemolítico em beta hemólise (hemólise total das hemácias), alfa hemólise (hemólise parcial das hemácias) e gama hemólise (ausência de hemólise).

Outro estudo nacional conduzido por Riceto e colaboradores (2015) avaliou a atividade enzimática e hemolítica nas diferentes espécies de *Candida*. Cinquenta linhagens de *Candida* spp. distribuídas como *C. albicans* (15), *C. tropicalis* (15), *C. parapsilosis* (10), *C. glabrata* (5) e *C. krusei* (5) foram isoladas de diferentes espécimes clínicos (sangue, sinovial e líquidos peritoneais), obtidos da Escola Técnica de Saúde da Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais. Os resultados mostraram que 48 (96%) dos 50 isolados mostraram atividade hemolítica. Os autores reforçam a ideia de que os fatores de virulência devem ser amplamente investigados na tentativa de explicar as diferenças de patogenicidade de vários isolados fúngicos, incluindo *Candida* spp., bem como para entender melhor a relação parasita-hospedeiro.

Na literatura, o limitado número de estudos abrangentes avaliando a hemólise promovida por espécies de *Candida* se mostra evidente. Embora a capacidade hemolítica possa ser demonstrada pelas principais espécies patogênicas de *Candida*, muitas questões ainda precisam ser respondidas, incluindo a natureza bioquímica do processo hemolítico e a base molecular da expressão do fator hemolítico. Por fim, pesquisas futuras são necessárias para elaborar ainda mais o papel da atividade hemolítica na patogênese da *Candida* (Furlaneto et al., 2018).

2.2.2 Coagulase

A coagulase é uma enzima produzida por alguns microrganismos que atua se ligando ao fibrinogênio e ativando uma cascata de reações que induz o plasma sanguíneo a coagular. A ativação da coagulação é um sistema de resposta precoce em qualquer forma de dano tecidual, devido a traumas ou a patógenos invasores. A avaliação da produção desta enzima é muito utilizada na identificação de *Staphylococcus aureus*,

porém, estudos comprovam a produção desta enzima por algumas espécies de *Candida*. Dentre eles, destaca-se o feito por (Rodrigues et al., 2003), sendo um dos trabalhos pioneiros na avaliação da produção da coagulase por essas leveduras usando o teste em tubo de coagulase com plasma de coelho após 24 horas de incubação. Um total de 161 isolados clínicos de *Candida* (isolados do sangue, secreções respiratórias, secreções genitais, fezes e urina) representando seis espécies diferentes - *C. albicans* (70), *C. tropicalis* (23), *C. glabrata* (25), *C. parapsilosis* (29), *C. krusei* (11) e *C. guilliermondii* (3) - foram selecionados. De acordo com os resultados que envolveram um número considerável de linhagens, a atividade enzimática foi quase onipresente entre *C. albicans*, comum em *C. tropicalis*, ocasional em *C. parapsilosis* e rara ou ausente em outras espécies.

Um estudo conduzido por Yigit e colaboradores (2011) avaliou a produção da enzima coagulase em isolados de *Candida* spp. de pacientes com candidíase oral e estomatite. Um total de 48 isolados representando cinco espécies, *C. albicans* (17), *C. glabrata* (10), *C. krusei* (9), *C. kefyr* (7) e *C. parapsilosis* (5), foram testados. A produção da enzima foi avaliada pelo teste clássico de coagulase em tubo com plasma de coelho. Vinte e um isolados de *Candida* exibiram atividade de coagulase, sendo a *C. albicans* a espécie com maior atividade. O estudo suscita a necessidade de investigação de tal fator de virulência para uma maior compreensão da patogênese dos processos infecciosos causados por estas leveduras, pois, de maneira geral, as pesquisas concentram-se principalmente na produção de outras enzimas como proteinases, fosfolipases e hemolisinas.

2.2.3 Catalase

Existem algumas enzimas produzidas por espécies de *Candida* que além de contribuírem para a sua patogenicidade, atuam também interferindo em componentes do sistema imunológico que normalmente atuariam controlando a disseminação da infecção (Shimizu et al., 1996). A neutropenia demonstrou ser um importante contribuinte para a susceptibilidade à candidíase disseminada em humanos. Dados de estudos feitos por Diamond e colaboradores (1980), Lehrer e Jan (1970) e Schaffner e colaboradores (1982) enfatizavam a importância primária dos mecanismos fungicidas oxidativos produzidos por neutrófilos humanos (leucócitos polimorfonucleares – PMN) e monócitos. Esses

mecanismos dependem, em sua maioria, da capacidade dos PMNs de sintetizar oxidantes potentes derivados principalmente do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), bem como radical hidroxila, ácido hipocloroso e cloraminas. Este papel crucial dos mecanismos fungicidas mediados por oxidantes dita a necessidade de definir as defesas antioxidantes fúngicas (Diamond et al., 1980).

O oxigênio é um elemento essencial para a vida dos organismos, porém, algumas moléculas contêm o chamado oxigênio ativo ou espécies reativas de oxigênio (ROS), que podem ser altamente tóxicas para componentes celulares como proteínas, lipídios ou ácidos nucleicos. Uma grande parte dos organismos possuem mecanismos de defesa contra o oxigênio ativo. A enzima catalase é considerada um destes mecanismos e é responsável pela desintoxicação do peróxido de hidrogênio, uma das principais espécies de oxigênio. A catalase desempenha um papel fundamental como antioxidante, protegendo os organismos aeróbicos dos efeitos tóxicos do peróxido de hidrogênio e, em alguns casos, é considerada um fator de virulência (Dong et al., 2022).

A patogenicidade das espécies de *Candida*, além de todos os fatores anteriormente citados, também está associada à sua resistência a estresses oxidativos e a ataques ambientais. Durante o processo infeccioso, as leveduras precisam se adaptar às espécies reativas de oxigênio geradas durante a explosão respiratória de células fagocitárias (Kaloriti et al., 2012).

Um recente estudo conduzido por Dong e colaboradores (2022) mostrou os efeitos da fotoinativação sobre a enzima catalase produzida por *Candida albicans* e *Candida auris*. Nele, vimos que a enzima catalase é o principal alvo molecular da luz azul antimicrobiana (janela de 400-420 nm), que a catalase produzida por espécies do gênero pode ser efetivamente inativada pela luz azul de 410 nm e que esta ação torna as células fúngicas altamente suscetíveis ao peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e as drogas antifúngicas produtoras de espécies reativas de oxigênio. Mostrou-se também que a sinergia entre a fotoinativação da catalase e a ação do H_2O_2 permite a erradicação total de alguns isolados de *C. auris* resistentes a medicamentos. Além disso, a fotoinativação da catalase pode aumentar substancialmente a atividade dos macrófagos contra *C. albicans*. Então, embora tenhamos poucos estudos na literatura voltados especificamente para este fator de virulência, observamos que estudos como este podem ser promissores e também contribuir de forma significativa para estratégias que venham impedir o desenvolvimento de processos infecciosos deste gênero fúngico, uma vez conhecida a

patogênese do mesmo.

2.2.4 Slime e produção de biofilme

O amplo uso de antimicrobianos e dispositivos médicos invasivos, como cateteres venosos centrais em pacientes hospitalizados, são fatores de risco mais comuns para o desenvolvimento de candidemia naqueles que não apresentam neutropenia ou imunodeficiências mais graves (Shin et al., 2002). Estudos sugerem que a capacidade de algumas espécies de *Candida* em produzir o slime in vitro pode refletir seu potencial patogênico em causar candidemia relacionada ao uso de cateteres venosos centrais. Essa relação está associada ao fato do slime ser um polímero de carboidrato secretado por essas leveduras que contribui para a sua fixação em próteses e cateteres, semelhante a um biofilme. Além disso, a formação de slime e biofilme são aspectos clínicos significativos da interação com resistência aos antifúngicos (Chandra et al 2001 e Silva et al, 2007). O aumento das infecções fúngicas nos últimos anos também está relacionado aos progressos da medicina. A ampla utilização de biomateriais é um elemento indissociável da medicina contemporânea, porém pode levar ao desenvolvimento de infecções. A capacidade de produção do slime e adesão ao poliestireno de algumas espécies de *Candida* podem causar a formação de biofilme nas mais diversas superfícies de biomateriais utilizados na produção de cateteres, drenos e próteses (Ciok-Pater et al., 2011 e Ponde et al., 2021).

Biofilmes são descritos como comunidades de microrganismos associados a uma superfície e incorporados dentro de uma matriz extracelular. Os biofilmes representam a mais prevalente forma de crescimento de microrganismos. A formação de biofilme é um potente fator de virulência de *Candida* spp., pois confere uma significativa tolerância à terapia antifúngica, principalmente por limitar a penetração de substâncias através da matriz extracelular e resistência a ataques de células fagocitárias (Černáková et al., 2019). Os biofilmes estão intrinsecamente associados a infecções altamente virulentas, persistentes e resistentes a medicamentos. A dispersão de células de um biofilme estabelecido facilita a disseminação para o corpo e reduz a probabilidade de um resultado clínico positivo e opções de compostos para intervenção terapêutica eficaz (Rajendran et al., 2016).

Um estudo conduzido por Pereira e colaboradores (2021) mostrou os aspectos do

biofilme formado pela *C. albicans*, desde a formação, regulação e resistência. *C. albicans*, patógeno fúngico humano mais comum, é altamente adaptável, permitindo a sua transição de um constituinte da microbiota para patógeno devido a um repertório de fatores de virulência, mais especificamente, devido à capacidade de alterar a sua morfologia e, dessa forma, a formação de biofilmes são fundamentais para a patogênese dessa espécie. O estudo mostrou que a maioria das infecções por esse patógeno está associada à formação de biofilmes em superfícies de hospedeiros ou dispositivos médicos, podendo causar altas taxas de morbidade e mortalidade. Significativamente, os biofilmes formados por *C. albicans* são inerentemente tolerantes à terapia antimicrobiana, de modo que a suscetibilidade dos biofilmes de *C. albicans* aos agentes terapêuticos atuais permanece baixa.

Estudos como os conduzidos por Gómez-Molero e colaboradores (2021) e Da Silva e colaboradores (2022) avaliaram a formação de biofilme em outras espécies do gênero, como *C. parapsilosis* isoladas de espécimes clínicos. Os estudos mostram que *C. parapsilosis* é uma causa frequente de infecções fúngicas da corrente sanguínea, especialmente em neonatos gravemente enfermos ou pacientes imunocomprometidos. A formação de biofilmes, o uso de sondas de demora e outros dispositivos médicos invasivos aumentam o risco de infecção e complicam o tratamento, pois as células embutidas nos biofilmes apresentam menor suscetibilidade aos medicamentos. Além de tudo isso, as infecções relacionadas ao biofilme contribuem significativamente para o ônus econômico da saúde global e estão associadas a resultados clínicos ruins (Yousif et al., 2015).

2.3 TERAPIA ANTIFÚNGICA

Os antifúngicos surgiram bem mais tarde que os agentes antibacterianos, em decorrência dos fungos serem organismos eucariotos, a exemplo do hospedeiro. Assim, em razão desta coincidência, muitos antifúngicos podem apresentar efeitos deletérios inespecíficos e reações adversas, sendo este um dos fatores que retardaram o surgimento de novos fármacos e que continuam limitando os avanços no campo da terapia antifúngica. A falha no tratamento de infecções fúngicas vem chamando a atenção para o grave problema de resistência aos agentes antifúngicos (Costa e Santiago, 2014).

O surgimento de resistência aos antifúngicos é uma ameaça decorrente ao limitado

arsenal terapêutico. A escassez de classes de antifúngicos e a plasticidade intrínseca do genoma fúngico promovem a adaptação fúngica e a sobrevivência sob estresse de drogas antifúngicas, sendo estas condições que impactam diretamente o desfecho clínico. Um número crescente de espécies de *Candida* que são resistentes aos tratamentos antifúngicos de primeira linha (azóis ou equinocandinas) vem sendo identificado nos últimos anos (Castanheira et al., 2016).

Neste contexto, o teste de susceptibilidade aos antifúngicos possui grande relevância por direcionar e apontar o tratamento mais assertivo para a terapia antifúngica. Devido à crescente resistência observada no gênero *Candida* em relação a algumas classes de antifúngicos, a realização de tal teste se torna fundamental. Esse teste consiste em expor o agente fúngico a diferentes fármacos e avaliar sua capacidade de crescimento frente ao antifúngico, bem como determinar a concentração inibitória mínima necessária para alcançar o efeito terapêutico desejado, além de orientar a terapia do paciente para a seleção do agente antifúngico ideal, para informar estudos epidemiológicos e rastrear as taxas de resistência aos antifúngicos (Vieira e Nascimento, 2017 e Berkow et al., 2020).

O teste de susceptibilidade aos antifúngicos pode ser realizado pelos métodos de disco-difusão, Etest, micro/macrodiluição em caldo ou por sistemas automatizados. O teste de disco-difusão utiliza discos impregnados com antimicrobianos que são colocados em uma placa de ágar Mueller Hinton contendo o microrganismo em questão. Após o período de incubação, o diâmetro do halo de inibição é medido e comparado para determinar se o microrganismo é sensível, intermediário ou resistente ao antifúngico testado (CLSI, 2009). O mesmo princípio é observado para fitas impregnadas com gradiente de concentração – Etest.

A necessidade de novos antifúngicos é inegável. As escolhas terapêuticas atuais para o tratamento de infecções fúngicas invasivas são limitadas a poucas classes de drogas. Os agentes antifúngicos mais utilizados não são totalmente eficazes devido ao desenvolvimento de resistência, toxicidade do hospedeiro e efeitos colaterais indesejáveis que limitam seu uso na prática médica. As infecções fúngicas invasivas aumentaram significativamente nas últimas décadas e as taxas de mortalidade permanecem inaceitavelmente altas. Novos padrões de resistência mais ameaçadores, incluindo resistência simultânea a diferentes classes de antifúngicos, vêm sendo mostrados nos últimos anos (Campoy e Adrio, 2017).

Um estudo de grande amostragem conduzido por Bilal e colaboradores (2022) fez uma análise sistemática da distribuição e padrão de suscetibilidade a antifúngicos de espécies de *Candida* na China. Dos 89 estudos incluídos, um total de 44.716 isolados de *Candida* foram coletados, compreendendo principalmente as espécies mais envolvidas em processos infecciosos do gênero: *C. albicans* (49,36%), *C. tropicalis* (21,89%), *C. parapsilosis* (13,92%) e *C. glabrata* (11,37%). Os resultados apontaram que, entre a grande maioria das espécies, uma menor susceptibilidade foi detectada para o grupo dos derivados azólicos, entre eles o fluconazol, enquanto a anfotericina B e anidulafungina foram as drogas mais susceptíveis para todas as espécies de *Candida*. Os resultados do estudo reforçam a ideia de que a compreensão da prevalência das espécies e o padrão de suscetibilidade aos antifúngicos são de extrema relevância para o controle e o tratamento das candidíases.

Um estudo nacional conduzido por Rodrigues e colaboradores (2021) avaliou o perfil de suscetibilidade antifúngica de isolados clínicos de *Candida* de 22 hospitais do Estado de São Paulo por um período de dois anos. Dos 144 isolados foram identificados molecularmente com 14 espécies, sendo as mais frequentes: *C. parapsilosis* (32,6%), *C. albicans* (27,7%), *C. tropicalis* (14,6%), *C. glabrata* (9,7%), *C. krusei* (2,8%). O presente estudo revelou dados importantes, como o crescente aumento de espécies resistentes ao fluconazol causando candidemia, o surgimento da *C. haemulonii* - espécie multirresistente no sudeste do Brasil - e sobre a emergência da *C. glabrata* em casos brasileiros de candidemia.

Descrita pela primeira vez em 2009 no Japão, a *Candida auris*, patógeno fúngico emergente e multirresistente, está se tornando uma ameaça à saúde pública mundial. Afirmar-se que 60-90% das linhagens de *C. auris* são resistentes ao fluconazol, 10-30% apresentam altos valores de concentração inibitória mínima para anfotericina B, e até 5% podem ser considerados resistentes às equinocandinas. Dados existentes obtidos de pesquisas em andamento sobre mecanismos moleculares de resistência antifúngica em *C. auris* revelaram algumas características comuns com outras espécies de *Candida* (Alp e Arikan Akdağlı, 2021).

2.3.1 Equinocandinas

Com o aumento do número de pacientes imunocomprometidos, bem como a

resistência aos medicamentos disponíveis, o risco de infecções fúngicas fatais em humanos também aumenta. A ação das equinocandinas baseia-se na inibição da síntese de β -(1,3) -d-glucano que constrói a parede celular fúngica, bloqueando a síntese de um dos principais componentes da parede celular fúngica (β -(1,3) -d-glucana) pela ligação à subunidade Fks da β -(1,3) -d-glucana sintase. Caspofungina, micafungina, anidulafungina e rezafungina são lipopeptídeos cíclicos semissintéticos. Sua estrutura química específica possui potencial para obtenção de novos derivados com melhores propriedades farmacológicas, resultando em tratamentos mais eficazes principalmente em infecções causadas por espécies de *Candida* e *Aspergillus* (Szymański et al., 2022).

Equinocandinas constituem uma classe de antifúngicos eficaz contra muitos fungos, incluindo espécies de *Candida*. O mecanismo de ação desses fármacos está baseado na inibição da via metabólica específica do fungo e efeitos colaterais limitados resultaram no aumento do interesse e uso dessa classe de drogas (Mroczyńska e Brillowska-Dąbrowska, 2020).

Os fungos possuem mecanismos adaptativos pelos quais competem com outros microrganismos pelos recursos do nicho ecológico que ocupam e essas adaptações podem resultar em aumento da resistência aos antifúngicos. A resistência adquirida às equinocandinas de algumas linhagens de *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. kefyr*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. lusitaniae* tem sido descrita. Especula-se que a exposição prolongada ou repetida a esses antibióticos seja um fator importante na aquisição de resistência por *Candida* spp. às equinocandinas (Pristov e Ghannoum, 2019).

Embora as equinocandinas sejam administradas apenas por via intravenosa (o que limita o processo de tratamento apenas às condições hospitalares) e embriotóxicas, não podendo ser administrados a mulheres grávidas, essa classe de antifúngicos é uma boa alternativa aos azóis e polienos no tratamento de infecções fúngicas graves, causadas principalmente por espécies de *Candida*. Além disso, a via metabólica que as equinocandinas atingem não ocorre nas células humanas, o que limita os efeitos colaterais. Esses antifúngicos são indicados a pacientes com um sistema imunológico enfraquecido, como pessoas acometidas com a AIDS, câncer, neutropenia, bem como para pacientes transplantados que estão particularmente em risco de infecções fúngicas devido à terapia imunossupressora (Szymański et al., 2022).

2.3.2 Derivados Poliênicos

Os polienos foram os primeiros antifúngicos para uso clínico. Eles são fungicidas e têm o mais amplo espectro de atividade em comparação com qualquer outra molécula antifúngica. Nistatina, natamicina e anfotericina B são os únicos três polienos em uso clínico. Eles são produtos naturais e foram isolados dos caldos de cultivo de *Streptomyces noursei*, *S. natalensis* e *S. nodosum*, respectivamente (Sklenár et al., 2013).

O alvo biológico primário dos polienos é a membrana plasmática das células e dos organismos unicelulares, cuja integridade pode ser perturbada de várias maneiras diferentes. De longe, o mecanismo mais conhecido e bem estudado é o modelo de formação de poros, ou seja, a formação de canais nas membranas. Os polienos são moléculas naturais orgânicas anfipáticas chamadas macrólidos e geralmente ligam-se ao ergosterol das membranas das células fúngicas, levando à formação de poros na membrana e resultando na perda do equilíbrio iônico, integridade da membrana e morte celular (Vandeputte et al., 2012).

A anfotericina B é o polieno mais utilizado para o tratamento de infecções sistêmicas e, devido à sua hidrofobicidade e má absorção através do trato gastrointestinal, é administrado por via intravenosa, o que causa efeitos adversos nos rins e no fígado. As infecções fúngicas invasivas, importante causa de mortalidade, são tratadas principalmente com anfotericina B. Nos últimos anos, os principais esforços têm sido concentrados na busca de novas moléculas que minimizam a toxicidade dos compostos de dessa classe de antifúngicos (Odds et al., 2003 e Steimbach et al., 2017). Apesar de sua longa história de uso como um dos antifúngicos mais potentes, a resistência adquirida à anfotericina B não é comum. No entanto, a formulação convencional (anfotericina B desoxicolato [d-AmB]) está associada a vários eventos adversos, incluindo toxicidade relacionada à infusão (por exemplo, calafrios, febre, náusea e vômitos), bem como nefrotoxicidade, que pode até mesmo resultar em morte (Nett e Andes., 2016).

A incidência de fungos resistentes vem aumentando, especialmente aqueles isolados de indivíduos imunocomprometidos. Com isso, pesquisas consideráveis têm sido focadas na descoberta de agentes antifúngicos com novos mecanismos de ação e no aprimoramento do uso dos agentes existentes. Nos últimos 10 anos, foram feitos esforços consideráveis para melhorar a sua eficácia e, simultaneamente, reduzir a sua toxicidade,

mediante associação com compostos capazes de reduzir a toxicidade (anfotericina B lipossomal). O conhecimento dos mecanismos básicos de sua ação será de fundamental importância para aperfeiçoar ainda mais seu uso (Kristanc et al., 2019).

2.3.3 Derivados Azólicos

Com o risco crescente de infecções fúngicas invasivas e potencialmente fatais, existe atualmente uma grande preocupação em relação à menor taxa de descoberta de drogas antifúngicas em comparação com agentes antimicrobianos. As drogas utilizadas de forma convencional em clínicas não são adequadas o suficiente para combater as crescentes infecções fúngicas, especialmente as formas fúngicas resistentes ao fluconazol. Entre os agentes antifúngicos limitados em clínicas, os azólicos têm o maior número de candidatos a medicamentos em ensaios clínicos, como os Imidazóis, Miconazol (1ª geração) e Cetoconazol (2ª geração) e também os Triazóis, Fluconazol (1ª geração), Voriconazol (2ª geração) e Ravuconazol (3ª geração) e são parcialmente comercializados devido ao foco particular de empresas farmacêuticas e centros científicos médicos. Com o aumento do número de artigos sobre design e descoberta de antifúngicos azólicos, uma compreensão mais aprofundada das informações mais recentes e autênticas sobre essa classe de medicamentos pode ser benéfica (Shafiei et al., 2020).

Os derivados azólicos são inibidores da biossíntese de ergosterol, principal componente da membrana celular fúngica e que contribui para uma variedade de funções celulares, como fluidez e integridade da membrana e o bom funcionamento de enzimas ligadas à ela. Fluconazol, cetoconazol, voriconazol, são fármacos amplamente utilizados na terapia antifúngica e empregados para tratamento dos mais diversos quadros infecciosos, como candidíases, micoses superficiais, sistêmicas, dentre outras; estas drogas podem ser administradas por vias oral, tópica e intravenosa. Os azóis são, de longe, os antifúngicos mais comuns na clínica médica, usados tanto no tratamento quanto na prevenção de infecções fúngicas devido à sua atividade de amplo espectro. Os azólicos inibem a enzima dependente do citocromo P450 14 α -lanosterol desmetilase (CYP51) codificado pelo gene ERG11 que converte o lanosterol em ergosterol na membrana celular inibindo o crescimento fúngico e sua replicação (Carrillo-Muñoz et al., 2006 e Apolônio e Machado, 2018).

O fluconazol é um membro da família dos triazóis, um dos antifúngicos mais amplamente utilizados. É um medicamento usado para tratar candidíase vaginal, candidíase orofaríngea e esofágica, infecções do trato urinário, peritonite e infecções sistêmicas por *Candida*, incluindo candidemia, candidíase disseminada, pneumonia e meningite criptocócica. Sua profilaxia também é conhecida por diminuir a incidência de candidíase em pacientes submetidos a transplante de medula óssea que recebem quimioterapia citotóxica ou radioterapia, porém, estudos recentes revelam elevados índices de resistência a este fármaco juntamente a outras drogas dessa classe de antifúngicos no combate às candidíases (Bilal et al, 2022 e Govindarajan et al., 2023).

Em tempos atuais, onde a resistência antifúngica está cada vez mais frequente em todo mundo - principalmente a drogas amplamente utilizadas, como os derivados azólicos - a utilização de testes de suscetibilidade deve ser incentivada. Em um futuro próximo, os testes de suscetibilidade deverão ter um papel primordial na tomada de decisão de médicos na escolha da classe de antifúngicos a serem utilizados, visando tornar a terapia mais precisa e individualizada, minimizando a automedicação e o uso profilático e desordenado, e conseqüentemente, o desenvolvimento de resistência fúngica (Berkow et al., 2020).

2.4 DIAGNÓSTICO DAS INFECÇÕES FÚNGICAS POR *Candida*

Uma das formas de diagnóstico laboratorial das infecções por *Candida* é a realização do exame direto do espécime clínico. Essa análise permite a observação da presença do fungo diretamente na amostra. Espécimes clínicos como sangue, líquido, líquido sinovial, líquido peritoneal, secreção vaginal, fragmentos de tecidos, dentre outros, podem ser examinados por este método. A pesquisa direta é um método rápido que permite a visualização de estruturas fúngicas, como leveduras ou pseudo-hifas, que podem sugerir a presença do gênero *Candida* e ainda fornecer informações preliminares importantes para auxiliar na indicação do tratamento enquanto se aguarda o resultado de outros exames, porém, possui como desvantagem uma limitada sensibilidade e não fornece informações mais detalhadas acerca da espécie de *Candida* envolvida (BRASIL, 2023).

Outros métodos para a identificação das espécies de *Candida* podem ser empregados. Testes como formação do tubo germinativo, baseada na detecção de

projeções da levedura sem constrição no ponto de inserção da célula; assimilação e fermentação de carboidratos, além da avaliação da macro e micromorfologia podem ser utilizados pelos laboratórios clínicos para auxiliar o diagnóstico das candidíases (Deorukhar e Roushani, 2018). Além disso, é possível isolar e identificar o fungo por meio do seu crescimento em meios de cultura específicos. Geralmente, utiliza-se o ágar Sabouraud dextrose, com ou sem suplemento de cicloheximida, ou meios diferenciais, como o ágar cromogênico, que permite a identificação das espécies do gênero *Candida* através da formação da cor desenvolvida pelas colônias por meio de indicadores de pH, fermentação de compostos específicos ou substratos cromógenos (Mezzari e Meneghello, 2012).

O Vitek 2® bioMerieux (França) é um teste comercial de método automático autorizado para realizar a identificação de algumas espécies de *Candida*, o teste de susceptibilidade aos antifúngicos, além da determinação da concentração inibitória mínima (MIC). As diluições e inoculações são feitas através de um processo de enchimento a vácuo e, em seguida, selados e colocados no leitor automaticamente. O sistema utiliza um programa de software integrado que valida e interpreta os resultados (Fonseca, 2014). Somado a todas essas metodologias, pode-se ainda destacar a realização de testes de identificação molecular, como a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), para detectar o DNA do gênero *Candida* em uma amostra clínica e identificar a espécie com base em sequências genéticas. A PCR é uma ferramenta sensível e específica para a detecção de *Candida* e permite a identificação precisa das espécies, porém, são testes mais caros quando comparados aos métodos convencionais e exigem equipamentos especializados (Medeiros, 2022).

Vale ressaltar que o diagnóstico laboratorial das infecções por *Candida* deve ser feito de maneira integrada, incluindo a equipe de analistas clínicos, os médicos envolvidos com a clínica dos indivíduos acometidos por essas infecções e o serviço de controle de infecção hospitalar, quando aplicável, para obtenção de resultados mais fidedignos e precisos. O diagnóstico feito de tal forma pode auxiliar de forma mais significativa para um tratamento mais adequado e pode contribuir para um melhor manejo clínico dessas infecções.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Analisar as infecções fúngicas causadas por leveduras do gênero *Candida*, tanto em contexto comunitário quanto hospitalar, visando compreender os principais fatores de virulência desenvolvidos, o perfil de susceptibilidade destas linhagens aos principais antifúngicos de interesse médico, assim como investigar os aspectos epidemiológicos dos indivíduos acometidos por estes processos infecciosos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a identificação precisa das leveduras pertencentes ao gênero *Candida* em diversos espécimes clínicos, empregando métodos fenotípicos e técnicas moleculares, com o intuito de contribuir para uma compreensão detalhada da presença e distribuição dessas leveduras em contextos clínicos variados;
- Analisar os fatores de virulência desenvolvidos pelas leveduras do gênero *Candida*, e assim compreender e avaliar o potencial patogênico desses microrganismos;
- Estabelecer o perfil de susceptibilidade aos antifúngicos das amostras estudadas, a fim de avaliar a eficácia dessas substâncias frente às leveduras do gênero *Candida*;
- Avaliar características epidemiológicas dos participantes;
- Correlacionar os achados laboratoriais com dados epidemiológicos, visando a compreensão da inter-relação entre as características clínicas e os fatores de exposição, auxiliando na identificação de possíveis correlações que contribuam para estratégias mais eficazes de prevenção, diagnóstico e tratamento.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DESENHO EPIDEMIOLÓGICO E POPULAÇÃO A SER AMOSTRADA

Trata-se de um estudo descritivo, observacional e transversal, constituído por uma análise retrospectiva do ano 2020 e uma prospectiva do ano 2021, de prontuários eletrônicos de pacientes hospitalizados e comunitários, com isolados de *Candida* spp.

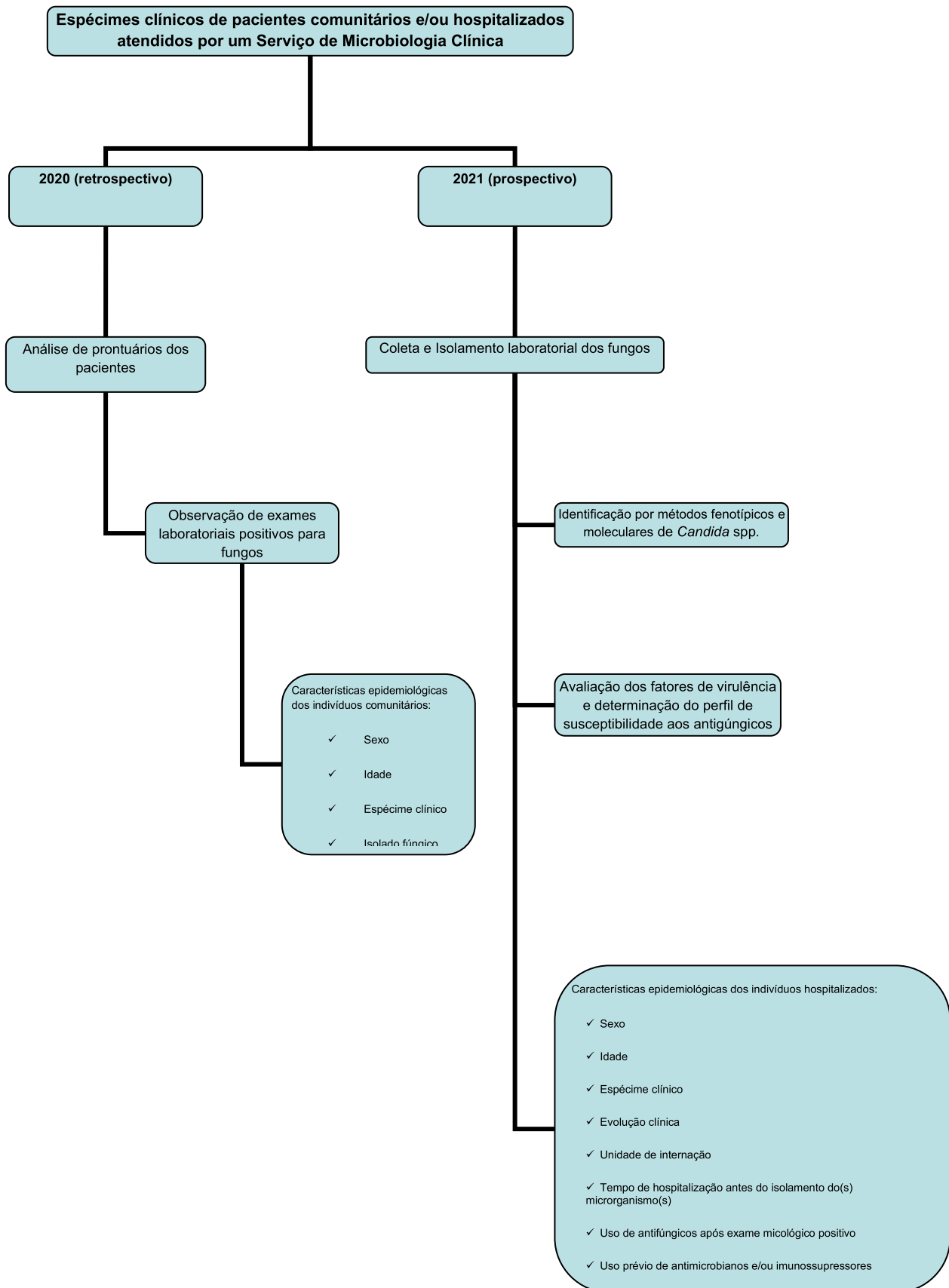
atendidos por um serviço de microbiologia clínica, em Juiz de Fora, Minas Gerais (Organograma 1).

O referido hospital conta com aproximadamente 120 leitos, incluindo unidade de terapia intensiva (adulto e neonatologia), unidade coronariana, unidade neurológica, enfermarias, centro cirúrgico e atendimento ambulatorial. Dispõe de serviços de clínicas especializadas e serviços de diagnóstico, com atendimento restrito à rede privada.

Os prontuários médicos dos pacientes com isolados de *Candida* spp. foram avaliados. Dados como idade, sexo, espécime clínico, unidade de internação e evolução clínica dos pacientes foram considerados. Estas informações foram pesquisadas diretamente em prontuários eletrônicos, sendo utilizada planilha igualmente eletrônica para registro destes dados. Para este estudo, foram desconsiderados participantes internados em unidade de tratamento para COVID-19.

Este estudo foi realizado mediante consulta e consentimento dos participantes, conforme projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFJF, sob o número 3.783.237, CAAE 18611019.6.0000.5147.

Organograma 1 - Delineamento experimental e etapas de desenvolvimento da pesquisa



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2 COLETA E PROCESSAMENTO DOS ESPÉCIMES CLÍNICOS

A coleta e processamento dos espécimes clínicos (urina, líquido, raspado de pele, unha, couro cabeludo, fragmento de tecido, secreções, sangue, dentre outros) foram realizados conforme estabelecido na rotina do serviço de microbiologia, mediante emprego de ágar Sabouraud Dextrose (Becton/Dickinson, Estados Unidos) e ágar Mycosel (Becton/Dickinson, Estados Unidos), de acordo com o Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviço de Saúde (ANVISA, 2013).

4.3 IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES DE *Candida*

As linhagens do gênero *Candida* recuperadas do seguimento prospectivo deste estudo foram identificadas conforme protocolos manuais, baseados em técnica de microcultivo, testes bioquímicos e fisiológicos conforme descrito na literatura (ANVISA, 2013).

4.4 EXTRAÇÃO DE DNA DAS LEVEDURAS ISOLADAS

O DNA genômico das leveduras previamente identificadas por métodos fenotípicos do seguimento prospectivo deste estudo foi extraído pelo método de digestão e purificação com fenol-clorofórmio, conforme estudo de Rodrigues e colaboradores (2013) com algumas modificações.

Assim, a partir de 2,0 mL de uma cultura de 48 horas em caldo Sabouraud (Kasvi Laboratorios Conda, Espanha), a massa celular foi obtida após centrifugação a 12000 x g, por 5 minutos em centrífuga refrigerada (Thermo Electron Corporation/ EUA) e as células foram lavadas em igual volume com água destilada previamente esterilizada. Após nova centrifugação nas mesmas condições, a massa celular resultante foi suspensa em 0,5 mL de tampão de lise (Tris HCl pH 8,0 10mM, EDTA 1 mM, NaCl 100mM, Triton X100 2% v/v, SDS 1%), acrescida de pérolas de vidro e submetida a agitação em vórtex (Coleman/Brasil) por 2 ciclos de 1 minuto.

Posteriormente, foram adicionados 0,4 mL de fenol saturado com Tris (1M, pH 8), 0,4 mL de solução de clorofórmio/álcool isoamílico (24:1) e as amostras foram novamente agitadas em vórtex, por 10 segundos, e centrifugadas para separação de fases, a 12000 x

g, por 5 minutos. A fase aquosa foi retirada e o DNA foi precipitado após a adição de 0,05 mL de NaCl 5M, 2 volumes de etanol gelado e centrifugação a 12000 x g, por 30 minutos, 4°C. Os extratos foram lavados com etanol 70%, solubilizados e quantificados por espectrofotometria (NanoDrop™ Lite Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA)). A integridade do DNA foi avaliada por eletroforese em gel de agarose (Sinapse Biotecnologia, Brasil) a 0,8%.

4.5 IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DAS LEVEDURAS

Todas as linhagens do segmento prospectivo deste estudo, previamente identificadas por métodos fenotípicos, foram também identificadas por técnica molecular. A identificação das espécies de levedura foi efetuada pela técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) em reações multiplex, por meio de oligoiniciadores específicos (Tabela 1) para o gênero *Candida* (*C. albicans*, *C. Krusei*, *C. tropicallis*, *C. lusitaniae*, *C. dubliniensis*, *C. parapsilosi*, *C. guilliermondii*) (Carvalho et al., 2007 e Rodrigues et al., 2013).

Os oligoiniciadores universais foram usados para amplificação das regiões intergênicas espaçadoras das leveduras patogênicas a fim de originar os amplicons esperados na reação de PCR multiplex com os oligoiniciadores espécie-específicos, conforme esquema ilustrado na Figura 2. As condições de amplificação foram: desnaturação inicial por 10 minutos a 94°C e 40 ciclos de 15 segundos a 94°C; 30 segundos a 55°C; 45 segundos a 65°C, em termociclador (Biometra T1 Thermocycler T1-Thermoblock – EUA) (Tabela 1, Figura 1).

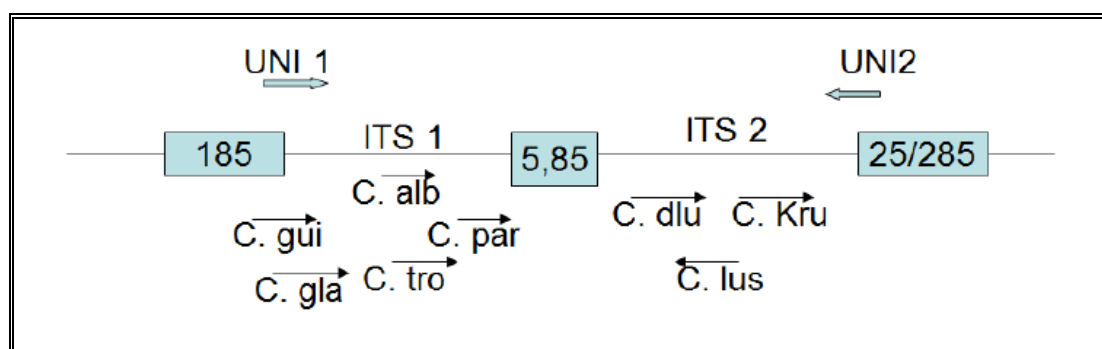
Tabela 1 - Oligoindicadores usados para identificação de espécies clinicamente relevantes de *Candida*, tamanhos dos fragmentos esperados visualizados em eletroforese de gel de agarose e condições de amplificação.

Espécie	Oligoiniciadores	Sequência (5' – 3')	Amplicons	Condições de amplificação
Universal para leveduras	UNI1	GTCAAACCTTGGTCATTTA	*	Desnaturação inicial, 10 min, 94°C e 40 ciclos de 15seg, 94°C; 30 seg, 55°C; 45 seg, 65°C
	UNI2	TTCTTTTCCTCCGCTTATTG		
<i>C. albicans</i>	Calb	AGCTGCCGCCAGAGTCTAA	583/446	
<i>C. dubliniensis</i>	Cdub	CTCAAACCCCTAGGGTTTGG	591/217	
<i>C. glabrata</i>	Cgla	TTGTCTGAGCTCGGAGAGAG	929/839	
<i>C. guilliermondii</i>	Cgui	TTCGGAGCAACGCCTAACCG	668/512	
<i>C. krusei</i>	Ckru	GATTTGCTTAATTGCCCCAC	590/169	
<i>C. lusitaniae</i>	Clus	TTCGGAGCAACGCCTAACCG	433/329	
<i>C. parapsilosis</i>	Cpar	TTGGCCTAGAGATAGGTTGG	570/370	
<i>C. tropicalis</i>	Ctro	GTCAACCGATTATTTAATAG	583/507	

* Os oligoiniciadores universais foram usados para amplificação das regiões intergênicas espaçadoras das leveduras patogênicas associadas a doenças humanas, para originar os amplicons esperados na reação de PCR multiplex com oligoiniciadores espécie-específicos para *Candida* (CARVALHO et al., 2007).

Fonte: Carvalho et al, 2007.

Figura 1 - Estratégia do PCR Multiplex para as espécies de *Candida*. As setas indicam a direção das amplificações do PCR. ITS: RNA não funcional entre RNAr funcionais.



Fonte: Adaptado de (Rodrigues et al; 2013).

4.6 FATORES DE VIRULÊNCIA

4.6.1 Avaliação da capacidade hemolítica – Produção de hemolisinas

O método para avaliação da atividade hemolítica foi realizado de acordo com os protocolos de (Luo et al., 2001) e (Linares et al., 2007), com algumas modificações. Os isolados foram pré-cultivados em Ágar Sabouraud Dextrose (Becton/Dickinson, Estados Unidos) e incubados a 37 °C durante 48 horas. As colônias de *Candida* spp. provenientes desse cultivo foram inoculadas para obtenção de suspensão em soro fisiológico estéril na escala de 0,5 de Macfarland de turbidez. Uma quantidade de 200µL dessa suspensão foi inoculada no meio Ágar Sabouraud Dextrose (Becton/Dickinson, Estados Unidos) suplementado com sangue de carneiro fresco e enriquecido com glicose a 2%.

As placas foram incubadas a 37 °C durante 48 horas. A presença de um halo translúcido e/ou esverdeado ao redor do inóculo indicou atividade hemolítica positiva. As leituras para avaliação dos halos foram feitas após 24 e 48 horas. Este experimento foi conduzido em duplicata e os resultados foram representados pela presença ou não de atividade hemolítica. Linhagens padrão, *C. albicans* ATCC 90028 e *C. parapsilosis* ATCC 22019, que induz hemólise completa e parcial, respectivamente, foram utilizadas como controles positivos.

4.6.2 Detecção da produção de biofilme

A formação de biofilme foi detectada pelo método do teste de aderência proposto por (Pramodhini et al; 2021). Colônias de *Candida* spp. previamente cultivadas em Ágar Sabouraud Dextrose (Becton/Dickinson, Estados Unidos) foram inoculadas em 2 mL de Caldo BHI (Becton/Dickinson, Estados Unidos) em tubos de ensaio e mantidas em incubação a 37°C por 48 horas. Após o período de incubação, foi feita a adição do corante Safranina (Êxodo Científica, Brasil) nos tubos de ensaio e verificada a adesão da massa celular das leveduras no fundo e nas paredes desses tubos. As amostras com aderência celular foram consideradas positivas para a formação de biofilme. Linhagem padrão, *C. albicans* ATCC 90028 foi usado como controle positivo.

4.6.3 Detecção da produção da enzima coagulase

A produção da enzima coagulase foi detectada pelo método clássico em tubo de ensaio. Em um tubo foram colocados 500 µL de plasma de coelho e 100 µL de uma suspensão de leveduras 0,5 na escala de MacFarland. As linhagens foram incubadas a 37°C por 4 horas. Após esse período, a formação de coágulos foi avaliada. Se coágulos não eram observados, nova incubação era procedida, por até 24 horas. As leituras nesses dois períodos foram realizadas em função da produção de determinadas enzimas denominadas fibrinolisinases produzidas por algumas linhagens e que podem romper o coágulo formado após períodos mais prolongados de incubação (Rodrigues et al., 2003). Linhagens padrão, *C. albicans* ATCC 14053 e *C. parapsilosis* ATCC 22019 foram utilizadas como controles positivos.

4.6.4 Produção de slime

A produção do polímero de carboidrato slime secretado por algumas linhagens de *Candida* spp. foi detectada pela técnica de semeadura em placa de agar infusão de cérebro-coração (BHI) (Kasvi Laboratorios Conda, Espanha) suplementado com 5% de glicose (Neon Comercial, Brasil) e corante vermelho do congo (Neon Comercial, Brasil). Uma suspensão de 200 µL de colônias das leveduras na escala de 0,5 de Macfarland foi inoculada em Ágar BHI (Kasvi Laboratorios Conda, Espanha) com posterior incubação a 35°C por 24 e 48 horas, com leituras realizadas nesses dois intervalos. As linhagens de *Candida* spp. positivas para produção de slime apresentaram coloração negro-brilhante (Gündogan et al., 2006). Linhagens padrão, *C. albicans* ATCC 14053 e *C. parapsilosis* ATCC 22019 foram utilizadas como controles positivos.

4.6.5 Detecção da produção da enzima catalase

O método para avaliação da produção desta enzima foi feito de acordo com o protocolo de (González-Párraga et al., 2003), com algumas modificações. Uma gota de peróxido de hidrogênio 3% foi colocada sobre a superfície de uma lâmina. Posteriormente, uma colônia de *Candida* spp. foi colocada em contato com o peróxido de hidrogênio 3% (Êxodo Científica, Brasil) formando uma emulsão. As linhagens produtoras

da enzima formaram bolhas de oxigênio em função da decomposição do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio sendo consideradas positivas. Linhagem padrão, *C. albicans* ATCC 44373 foi utilizada como controle positivo.

4.7 TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIFÚNGICOS

As linhagens do gênero *Candida* isoladas e identificadas foram avaliadas quanto ao seu perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos, de acordo com as orientações vigentes do CLSI 2017 (*Clinical and Laboratory Standard Institute*), empregando-se a técnica de disco-difusão, avaliando a resposta dessas linhagens isoladas frente aos discos de fluconazol 25 µg, voriconazol 1 µg, caspofungina 5 µg e anfotericina B 20 µg (Liofilchem Diagnostici, Itália). A interpretação das zonas de inibição das leveduras foi realizada de acordo com a referência descrita no documento M44 (CLSI, 2017) e também os critérios do fabricante Liofilchem.

4.8 INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO: OBSERVAÇÃO DE PRONTUÁRIOS

Os prontuários médicos dos pacientes com isolados fúngicos em exames laboratoriais foram avaliados. Dados como idade, sexo, espécime clínico, tempo (em dias) de hospitalização antes do isolamento do(s) microrganismo(s) estudado(s), uso prévio de antimicrobianos e de dispositivos médicos invasivos (cateter venoso, sonda vesical, traqueostomia, ventilação mecânica), motivo da internação (traumatismo, complicação clínica, neurológica ou cirúrgica), duração (em dias) da internação e evolução do paciente foram coletados.

Estas informações foram pesquisadas diretamente em um programa de informática onde os prontuários destes pacientes estavam armazenados, sem utilização de qualquer formulário para registro destes dados.

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram descritos utilizando frequências e percentuais. A fim de se cruzar dados categóricos binários (relação fatores virulência e resistência aos antifúngicos no desfecho óbito ou não óbito) ou qualquer outro dado que se apresentasse também com

apenas duas categorias, foi utilizado a prova exata de Fisher. Este é um teste análogo a prova de qui-quadrado e pode ser usado somente em tabelas 2 por 2, entretanto possui a vantagem de poder ser usado em amostras pequenas. Quando as tabelas não eram 2 por 2, como no caso de número de fatores de virulência, foi utilizado a prova de qui-quadrado, a fim de mensurar o risco relativo foi utilizado o modelo de regressão logística. Os dados também foram calculados por Odds Ratio. O software empregado foi o SPSS 15. O nível de significância adotado foi de p menor 0,05 ou menor que 5%.

5. RESULTADOS

5.1 ESTUDO RETROSPECTIVO (2020)

Durante o período amostrado, as leveduras do gênero *Candida* foram isoladas de 126 pacientes hospitalizados e 57 de pacientes comunitários dos mais diversos espécimes clínicos. Dentre os pacientes comunitários (n=47, 82,4%) foram do sexo feminino e (n=10, 17,6%) foram do sexo masculino. Considerando a faixa etária dos indivíduos acometidos por *Candida* spp., idade superior a 61 anos foi a mais frequente: (n=23, 40,4%). Dentre os espécimes clínicos, raspado ungueal (n=17, 29,8%) e urina (n=19, 33,5%) foram os mais comuns. Entre os isolados fúngicos desse grupo, foi observado (n=21, 36,8%) de *C. albicans* e (n=36, 63,2%) de *Candida* spp. *não albicans* (Tabela 2).

Tabela 2 - Aspectos epidemiológicos e microbiológicos dos indivíduos comunitários com infecção por *Candida* spp. (n=57).

Parâmetros	Frequência (n; %)
Sexo	
Feminino	47; 82,4
Masculino	10; 17,6
Idade	
0-20 anos	4; 7,0
21-40 anos	18; 31,6
41-60 anos	12; 21,0
>61 anos	23; 40,4
Espécime clínico	
Raspado de pele	8; 14,0
Sangue	1; 1,7
Secreção maléolo	1; 1,7
Secreção vaginal	11; 19,3
Raspado de unha	17; 29,8
Urina	19; 33,5
Isolado fúngico	
<i>Candida albicans</i>	21; 36,8
<i>Candida</i> spp. <i>não albicans</i>	36; 63,2

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Entre os indivíduos hospitalizados, (n=69, 54,7%) foram do sexo feminino. Indivíduos com mais de 61 anos portadores de infecção por *Candida* foram mais comuns: (n=94, 74,8%). Infecção de trato urinário foi a condição clínica mais frequente, o que resultou no isolamento de leveduras predominantemente de espécime clínico urina (n=77; 61,0%). Em geral, a duração da hospitalização, em dias, foi 54,4 (variação de oito a 227 dias). O período, em média de dias, até a suspeita de infecção fúngica foi de 19, variando de dois a 113 dias. A unidade de terapia intensiva geral para adultos foi o setor com maior achado de isolados de *Candida* spp. (n=36, 28,7%), seguido de enfermaria (n=31, 24,6%).

Aproximadamente, 84,2% dos indivíduos fizeram uso de algum dispositivo médico invasivo (n=106). O valor de n=236 indica o total de dispositivos usados nos 106 participantes, pois em alguns casos um mesmo participante foi submetido ao uso de mais de um dispositivo. O uso de fármacos corticosteroides foi uma prática comum aos participantes deste estudo: (n=95, 75,5%). Entre os isolados fúngicos desse grupo, foi observado (n=47, 37,3%) de *C. albicans* e (n=79, 62,7%) de *Candida* spp. *não albicans* (Tabela 3).

O desfecho clínico dos participantes hospitalizados envolvidos nesta pesquisa, em 2020, foi desfavorável para (n=70, 55,6%), se traduzindo em óbito intra-hospitalar.

Tabela 3 - Aspectos epidemiológicos e microbiológicos dos indivíduos hospitalizados com infecção por *Candida* spp. (n=126).

Parâmetros		Frequência (n; %)
Sexo	Feminino	69; 54,7
	Masculino	57; 45,3
Idade	0-20 anos	17; 13,1
	21-40 anos	10; 8,1
	41-60 anos	5; 4,0
	>61 anos	94; 74,8
Espécime clínico	Aspirado de medula óssea	3; 2,4
	Aspirado traqueal	14; 11,1
	Coleção hepática	3; 2,4
	Coleção hipocôndrio direito	3; 2,4
	Fragmento pulmonar	3; 2,4
	Líquor	3; 2,4
	Ponta cateter	3; 2,4
	Raspado dorso	3; 2,4
	Sangue	11; 8,7
	Abscesso região coxa	3; 2,4

	Urina	77; 61,0
Unidade de internação		
	Ambulatório	14; 11,1
	UTI neurológico	28; 22,2
	UTI geral	36; 28,7
	UTI neonatal	6; 4,7
	Unidade coronariana	11; 8,7
	Enfermaria	31; 24,6
Uso prévio de dispositivos invasivos		
	Não	20; 15,8
	Sim	106; 84,2
n= 236	Catéter venoso central	69; 29,4
	Sonda vesical	32; 13,5
	Traqueostomia	28; 11,8
	Ventilação mecânica	59; 25,0
	Dreno tórax	4; 1,7
	Tubo orotraqueal	36; 15,2
	Gastrostomia	8; 3,4
Uso prévio de corticoides		
	Não	31; 24,5
	Sim	95; 75,5
Isolado fúngico		
	<i>Candida albicans</i>	47; 37,3
	<i>Candida spp. não albicans</i>	79; 62,7

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Ainda, considerando-se os indivíduos hospitalizados, o uso de antimicrobianos anterior ao diagnóstico de infecção fúngica foi observado em (n=124, 98,4%), sendo meropenem (n=25, 13,2%) e a associação piperacilina-tazobactam (n=28, 16,9%) os mais utilizados. Um total de 184 antibacterianos foram usados nos 124 participantes, pois em alguns casos um mesmo participante foi submetido à terapia combinada com mais de um fármaco antibacteriano. A administração de antifúngicos após o exame micológico foi observada em 53,2% dos pacientes hospitalizados (n=67), sendo anfotericina B e

anidulafungina os mais prescritos em 26,8 e 53,9% desses indivíduos, respectivamente. A terapia antifúngica não foi prescrita para (n=59; 46,8%) dos pacientes após diagnóstico de infecção fúngica, mesmo havendo terapia antibacteriana prévia (Tabela 4).

Tabela 4 - Prescrição de drogas antimicrobianas antes e após o diagnóstico de infecção fúngica nos indivíduos hospitalizados (n=126).

Parâmetros		Frequência (n; %)
Uso prévio de antimicrobianos		
Não		2; 1,6
Sim		124; 98,4
Antibacterianos		
n= 184	Amicacina	7; 3,7
	Amoxicilina-clavulanato	10; 5,3
	Azitromicina	10; 5,3
	Ceftriaxona	20; 10,6
	Cefepime	2; 1,0
	Ciprofloxacina	4; 2,0
	Clindamicina	2; 1,0
	Claritomicina	2; 1,0
	Levofloxacina	2; 1,0
	Lineozlida	4; 2,0
	Meropenem	25; 13,2
	Polimixina B	23; 12,2
	Moxifloxacina	23; 12,2
	Piperacilina-tazobactam	28; 16,9
	Sulfazotrim	8; 4,2
	Teicoplanina	6; 3,2
	Vancomicina	8; 4,2
Antivirais		
Aciclovir		2; 1,0
Oseltamivir		2; 1,0

Prescrição de antifúngico após o diagnóstico

Não	59; 46,8
Sim	67; 53,2
Antifúngico	
Anfotericina B	18; 26,8
Fluconazol	10; 14,9
Voriconazol	3; 4,4
Anidulafungina	36; 53,9

Fonte: Elaborado pelo autor (2023)

5.2 ESTUDO PROSPECTIVO (2021)

Durante o período amostrado, as leveduras do gênero *Candida* foram isoladas de 63 indivíduos hospitalizados e 39 de indivíduos comunitários dos mais diversos espécimes clínicos. Dentre os indivíduos comunitários com isolados de *C. albicans*, o sexo feminino foi predominante (n=12, 63,2%), enquanto o sexo masculino foi predominante dentre os indivíduos com isolados de *Candida* spp. *não albicans* (n=14, 70%). Considerando a faixa etária, idades superiores a 61 anos foram as mais frequentes em ambos os grupos de isolados de *Candida* spp. (n=9, 47,4%) e (n=10, 50%). Dentre os espécimes clínicos, raspados ungueal e de pele (n=14, 70%) foram os mais comuns entre os isolados de *Candida* spp. *não albicans* e as secreções vaginal, peniana e traqueal (n=9, 47,4%) entre os isolados de *C. albicans*. Entre os isolados fúngicos desse grupo, foi observado (n=19, 48,7%) de *C. albicans* e (n=20, 51,3%) de *Candida* spp. *não albicans* (Tabela 5).

Tabela 5 - Aspectos epidemiológicos e microbiológicos dos indivíduos comunitários com infecção por *Candida* spp. (n=39).

Parâmetros clínicos-epidemiológicos	Leveduras	
	<i>C. albicans</i> (n=19)	<i>C. spp. não albicans</i> (n=20)
Sexo: n (%)		
Masculino	7 (36,8)	14 (70,0)
Feminino	12 (63,2)	6 (30,0)
Idade: n (%)		
0-20 anos	0 (0)	1 (5,0)
21-40 anos	7 (36,8)	2 (10,0)
41-60 anos	3 (15,8)	7 (35,0)
> 61 anos	9 (47,4)	10 (50,0)
Espécimes clínicos: n (%)		
Raspado (unha, pele)	5 (26,3)	14 (70,0)
Secreção (vaginal, peniana, traqueal)	9 (47,4)	2 (10,0)
Urina	5 (26,3)	4 (20,0)

Fonte: Elaborado pelo autor (2023)

Entre os indivíduos hospitalizados, dos isolados fúngicos desse grupo foi observado 61,9% (n=39) de *C. albicans* e 38,1% (n=24) de *Candida* spp. *não albicans*. Aqueles com isolados de *C. albicans* houve um predomínio (n=20; 51,2%) do sexo feminino e aqueles com isolados de *Candida* spp. *não albicans* houve uma igual distribuição para ambos os sexos (n=12; 50%). Indivíduos com mais de 61 anos portadores de infecção por *Candida* foram mais comuns nos dois grupos: (n=27; 69,3%) e (n=21; 87,7%). O isolamento de leveduras no espécime clínico urina foi predominante nos dois grupos (n=21; 53,8%) e (n=14; 58,4%). Em geral, a duração da hospitalização em dias foi de 39,5 (variação de seis a 202 dias) para aqueles com isolados de *C. albicans* e 31,5 (variação de sete a 162 dias) para os indivíduos com *Candida* spp. *não albicans*. Já em relação à suspeita de infecção fúngica, foram 14 e 18 dias em média para cada grupo respectivamente. A unidade de terapia intensiva geral para adultos foi o setor com maior achado de isolados de ambos os grupos de *Candida* spp. (n=31; 79,4%) e (n=20; 83,3%). Todos os indivíduos com isolados de *C. albicans* (n=60; 100%) fizeram uso de algum dispositivo médico invasivo, assim como aqueles com isolados de *Candida* spp. *não albicans* (n=29; 100%). Estes valores indicam o total de dispositivos usados em todos os participantes, pois, em alguns casos, um mesmo participante foi submetido ao uso de

mais de um dispositivo. O uso de fármacos corticosteroides foi uma prática comum entre os participantes dos dois grupos: (n=24, 61,5%) e (n=18; 75%).

O uso de antimicrobianos anterior ao diagnóstico de infecção fúngica foi observado em todos os participantes com isolados de *C. albicans* e *Candida* spp. *não albicans* (n=63; 100%) e (n=56; 100%), sendo carbapenêmicos os mais utilizados, (n=22, 35%) e (n=15, 26,8%) respectivamente. Um total de 63 antimicrobianos foi usado nos 39 participantes com isolados de *C. albicans* e valor de n=56 indica o total de antimicrobianos usados nos 24 participantes com isolados de *Candida* spp. *não albicans*, pois, em alguns casos, um mesmo participante foi submetido a terapia combinada com mais de um fármaco antibacteriano. A administração de antifúngicos após o exame micológico positivo foi observada em apenas (n=6; 9,5%) dos participantes hospitalizados com isolados de *C. albicans* e (n=6; 10,7%) dos participantes com isolados de *Candida* spp. *não albicans*.

O desfecho clínico dos participantes hospitalizados envolvidos nesta pesquisa foi desfavorável para (n= 28; 71,8%) nos indivíduos com *C. albicans* e (n=16; 66,7%) nos indivíduos com *Candida* spp. *não albicans*, se traduzindo em óbito intra-hospitalar (Tabela 6).

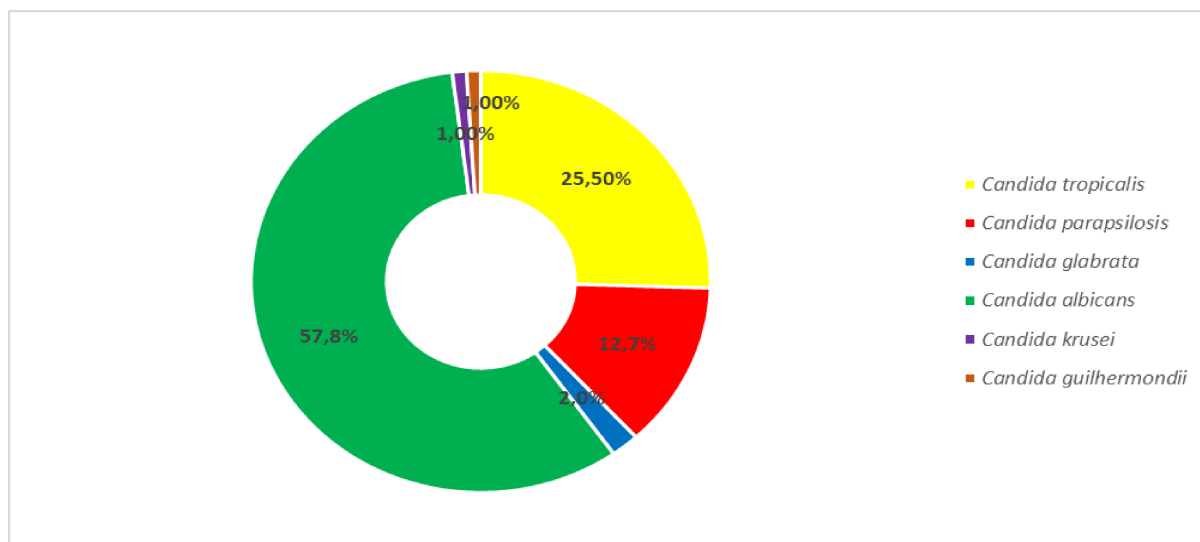
Tabela 6 - Aspectos epidemiológicos e microbiológicos dos indivíduos hospitalizados com infecção por *Candida* spp. (n=63).

Parâmetros clínicos-epidemiológicos	Leveduras	
	<i>C. albicans</i> (n=39)	<i>C. spp. não albicans</i> (n=24)
Duração (em dias) da hospitalização antes do isolamento fúngico: média (intervalo)	14,0 (1-58)	18,0 (2-131)
Duração (em dias) da hospitalização: média (intervalo)	39,5(6-202)	31,5 (7-162)
Motivo da hospitalização: n (%)		
Traumatismo	0 (0)	0 (0)
Complicação clínica	39 (100,0)	24 (100)
Complicação neurológica	0 (0)	0 (0)
Complicação cirúrgica	0 (0)	0 (0)
Sexo: n (%)		
Masculino	19 (48,7)	12 (50,0)
Feminino	20 (51,2)	12 (50,0)
Idade: n (%)		
0-20 anos	0 (0)	0 (0)
21-40 anos	0 (0)	1 (4,1)
41-60 anos	12 (30,7)	2 (8,2)
> 61 anos	27 (69,3)	21 (87,7)
Espécimes clínicos: n (%)		
Aspirado traqueal	16 (41,0)	10 (41,6)
Catéter	1 (2,6)	0 (0)
Urina	21 (53,8)	14 (58,4)
Sangue	0 (0)	0 (0)
Escarro	1 (2,6)	0 (0)
Unidade de internação: n (%)		
Unidade de terapia intensiva	31 (79,4)	20 (83,3)
Unidade coronariana	3 (7,7)	0 (0)
UTI-Neonatal	0 (0)	0 (0)
Enfermaria	5 (12,9)	4 (16,7)
Uso de dispositivos invasivos: n (%)		
Cateter	31 (51,6)	17 (58,7)
Sonda vesical	10 (16,7)	3 (10,3)
Traqueostomia	9 (15,0)	6 (20,7)
Outros (sonda gástrica, sonda enteral, cateter de hemodiálise)	10 (16,7)	3 (10,3)
Total	60 (100)	29 (100)
Uso prévio de antimicrobianos: n (%)		
β-lactâmico/inibidor de β-lactamase	5 (7,9)	7 (12,6)
Cefalosporinas	3 (4,7)	2 (3,5)
Carbapenêmicos	22 (35,0)	15 (26,8)
Quinolonas	4 (6,3)	6 (10,7)
Aminoglicosídeos	7 (11,1)	4 (7,1)
Sulfazotrim	1 (1,6)	0 (0)
Polimixina B	1 (1,6)	6 (10,7)
Lincosamida	4 (6,3)	0 (0)
Glicopeptídeo	10 (16,0)	10 (17,9)
Antifúngicos (anidulafungina, fluconazol, Anfotericina B)	6 (9,5)	6 (10,7)
Total	63 (100)	56 (100)
Uso de Corticoesteroides	24 (61,5)	18 (75)
Evolução do paciente: n (%)		
Alta	11 (28,2)	8 (33,3)
Óbito intra-hospitalar	28 (71,8)	16 (66,7)

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

A distribuição das espécies envolvendo todos os participantes da pesquisa revelou que *C. albicans* foi a mais frequente (n=59; 57,8%), seguida de *C. tropicalis* (n=26; 25,5%), *C. parapsilosis* (n=13; 12,7%), *C. glabrata* (n=2; 2%), *C. krusei* (n=1; 1%) e *C. guilhermondii* (n=1; 1%) (Figura 2A).

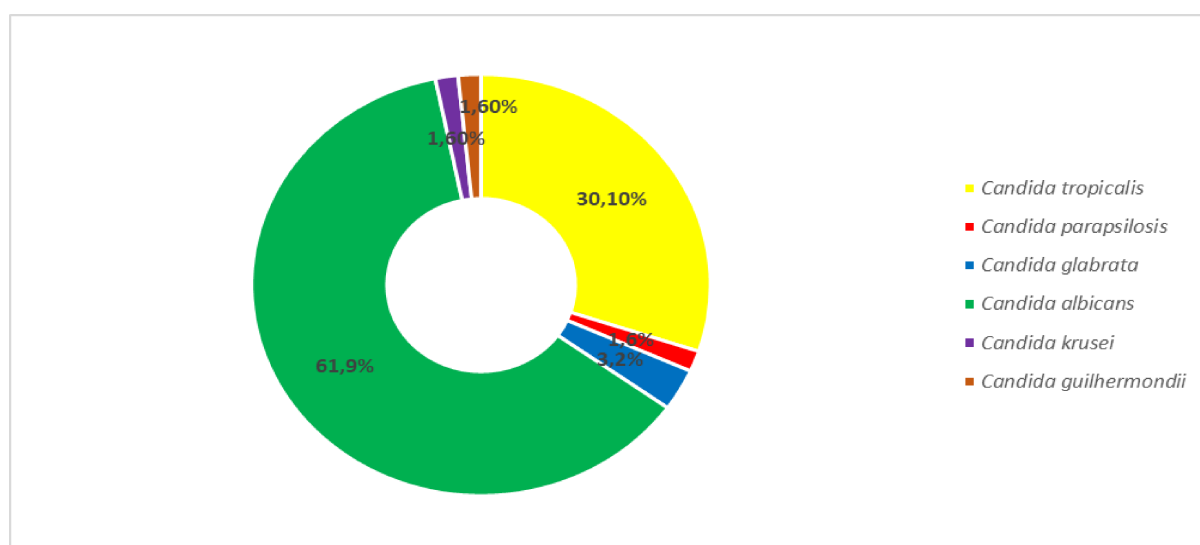
Figura 2A: Distribuição das espécies do gênero *Candida* isoladas dos indivíduos comunitários e hospitalizados (n=102).



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Dentre os indivíduos hospitalizados as espécies mais frequentemente isoladas foram: *C. albicans* (n=39; 61,9%), *C. tropicalis* (n=19; 30,1%) e *C. glabrata* (n=2; 3,2%) (Figura 2B).

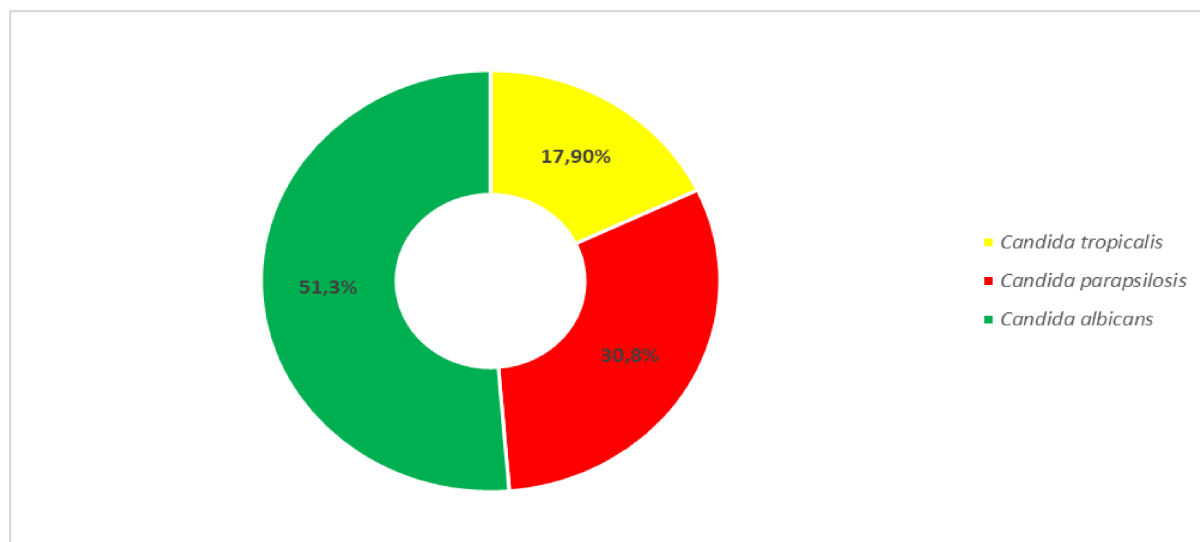
Figura 2B - Distribuição das espécies do gênero *Candida* isoladas dos indivíduos hospitalizados (n=63).



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Quanto aos participantes comunitários, as espécies isoladas foram: *C. albicans* (n=20; 51,3%), *C. parapsilosis* (n=12; 30,8) e *C. tropicalis* (n=7; 17,9%) (Figura 2C).

Figura 2C - Distribuição das espécies do gênero *Candida* isoladas dos indivíduos comunitários (n=39).



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

As leveduras isoladas em 2021 foram avaliadas quanto à sua capacidade de produção de fatores de virulência, sendo estes: produção das enzimas catalase, coagulase e hemolisinas (atividade hemolítica) e também a produção de biofilme e slime. De 102 leveduras envolvidas no estudo, 85 (83,3%) demonstraram a capacidade de produzir um ou mais fatores de virulência, que são determinantes em sua patogenicidade. A expressão de um fator de virulência foi observada em (n=36; 35,3%) das leveduras, de dois fatores em (n=33; 32,3%), de três em (n=15; 14,7%) e de quatro em (n=1; 1,0%). De modo geral, houve uma baixa produção da enzima catalase por *Candida albicans* (n=4; 6,7%), como também por *Candida* spp. não *albicans* (n=4; 9,3%). A positividade da produção da enzima coagulase foi maior por *C. albicans* (n=31; 52,5%) em relação à *Candida* spp. não *albicans* (n=8; 18,6%). A produção do polímero slime foi observada em apenas (n=1; 1,7%) *C. albicans*. A produção de biofilme por *C. albicans* foi de (n=25; 42,3%) enquanto que por *Candida* spp. não *albicans* foi de (n=20; 46,5%). A atividade hemolítica foi demonstrada por *C. albicans* (n=33; 55,9%) e por *Candida* spp. não

albicans (n=25; 58,1%). Os resultados por espécie para cada respectivo teste estão expostos na Tabela 7.

Tabela 7 - Produção de fatores de virulência por espécies de *Candida* spp. isoladas de indivíduos comunitários e hospitalizados.

Isolado	Fatores de Virulência									
	Catalase (n/%)		Coagulase (n/%)		Slime (n/%)		Biofilme (n/%)		Atividade hemolítica (n/%)	
	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO
<i>Candida albicans</i> (n=59)	4,0/6,7	55,0/93,3	31,0/52,5	28,0/47,5	1,0/1,7	58,0/98,3	25,0/42,3	34,0/57,7	33,0/55,9	26,0/44,1
<i>Candida</i> spp. <i>não albicans</i> (n=43)	4,0/9,3	39,0/90,7	8,0/18,6	35,0/81,4	0/0	43,0/100	20,0/46,5	23,0/53,4	25,0/58,1	18,0/41,9
<i>Candida tropicalis</i> (n=26)	1,0/3,8	25,0/96,2	6,0/23,0	20,0/77,0	0/0	26,0/100,0	15,0/57,7	11,0/42,3	19,0/73,0	7,0/27,0
<i>Candida parapsilosis</i> (n=13)	1,0/7,7	12,0/92,3	1,0/7,7	12,0/92,3	0/0	13,0/100,0	4,0/30,7	9,0/69,3	4,0/30,7	9,0/69,3
<i>Candida glabrata</i> (n=2)	1,0/50,0	1,0/50,0	0/0	2,0/100,0	0/0	2,0/100,0	1,0/50,0	1,0/50,0	1,0/50,0	1,0/50,0
<i>Candida krusei</i> (n=1)	1,0/100,0	0/0	0/0	1,0/100,0	0/0	1,0/100,0	0/0	1,0/100,0	1,0/100,0	0/0
<i>Candida guilhermondii</i> (n=1)	0/0	1,0/100,0	1,0/100,0	0/0	0/0	1,0/100,0	0/0	1,0/100,0	0/0	1,0/100,0

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Foram realizados testes de susceptibilidade a antifúngicos com o total de 102 leveduras. Destas, (n=85, 83,3%) apresentaram resistência a pelo menos um dos antifúngicos testados, representando uma alta porcentagem dos microrganismos. Quanto às classes de antifúngicos testados, (n=79; 77,4%) das leveduras foram resistentes a uma classe de antifúngicos, sendo a grande maioria resistente aos azóis. Resistência pelas leveduras a duas classes de antifúngicos ocorreu em (n=6; 5,9%), sendo essa resistência aos antifúngicos azóis juntamente com a droga da classe equinocandina (Tabela 8).

Apenas (n=1; 2,3%) levedura do grupo de *Candida* spp. *não albicans* apresentou resistência a anfotericina B, sendo este o antifúngico que apresentou maior eficácia. Para caspofungina, apenas (n=4; 6,8%) leveduras dentro do grupo de *C. albicans* foram resistentes, enquanto a porcentagem dentro do grupo de *Candida* spp. *não albicans* foi maior (n=16; 37,2%). Altos níveis de resistência ocorreram dentro do grupo de antifúngicos azóis. Das 59 *C. albicans* (n=47; 79,7%) foram resistentes aos fármacos fluconazol e voriconazol. Dentro do grupo *Candida* spp. *não albicans* (n=23; 53,5%) também foram resistentes ao fluconazol e voriconazol. *C. glabrata* (n=2; 100%) e *C. krusei* (n=1; 100%) apresentam resistência intrínseca ao fluconazol (Tabela 8).

Tabela 8 - Teste de susceptibilidade aos antifúngicos de *Candida* spp. isoladas de indivíduos comunitários e hospitalizados.

Isolado	Fluconazol (n/%)		Voriconazol (n/%)		Caspofungina (n/%)		Anfotericina B (n/%)		Origem (n/%)	
	Sensível	Resistente	Sensível	Resistente	Sensível	Resistente	Sensível	Resistente	Comunidade	Hospital
<i>Candida albicans</i> (n=59)	12,0/20,3	47,0/79,7	12,0/20,3	47,0/79,7	55,0/93,2	4,0/6,8	59,0/100	0/0	20,0/33,9	39,0/66,1
<i>Candida</i> spp. não <i>albicans</i> (n=43)	20,0/46,5	23,0/53,5	20,0/46,5	23,0/53,5	27,0/62,8	16,0/37,2	42,0/97,6	1,0/2,3	8,0/18,6	35,0/81,4
<i>Candida tropicalis</i> (n=26)	7,0/26,9	19,0/73,1	7,0/26,9	19,0/73,1	22,0/84,6	4,0/15,4	25,0/96,2	1,0/3,8	7,0/26,9	19/73,1
<i>Candida parapsilosis</i> (n=13)	13,0/100	0/0	13,0/100	0/0	2,0/15,4	11,0/84,6	13,0/100	0/0	1,0/7,7	12,0/92,3
<i>Candida glabrata</i> (n=2)	0/0	2,0/100	1,0/50	1,0/50	2,0/100	0/0	2,0/100	0/0	0/0	2,0/100
<i>Candida krusei</i> (n=1)	0/0	1,0/100	1,0/100	0/0	0/0	1,0/100	1,0/100	0/0	0/0	1,0/100
<i>Candida guilhermondii</i> (n=1)	0/0	1,0/100	0/0	1,0/100	1,0/100	0/0	1,0/100	0/0	0/0	1,0/100

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

A relação de produção de fatores de virulência e o possível impacto no desfecho óbito, considerando isolados de *Candida* spp. não *albicans*, revelou que produção de coagulase e biofilme não apresentam significância estatística. Todos os riscos relativos calculados tinham intervalos de confiança com o valor 1, portanto, não se pode afirmar que eram fatores de risco ou protetores. A coagulase, por exemplo, apresentou um *Odds Ratio* de 0.23 com intervalos de confiança 0.03 até 1.49. Intervalo este, que contém o valor 1, logo, não foi significativa.

Não foi possível calcular o *Odds Ratio* e o intervalo de confiança da catalase, pois os valores obtidos foram espúrios em relação às condições clínicas dos participantes. Em relação à atividade hemolítica, o *Odds Ratio* foi de 13.0 com intervalos de confiança de 1.70 até 99.37. Os resultados obtidos apresentaram significância estatística, pois o risco relativo teve intervalo de confiança com valores superiores a 1, sendo este, um fator de virulência com possível impacto no desfecho óbito. Quanto aos testes de susceptibilidade, com a relação da resistência aos antifúngicos e seu possível impacto no desfecho óbito, observou-se que a caspofungina teve um risco relativo de 1.61 com intervalo de confiança entre 0.14 até 18.58, apresentando o valor 1, sendo este resultado não significativo estatisticamente para o desfecho óbito. Não foi possível a realização dos cálculos para Fluconazol, Voriconazol e Anfotericina B (Tabela 9).

Tabela 9 - Avaliação estatística dos fatores de virulência x desfecho clínico dos isolados de *Candida* spp. *não albicans* (2021).

Paramêtros	OR ^a (Range)
Fatores de virulência	
Catalase	Não calculado
Coagulase	0.23 (0.03 - 1.49)
Atividade hemolítica	13.0 (1.70 - 99.37)
Biofilme	1.66 (0.30 - 9.27)
Resistência aos antifúngicos	
Fluconazol	Não calculado
Voriconazol	Não calculado
Caspofungina	1.61 (0.14 - 18.58)
Anfotericina B	Não calculado

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Odds ratio com 95% de intervalo de confiança: OR = 1, ausência de correlação; OR > 1, correlação positiva; OR < 1, correlação negativa.

Tendo a relação da produção de fatores de virulência com possível influência no desfecho óbito e considerando isolados de *C. albicans*, não foi possível, dessa forma, calcular o *Odds Ratio* e o intervalo de confiança da catalase, pois os valores obtidos foram espúrios em relação às condições clínicas dos participantes. Para os outros fatores de virulência, coagulase com *Odds Ratio* de 0.72 e intervalo de confiança 0.17 até 2.92, atividade hemolítica com *Odds Ratio* de 0.96 e intervalo de confiança 0.23 até 3.89 e produção de biofilme com *Odds Ratio* de 1.31 e intervalo de confiança 0.31 até 5.53, não houve significância estatística, uma vez que, todos os riscos relativos calculados tinham intervalos de confiança com o valor 1, portanto, não se pode afirmar que eram fatores de risco ou protetores. Quanto aos testes de susceptibilidade com a relação da resistência aos antifúngicos e seu possível impacto no desfecho óbito, observou-se que o fluconazol e voriconazol tiveram um risco relativo de 1.72 com intervalo de confiança entre 0.33 até 8.91, apresentando o valor 1, sendo este resultado não significativo estatisticamente para

o desfecho óbito. Não foi possível a realização dos cálculos para Caspofungina e Anfotericina B (Tabela 10).

Tabela 10 - Avaliação estatística dos fatores de virulência x desfecho clínico dos isolados de *Candida albicans* (2021).

Paramêtros	OR ^a (Range)
Fatores de virulência	
Catalase	Não calculado
Coagulase	0.72 (0.17 - 2.92)
Atividade hemolítica	0.96 (0.23 - 3.89)
Biofilme	1.31 (0.31 - 5.53)
Resistência aos antifúngicos	
Fluconazol	1.72 (0.33 - 8.91)
Voriconazol	1.72 (0.33 - 8.91)
Caspofungina	Não calculado
Anfotericina B	Não calculado

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Odds ratio com 95% de intervalo de confiança: OR = 1, ausência de correlação; OR > 1, correlação positiva; OR < 1, correlação negativa.

6 DISCUSSÃO

As infecções fúngicas são consideradas um problema de saúde pública devido ao seu aumento progressivo, juntamente com a maior ocorrência de resistência as drogas antifúngicas disponíveis e também pelas altas taxas de morbidade e mortalidade observadas nas últimas décadas. Além disso, o manejo dessas infecções resulta em consequências econômicas devido ao alto custo do tratamento. Dessa forma, torna-se necessário um efetivo controle dessas infecções e estratégias eficientes para a prevenção, o diagnóstico e o tratamento (Ruiz e Pereira., 2016 e Almeida et al., 2018).

Dentre as patologias fúngicas que acometem indivíduos em comunidade, fora do

ambiente hospitalar, as vulvovaginites, principais queixas nas consultas ginecológicas merecem destaque. Caracterizadas por desordens inflamatórias do trato genital inferior, possuem como principal agente etiológico espécies do gênero *Candida* (Farr A et al., 2021). A candidíase vulvovaginal recorrente é uma causa comum de morbidade significativa no sexo feminino em todos níveis da sociedade, afetando milhões de mulheres em todo o mundo. Em função do aumento da incidência das espécies de *Candida* spp. *não albicans*, a identificação a nível de espécie se faz fundamental no diagnóstico da candidíase vulvovaginal recorrente, pois as medidas de tratamento eficazes são melhores se forem específicas para cada espécie (Sobel JD., 2016). Em nosso estudo, dentre os participantes comunitários com isolados de conteúdo vaginal, tivemos (n=11; 19,3%) no seguimento retrospectivo e (n=9; 23,1%) no seguimento prospectivo.

Dentro do contexto hospitalar, entre pacientes com maior risco de aquisição de infecções fúngicas destacam-se os imunodeprimidos por quimioterapia, portadores de tumores sólidos ou câncer hematológico, receptores de transplante, aqueles sob uso prolongado de corticosteroide ou outros imunossupressores, HIV positivos, pacientes submetidos a intervenção cirúrgica gastrointestinal ou com pancreatite grave, queimados com doenças inflamatórias autoimunes, pacientes em extremos de idade (prematturos ou com idade avançada) e pacientes em estado geral crítico (Pemám et al., 2013). A faixa etária, um dos fatores de risco avaliados em ambos os seguimentos do nosso estudo, mostrou que indivíduos idosos com idade acima dos 60 anos possuem uma maior predisposição à aquisição dessas infecções, isso se dá pelo fato do sistema imunológico desses indivíduos passarem pelo fenômeno da imunossenescência, caracterizado pelo progressivo declínio da função imunológica e consequente aumento da susceptibilidade a infecções, também pelo aumento dessa população juntamente ao fato desses indivíduos estarem mais propensos a esquemas quimioterápicos agressivos para câncer ou drogas imunossupressoras para doenças malignas (Barbé-Tuana et al., 2020).

Estudo conduzido por Díaz e colaboradores (2020) avaliou o desfecho clínico de indivíduos com candidemia 50,0% dos pacientes foram a óbito. Fatores de risco como choque, ventilação mecânica assistida, trombocitopenia e insuficiência renal juntamente a alta faixa etária dos indivíduos foram determinantes no desenvolvimento de candidemia nos participantes e também na sua evolução clínica.

Os corticosteróides têm sido utilizados como intervenção farmacológica de base

em diversas condições clínicas, como, por exemplo, em estratégias para o sucesso de transplante de órgãos. Existem vários desafios no estabelecimento de um equilíbrio entre alcançar uma atmosfera tolerante no sistema imunológico do hospedeiro e minimizar o impacto de longo prazo dos esteróides no corpo, uma vez que os mesmos promovem depressão do sistema imunológico (Marzbani C e Bhimaraj A, 2022). Um estudo conduzido por Farhan e colaboradores (2019) avaliou o uso de corticoesteróides em 88 mulheres com candidíase vulvovaginal. O estudo constatou que as participantes que faziam uso crônico dessas medicações tiveram uma alta incidência de infecções recorrentes, atribuída à diminuição da imunidade nas mulheres que utilizavam corticoesteróides. Aproximadamente 75,5% dos indivíduos hospitalizados em nosso estudo retrospectivo e 66,6% no prospectivo fizeram uso prévio de corticóides antes da realização dos exames micológicos, sendo este um dado importante a ser considerado, uma vez que a administração desses fármacos possui influência sobre o sistema imunológico podendo contribuir para a instalação do processo infeccioso nesses participantes.

As infecções fúngicas invasivas são um problema emergente em todo o mundo, sendo a candidíase invasiva e a candidemia responsáveis pela maioria dos casos. Isso é predominantemente impulsionado pela adoção generalizada de terapia imunossupressora agressiva, uso prolongado de antimicrobianos e o uso crescente de dispositivos invasivos, como cateteres venosos centrais (Enoch et al., 2017). As leveduras do gênero *Candida* podem expressar fatores de virulência que propiciam sua instalação e disseminação no organismo, como a capacidade de aderência e formação de biofilme que facilitam sua aderência nesses dispositivos. Em nosso estudo prospectivo, (n=30; 47,6%) das 63 leveduras isoladas de indivíduos hospitalizados apresentaram a capacidade de produção de biofilme. Um estudo conduzido por (Janum e Afshari., 2016) descreve que as infecções da corrente sanguínea por *Candida* geralmente afetam aqueles severamente, em uso de cateter venoso central. Em nosso estudo retrospectivo, 84,2% dos participantes hospitalizados foram submetidos ao uso prévio de dispositivos médicos invasivos, sendo catéter venoso central (29,4%) o mais utilizado, dados que também se mostraram relevantes na parte prospectiva do estudo, onde 88,9% dos indivíduos hospitalizados também foram submetidos ao uso desses dispositivos, sendo o catéter venoso central o mais utilizado. Uma vez que o uso desses dispositivos promove o rompimento da integridade da pele associado, ao fato das infecções fúngicas deste gênero possam ser

oriundas de leveduras presentes na pele de profissionais de saúde ou superfícies desses dispositivos, os dados encontrados em nosso estudo mostram que o uso dos dispositivos médicos invasivos possa ter tido importância significativa na aquisição das infecções.

Outro fator de risco importante para o estabelecimento das candidíases é o uso extensivo de antimicrobianos de amplo espectro (Enoch et al., 2017). Neste estudo, 98,4% dos participantes do seguimento retrospectivo foram expostos à terapia antimicrobiana antes do diagnóstico de infecção fúngica e 85,7% no prospectivo, podendo ter também relevância na aquisição dos processos infecciosos dos indivíduos envolvidos uma vez que a literatura mostra que a exposição prolongada aos antimicrobianos podem promover alterações de microbiota que podem contribuir para a proliferação das leveduras fazendo que as suas propriedades oportunistas se manifestem e os processos infecciosos sejam causados.

Dos indivíduos hospitalizados no ano de 2020, 53,2% dos participantes com exame micológico positivo receberam terapia antifúngica, sendo a anidulafungina o fármaco mais empregado (53,9%) e tendo os derivados azólicos como os fármacos menos utilizados. Os outros 46,8% dos pacientes envolvidos na pesquisa não foram submetidos à terapia antifúngica. Uma possível justificativa para a não adesão da terapia antifúngica é a de que o espécime clínico com o maior número de isolados foi a urina (61,0%) e a candidúria, que não necessariamente envolve a presença de sinais e/ou sintomas de infecções urinárias. Trata-se de um evento muito frequente entre pacientes expostos a fatores de riscos, sendo que até 20% de pacientes hospitalizados, particularmente pacientes de unidade de terapia intensiva, podem apresentar candidúria ao longo de sua internação. Este achado laboratorial traz dilemas em relação à sua interpretação, visto que pode corresponder à simples contaminação da urina durante a coleta, cistite ou pielonefrite ou até mesmo candidíase disseminada com manifestação renal (Menezes et al., 2016). Neste contexto, o isolado fúngico avaliado junto às condições clínicas desses indivíduos possa ter sido levado em consideração para a não adesão da terapia antifúngica. Dentre os indivíduos hospitalizados no ano de 2021, apenas 25,4% receberam terapia antifúngica após confirmação de diagnóstico de infecção fúngica, sendo também a urina o espécime clínico mais predominante.

A parte retrospectiva deste estudo evidenciou predomínio de isolados de *Candida* spp. *não albicans* tanto na população de indivíduos comunitários (63,2%) como também na população dos indivíduos hospitalizados (62,7%). Alguns estudos nacionais, como o

publicado por Rodrigues (2020), revelou maior frequência de isolamento de linhagens do complexo *C. parapsilosis* (53/144, 36,8%) em detrimento ao complexo *C. albicans* (42/144, 29,1%) em amostras de sangue. Os resultados enfatizam a variedade de agentes e a relevância de espécies de *Candida* spp. *não albicans*, com destaque para algumas espécies emergentes. Nosso estudo corrobora com esses dados mostrando a importância da emergência das espécies de *Candida* spp. *não albicans* no contexto hospitalar. Alguns estudos internacionais como o conduzido por Bilal e colaboradores (2022) apontam a *C. albicans* como espécie mais prevalente. Um estudo conduzido por Marçon e colaboradores (2021) avaliou a distribuição de espécies de *Candida* e perfil de susceptibilidade em isolados de sangue. Foram isoladas 84 leveduras, sendo a *C. albicans* a mais incidente com 44%. A parte prospectiva envolvendo os participantes hospitalizados de nosso estudo reitera estes dados, pois a *C. albicans* (n=39; 61,9%) foi a espécie mais frequentemente isolada. Diante disso, cada parte do nosso estudo corrobora para o que a literatura mais atual relata, que é a *C. albicans* como espécie mais frequente, mas também outras espécies emergentes se mostrando relevantes no cenário das candidíases.

As leveduras do gênero *Candida* são capazes de produzir fatores de virulência que são determinantes na patogênese desses microrganismos. Entre os principais produzidos por estas leveduras estão termotolerância, presença de adesinas, barreiras de membrana e parede celular, formação de biofilme, expressão de genes de resistência aos antifúngicos, produção de toxinas, formação de tubo germinativo, bem como a produção de enzimas extracelulares, tais como fosfolipases, proteinases e hemolisinas (Staniszewska., 2020).

Na análise prospectiva deste estudo, a formação de biofilme foi um dos fatores de virulência com maior índice de positividade (n=30; 47,6%) dentre as leveduras isoladas de indivíduos hospitalizados, podendo ter contribuído de forma significativa para o desenvolvimento das infecções, uma vez que as leveduras possuem maior capacidade de aderência às superfícies de dispositivos médicos que foram amplamente utilizados nos participantes deste estudo. A atividade hemolítica também foi um fator de virulência ao qual as leveduras foram capazes de produzir. Dentro do grupo *C. albicans*, 55,9% produziram hemolisinas, enquanto 58,1% de *Candida* spp. *não albicans* produziram a enzima. Neste estudo, dentro da análise estatística que tinha como objetivo verificar a relação da produção dos fatores de virulência com desfecho clínico óbito intra-hospitalar

dos participantes, o grupo *Candida* spp. *não albicans* apresentou dados que possuem significância estatística para contribuição do óbito desses indivíduos. Neste trabalho, a grande maioria das leveduras testadas não produziram de maneira significativa os demais fatores de virulência como catalase, coagulase e slime.

Dentre os antifúngicos avaliados neste estudo, fluconazol e voriconazol são os de uso clínico mais comum para tratamento de infecções, muitas vezes devido ao seu custo relativamente menor quando comparado às outras classes. Ambos os fármacos pertencem à classe dos azóis, antifúngicos que atuam inibindo a enzima lanosterol 14- α -esterol demetilase, fundamental na síntese de ergosterol, um componente fundamental da membrana plasmática fúngica. Contudo, os resultados obtidos nesta pesquisa mostraram índices elevados de resistência das leveduras isoladas frente a estes fármacos. *C. albicans* apresentou índices de resistência para fluconazol e voriconazol de 79,7%, enquanto o grupo das *Candida* spp. *não albicans* foi de 53,5%. Os dados de nosso estudo reforçam dados já apontados por outros estudos como o conduzido por Govindarajan e colaboradores (2023) que mostram o aumento dos índices de resistência ao fluconazol e também de estudos nacionais como o conduzido por Rodrigues e colaboradores (2021), que revelou dados importantes como o crescente aumento de espécies resistentes ao fluconazol causadoras de candidemia.

Anfotericina B se mostrou in vitro o antifúngico mais eficaz para tratamento das infecções por *Candida*, inibindo o crescimento de 101 das 102 leveduras testadas, seguida da Caspofungina com índices de sensibilidade de 93,2% para *C. albicans* e 62,8% para *Candida* spp. *não albicans*. Diante de todos estes dados, este estudo mostra a necessidade dos profissionais avaliarem com maior acurácia e prudência o diagnóstico, tratamento e prevenção das candidíases, uma vez que 46,8% dos participantes da análise retrospectiva e 74,6% da análise prospectiva não foram submetidos à terapia antifúngica mesmo após a confirmação de exame micológico positivo.

Considerando que esta pesquisa se constituiu majoritariamente de indivíduos idosos, com estadia prolongada em hospital e oriundos de unidade de terapia intensiva, era esperado que o índice de óbito intra-hospitalar fosse superior ao de alta. Entretanto, uma limitação deste estudo reside na falta de dados para mensurar se a infecção fúngica foi a causa mortis. Vale ressaltar, neste estudo, que não ter incluído participantes com o diagnóstico para COVID-19 nos faz salientar que o estado de pandemia passado durante o período da pesquisa pode ter eventualmente influenciado na epidemiologia das

infecções fúngicas, tanto nos participantes comunitários quanto nos hospitalizados, uma vez que o isolamento social pode ter impedido a busca pelo diagnóstico dessas infecções e também pelo fato dos hospitais terem priorizado indivíduos com suspeita de COVID-19.

Neste sentido, estudos prospectivos se fazem necessários para o entendimento da patogênese destas infecções, bem como dos fatores de virulência envolvidos. A partir deste conhecimento, políticas de saúde, incluindo diagnóstico assertivo, tratamento precoce, manejo seguro e profilaxia poderão ser implementadas.

7 CONCLUSÃO

Neste estudo, indivíduos com idade mais avançada fiaram entre os mais acometidos por infecções fúngicas causadas por espécies de *Candida*, devido aos inúmeros fatores de risco aos quais estão envolvidos, seja no ambiente hospitalar ou na comunidade. Fatores de risco como o uso de corticosteróides, terapia antimicrobiana prolongada e uso de dispositivos invasivos podem ter influência importante no desenvolvimento dessas infecções. Espécies de *Candida* spp. *não albicans* foram mais frequentemente isoladas no seguimento retrospectivo tanto dos indivíduos comunitários como também dos hospitalizados, assim como dos indivíduos comunitários do seguimento prospectivo. *C. albicans* foi a espécie predominante entre os indivíduos hospitalizados do seguimento prospectivo.

Produção de fatores de virulência e resistência aos antifúngicos podem ser determinantes na patogênese das candidíases. Atividade hemolítica e a produção de biofilme foram os fatores de virulência mais manifestados pelas linhagens de *Candida* neste estudo. Níveis significativos de resistência foram apresentados pelas linhagens de *Candida* frente aos antifúngicos azóis. A terapia antifúngica implementada após diagnóstico para os indivíduos hospitalizados do seguimento prospectivo teve a Anfotericina B como antifúngico mais prescrito.

O aumento da incidência de espécies emergentes de *Candida* spp. *não albicans* é cada vez mais relevante para o monitoramento e controle das infecções associadas. Neste estudo, as correlações estatísticas mostraram que o desfecho óbito pode estar mais relacionado aos aspectos clínicos dos participantes. É importante ressaltar que mais estudos e pesquisas realizados em nossa região poderão fornecer mais informações para que seja possível direcionar discussões sobre prescrições adequadas e seguras de

antimicrobianos no tratamento de infecções fúngicas, suscitar reflexões sobre seu uso racional e sobre estratégias de controle, uma vez que essas infecções não constituem lesões de notificação compulsória em sua totalidade.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALASTRUEY-IZQUIERDO, Ana. WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. **World Health Organization: Geneva, Switzerland**, 2022.

ALMEIDA J. P.; PESSOA S. M. B.; MEDEIROS C. C. Q.; MISTRO S. Desfechos clínicos da terapia antifúngica em pacientes críticos de acordo com o timing para início do tratamento baseado no número de fatores de risco para infecção por fungos. **JAFF - Anais VI Fórum de Assistência Farmacêutica e Farmacoeconomia**, v. 3 n. s.1, 2018.

APOLÔNIO, Ana Carolina Moraes.; MACHADO Alessandra Barbosa Ferreira. **Microbiologia Bucal e Aplicada**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2018.

ALP Ş, A. Candida auris and Mechanisms of Antifungal Drug Resistance. **Mikrobiyol Bul**, Turkish, v.55, n.1, p. 99-112, 2021. doi: 10.5578/mb.20217. PMID: 33590985.

ARROYO-FAJARDO, A.; SAN JUAN-DELGADO, M. F; GARCÍA-RODRÍGUEZ, J. Candida glabrata vaginitis: The great ignored?. **Rev Iberoam Micol**, Spanish, v.34, n.4, p.246, 2017.doi: 10.1016/j.riam.2017.01.001. Epub 2017 May 31. PMID: 28579083.

ARRUA, J. M.; RODRIGUES, L. A.; PEREIRA, F. O.; LIMA, E.O. Prevalence of Candida tropicalis and Candida krusei in onychomycosis in João Pessoa, Paraíba, Brazil from 1999 to 2010. **An Acad Bras Cienc.**, v.87, n.3, p. 1819-1822, 2015. doi: 10.1590/0001-3765201520130418. Epub 2015 Sep 15. PMID: 26375021.

BARBÉ-TUANA, F.; FUNCHAL, G.; SCHMITZ, C. R. R.; MAURMANN, R. M.; BAUER, M. E. The interplay between immunosenescence and age-related diseases. **Semin Immunopathol**, v.42, n.5, p. 545-557, 2020. doi: 10.1007/s00281-020-00806-z. Epub 2020 Aug 3. PMID: 32747977; PMCID: PMC7398288.

BASSETTI, M.; GIACOBBE, D. R.; VENA, A.; WOLFF, M. Diagnosis and Treatment of Candidemia in the Intensive Care Unit. **Semin Respir Crit Care Med**, v.40, n.4, p. 524-539, 2019. doi: 10.1055/s-0039-1693704. Epub 2019 Oct 4. PMID: 31585478.

BERKOW, E. L.; LOCKHART, S. R.; OSTROSKY-ZEICHNER, L. Antifungal Susceptibility Testing: Current Approaches. **American Society for Microbiology Journals**, v. 33, n. 3, 2020. Disponível em: <https://cmr.asm.org/content/33/3/e00069-19>. Acesso em: 12 abr. 2021.

BILAL, H.; SHAFIQ, M.; HOU, B.; ISLAM, R.; KHAN, M. N.; KHAN, R. U.; ZENG, Y. Distribution and antifungal susceptibility pattern of *Candida* species from mainland China: A systematic analysis. **Virulence**, v. 13, n. 1, 2022, p. 1573-1589. doi: 10.1080/21505594.2022.2123325. PMID: 36120738; PMCID: PMC9487756.

BRANDT, F. P.; SAWAZAKI, J. A.; BASSETTO, C. N. G.; DE ALMEIDA, G. B.; DE OLIVEIRA, B. C. R.; TIBA, P. H.; PRANDINI, J. C. S.; DE OLIVEIRA, F. D. A.; FORTALEZA, C. M. C. B.; Cavalcante, R. D. S. Epidemiologia das candidemias durante o período de pandemia da COVID-19 em hospital de ensino: dados preliminares. **Braz J**

Infect Dis., 2022. doi: 10.1016/j.bjid.2022.102436. Epub 2022 Sep 9. PMID: PMC9461039.

BRASIL. Ministério da Saúde. Candidíase Sistêmica. Brasília. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/c/candidiase-sistemica>>. Acesso em: jun. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 8: Detecção e identificação de fungos de importância médica, 2013.

BRASIL. Portaria nº 204, de 17 de fevereiro de 2016. Define a Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2016/prt0204_17_02_2016.html.

BRUNKE, S.; MOGAVERO, S.; KASPER, L.; HUBE, B. Virulence factors in fungal pathogens of man. **Curr Opin Microbiol.**, 2016. doi: 10.1016/j.mib.2016.05.010. Epub 2016 May 31. PMID: 27257746

CACERES, D. H.; FORSBERG, K.; WELSH, R. M.; SEXTON, D. J.; LOCKHART S. R.; JACKSON, B. R.; CHILLER, T. Candida auris: A Review of Recommendations for Detection and Control in Healthcare Settings. **J Fungi (Basel)**, v.28, n.4, p.111, 2019. doi: 10.3390/jof5040111. PMID: 31795175; PMCID: PMC6958335.

CAMPOY, S.; ADRIO, J. L. Antifungals. **Biochem Pharmacol**, p.86-96, 2017. doi: 10.1016/j.bcp.2016.11.019. Epub 2016 Nov 21. PMID: 27884742.

CANASSA, A. L.; DA CRUZ, D. T. Candidemia incidence and susceptibility profile in a public hospital in Mato Grosso do Sul state, Brazil. **Rev. Bras. Pesq. Saúde**, Vitória, v. 21, n. 4, p. 110-117, 2019.

CAPOTE, A. M.; FERRARA, G.; PANIZO, M.M.; GARCÍA, N.; ALARCÓN, V.; REVIKINA, V.; DOLANDE, M. Superficial mycoses: casuistry of the Mycology Department of the Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". **Invest Clin**, Caracas (Venezuela), v. 57, n. 1, p. 47-58, 2016.

CARRILLO-MUÑOZ, A. J.; GIUSIANO, G.; EZKURRA, P. A.; QUINDÓS, G. Antifungal agents: mode of action in yeast cells. **Rev Esp Quimioter**, v. 19, n. 2, 2006.

CARVALHO, A.; COSTA-DE-OLIVEIRA, S.; MARTINS, M. L.; PINA-VAZ, C. RODRIGUES, A. G.; LUDOVICO, P.; RODRIGUES, F.; MULTIPLEX, P. C. R. identification of eight clinically relevant *Candida* species. **Med Mycol**, v. 25, n.7, p. 619-627, 2007. doi: 10.1080/13693780701501787.

CASADEVALL, A.; PIROFSKI, L. A. Host-pathogen interactions: redefining the basic concepts of virulence and pathogenicity. **Infect Immun**, v. 67, n. 8, p. 3703-3713, 1999. doi: 10.1128/IAI.67.8.3703-3713.1999.

CASTANHEIRA, M.; MESSER, S. A.; RHOMBERG, P. R.; PFALLER, M. A. Antifungal susceptibility patterns of a global collection of fungal isolates: results of the SENTRY Antifungal Surveillance Program (2013). **Diagn Microbiol Infect Dis.**, v. 85, n. 2, p. 200-204, 2016. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2016.02.009.

ČERNÁKOVÁ L.; LIGHT C.; SALEHI B.; ROGEL-CASTILLO C.; VICTORIANO M.; MARTORELL M.; SHARIFI-RAD J.; MARTINS N.; RODRIGUES C. F. Novel Therapies for Biofilm-Based *Candida* spp. Infections. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, v. 1214, p. 93-123, 2019. doi: 10.1007/5584_2019_400. PMID: 31321751.

CHANDRA, J.; KUHN, D. M.; MUKHERJEE, P. K.; HOYER, L. L.; MCCORMICK, T.; GHANNOUM, M. A. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. **J Bacteriol.**, v.183, n.18, p. 5385-5394, 2001. doi: 10.1128/JB.183.18.5385-5394.2001.

CHENOWETH, C. E.; GOULD, C. V.; SAINT, S. Diagnosis, management, and prevention of catheter-associated urinary tract infections. **Infect Dis Clin North Am.**, v. 28, n. 1, p. 105-119, 2014. doi: 10.1016/j.idc.2013.09.002.

CIOK-PATER, E., SMOLAK, P., WRÓBLEWSKA, J., GOSPODAREK, E. Influence of slime production and adhesion of *Candida* sp. on biofilm formation. **Med Dosw Mikrobiol**, v. 63, n. 1, p. 37-44, 2011.

CLINICAL and Laboratory Standards Institute (CLSI). Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts, 2 ed., 2017.

COSTA, A. C.; SANTIAGO S. B. **Mecanismo de resistência da *Candida Albicans***. Faculdade Alfredo Nasser, Instituto de Ciências da Saúde, Goiânia, 2014. Disponível em: <http://www.unifan.edu.br/unifan/aparecida/wp-content/uploads/sites/2/2019/09/MECANISMOS-DE-RESIST%C3%A7%C3%A3O-DA-CANDIDA-ALBICANS.pdf>

CZECHOWICZ, P.; NOWICKA, J.; GOŚCINIAK, G. Virulence factors of *Candida* spp. and host immune response important in the pathogenesis of vulvovaginal candidiasis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 11, p. 5895, 2022.

DADAR, M.; TIWARI, R.; KARTHIK, K.; CHAKRABORTY, S.; SHAHALI, Y.; DHAMA, K. *Candida albicans* - Biology, molecular characterization, pathogenicity, and advances in diagnosis and control - An update. **Microbial pathogenesis**, v. 117, p. 128-138, 2018.

DA SILVA, C. Dal G.; SANCHES, C. G. S.; CHASSOT, F. *Candida parapsilosis*: resistência aos antifúngicos. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 17, p. 1-16, 2022.

DE ROSA, F.G.; GARAZZINO, S.; PASERO D.; DI PERRI, G.; RANIERI, V. M; Invasive candidiasis and candidemia: new guidelines. **Minerva Anestesiol**, 2009.

DEORUKHKAR, S. C.; ROUSHANI, S. Identification of *Candida* Species: Conventional Methods in the Era of Molecular Diagnosis. **Annals of Microbiology and Immunology**. v. 1, n. 1, 2018.

DIAMOND, R. D.; CLARK, R. A.; HAUDENSCHILD, C. C. Damage to *Candida albicans* hyphae and pseudohyphae by the myeloperoxidase system and oxidative products of neutrophil metabolism in vitro. **J Clin Invest**, v. 66, n. 5, p. 908-917, 1980. doi: 10.1172/JCI109958. PMID: 6253527; PMCID: PMC371525.

DÍAZ, N. A.; FARINA, J.; HERRERA, J.; EZCURRA, M. C. Candidemia: characteristics in elderly patients. **Rev Chilena Infectol**, v. 37, n. 3, p. 288-294, 2020.

DONG, P. T.; ZHAN, Y.; JUSUF, S.; HUI, J.; DAGHER, Z.; MANSOUR, M. K.; CHENG, J. X. Photoinactivation of Catalase Sensitizes *Candida albicans* and *Candida auris* to ROS-Producing Agents and Immune Cells. **Adv Sci (Weinh)**, 2022. doi: 10.1002/advs.202104384.

DU, H.; BING, J.; HU, T.; ENNIS, C. L.; NOBILE, C. J.; HUANG, G.; *Candida auris*: Epidemiology, biology, antifungal resistance, and virulence. **PLoS Pathog**, 2020. doi: 10.1371/journal.ppat.1008921.

ENOCH, D. A.; YANG, H.; ALIYU, S. H.; MICALLEF, C. The Changing Epidemiology of Invasive Fungal Infections. **Methods Mol Biol.**, 2017. doi: 10.1007/978-1-4939-6515-1_2. FARHAN, M. A.; MOHARRAM, A. M.; SALAH, T.; SHAABAN, O. M. Types of yeasts that cause vulvovaginal candidiasis in chronic users of corticosteroids. **Med Mycol**, p. 681-687, 2019. doi: 10.1093/mmy/myy117.

FARR, A.; EFFENDY, I.; FREY TIRRI, B.; HOF, H.; MAYSER, P.; PETRICEVIC, L.; RUHNKE, M.; SCHALLER, M.; SCHAEFER, A. P. A.; SUSTR, V.; WILLINGER, B.; MENDLING, W. Guideline: Vulvovaginal candidosis (AWMF 015/072, level S2k). **Mycooses**, v. 64, n. 6, p. 583-602, 202. doi: 10.1111/myc.13248.

FONSECA, M. R. **A importância dos testes de suscetibilidade aos antifúngicos**. 2014. 102 f. Tese (Ciências Farmacêuticas) - Universidade Da Beira Interior, Covilhã, 2014.

FURLANETO, M.C.; GÓES, H. P.; PERINI, H. F.; DOS SANTOS, R. C.; FURLANETO-MAIA, L. How much do we know about hemolytic capability of pathogenic *Candida* species?. **Folia microbiologica**, v. 63, p. 405-412, 2018. doi: 10.1007/s12223-018-0584-5.

GÓMEZ-MOLERO, E.; DE-LA-PINTA, I.; FERNÁNDEZ-PEREIRA, J.; GROß, U.; WEIG, M.; QUINDÓS, G.; GROOT, P. W. J.; BADER, O. *Candida parapsilosis* colony morphotype forecasts biofilm formation of clinical isolates. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 1, p. 33, 2021. doi: 10.3390/jof7010033.

GONZÁLEZ-PÁRRAGA, P.; HERNÁNDEZ, J. A.; ARGÜELLES, J. C. Role of antioxidant enzymatic defences against oxidative stress (H₂O₂) and the acquisition of oxidative tolerance in *Candida albicans*. **Yeast**, v. 20, n. 14, p. 1161-1169, 2003. doi: 10.1002/yea.1029.

GOULART, L. S.; SOUZA, W. W. R.; VIEIRA, C. A.; LIMA, J. S.; OLINDA, R. A.; ARAÚJO, C. Oral colonization by *Candida* species in HIV-positive patients: association and

antifungal susceptibility study. **Einstein (Sao Paulo)**, v. 16, 2018. doi: 10.1590/S1679-45082018AO4224.

GOVINDARAJAN, A.; BISTAS, K. G.; INGOLD, C. J.; ABOEED, A. Fluconazole. **StatPearls**, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30725843/>.

GÜNDOĞAN, N.; CITAK, SUMRU; TURAN, E. Slime production, DNase activity and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk, pasteurised milk and ice cream samples. **Food Control**, v. 17, n. 5, p. 389-392, 2006. doi:10.1016/j.foodcont.2005.01.006

HADADI-FISHANI, M.; SHAKERIMOGHADDAM, A.; KHALEDI, A. *Candida* coinfection among patients with pulmonary tuberculosis in Asia and Africa; A systematic review and meta-analysis of cross-sectional studies. **Microbial pathogenesis**, v. 139, p. 103898, 2020. doi: 10.1016/j.micpath.2019.103898.

JAMIL, S.; JAMIL, N.; SAAD, U.; HAFIZ, S.; SIDDIQUI, S. Frequency of *Candida albicans* in Patients with Funguria. **J Coll Physicians Surg Pak**, v. 26, n. 2, p. 113-116, 2016.

JANUM, S.; AFSHARI, A. Central venous catheter (CVC) removal for patients of all ages with candidaemia. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 7, 2016. doi: 10.1002/14651858.CD011195.pub2.

JAYATILAKE, J. A. M. S.; TILAKARATNE, W. M.; PANAGODA, G. J. Candidal onychomycosis: a mini-review. **Mycopathologia**, v. 168, p. 165-173, 2009. doi: 10.1007/s11046-009-9212-x.

JUSUF, S.; ZHAN, Y.; ZHANG, M.; ALEXANDER, N. J.; VIENS, A.; MANSOUR, M. K.; CHENG, J. X. Blue Light Deactivation of Catalase Suppresses *Candida* Hyphae Development Through Lipogenesis Inhibition. **Photochemistry and Photobiology**, v. 99, n. 3, p. 936-946, 2023.

KALORITI, D.; TILLMANN, A.; COOK, E.; JACOBSEN, M.; YOU, T.; LENARDON, M.; AMES, L.; BARAHONA, M.; CHANDRASEKARAN, K.; COGHILL, G.; GOODMAN, D.; GOW, N. A.; GREBOGI, C.; HO H. L.; INGRAM, P. MCDONAGH, A. MOURA, A. P.; PANG, W.; PUTTNAM, M.; RADMANESH FAR, E.; ROMANO, M. C.; SILK, D.; STARK, J.; STUMPF, M.; THIEL, M.; THORNE, T.; USHER, J.; YIN, Z.; HAYNES, K.; BROWN, A. J. Combinatorial stresses kill pathogenic *Candida* species. **Medical mycology**, v. 50, n. 7, p. 699-709, 2012. doi: 10.3109/13693786.2012.672770.

KAUFFMAN, C. A. Diagnosis and management of fungal urinary tract infection. **Infectious Disease Clinics**, v. 28, n. 1, p. 61-74, 2014.

KRISTANC, L.; BOŽIČ, B.; JOKHADAR, Š. Z.; DOLENC, M. S.; GOMIŠČEK, G. The pore-forming action of polyenes: From model membranes to living organisms. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1861, n. 2, p. 418-430, 2019. doi: 10.1016/j.bbamem.2018.11.006.

LEHRER, R. I.; JAN, R. G. Interaction of *Aspergillus fumigatus* spores with human leukocytes and serum. **Infection and Immunity**, v. 1, n. 4, p. 345-350, 1970. doi: 10.1128/iai.1.4.345-350.1970.

LIMA, G. M. E.; NUNES, M. O.; CHANG, M. R.; TSUJISAKI, R. A. S.; NUNES, J. O.; TAIRA, C. L.; THOMAZ, D. Y.; NEGRO, G. M. B. D.; MENDES, R. P.; PANIAGO, A. M. M. Identification and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from the urine of patients in a university hospital in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 59, 2017. doi: 10.1590/S1678-9946201759075.

LINARES, C. E.; LORETO, É. S.; SILVEIRA, C. P.; POZZATTI, P. SCHEID, L. A.; SANTURIO, J. M.; ALVES, S. H. Enzymatic and hemolytic activities of *Candida dubliniensis* strains. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49, p. 203-206, 2007. doi: 10.1590/s0036-46652007000400001.

LOCKHART, S. R.; GUARNER, J. Emerging and reemerging fungal infections. In: **Seminars in diagnostic pathology**. WB Saunders, 2019. p. 177-181. doi: 10.1053/j.semcp.2019.04.010.

LOPEZ, J. E. M. Candidiasis (vulvovaginal). **BMJ clinical evidence**, v. 2015, 2015.

LUO, G.; SAMARANAYAKE, L. P.; YAU, J. Y. Y. *Candida* species exhibit differential in vitro hemolytic activities. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 8, p. 2971-2974, 2001. doi: 10.1128/JCM.39.8.2971-2974.2001. PMID: 11474025; PMCID: PMC88272.

MCCARTY, T. P.; WHITE, C. M.; PAPPAS, P. G. Candidemia and invasive candidiasis. **Infectious Disease Clinics**, v. 35, n. 2, p. 389-413, 2021. doi: 10.1016/j.idc.2021.03.007.

MANNS, J. M.; MOSSER, D. M.; BUCKLEY, H. R. Production of a hemolytic factor by *Candida albicans*. **Infection and immunity**, v. 62, n. 11, p. 5154-5156, 1994. doi: 10.1128/iai.62.11.5154-5156.1994.

MARÇON, C.; SILVEIRA, M.; CORREA, A. A. P. F.; LEVORATO, A. D.; MELHEM, M. S. C.; BONFIETTI, L. X.; CARVALHO, L. R.; MORIS, D. V.; MENDES, R. P. Distribuição de espécies e perfil de sensibilidade de agentes de candidemia em um hospital público brasileiro. **Braz J Infect Dis**. 2021. doi: 10.1016/j.bjid.2020.101434.

MARIA, L.; DANTAS, A. L.; LOPES, W. Infecções Fúngicas. In: **Boletins informativos PET-Farmácia**. Universidade Federal de Pernambuco. João Pessoa: Editora Ideia, p. 09-23, 2022.

MARZBANI, C.; BHIMARAJ, A. Corticosteroids in Immunosuppression. In: **Pharmacology of Immunosuppression**. Cham: Springer International Publishing, 2022. p. 73-84. doi: 10.1007/164_2021_567.

MEDEIROS, C. I. S.; SOUSA, M. N. A.; FILHO, G. G. A.; FREITAS, F. O. R.; UCHOA, D. P. L.; NOBRE, M. S. C.; BEZERRA, A. L. D.; ROLIM, L. A. D. M. M.; MORAIS, A. M. B.; NOGUEIRA, T. B. S. S.; NOGUEIRA, R. B. S. S.; FILHO, A. A. O.; LIMA, E. O. Antifungal activity of linalool against fluconazole-resistant clinical strains of vulvovaginal *Candida*

albicans and its predictive mechanism of action. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 55, 2022. doi: 10.1590/1414-431X2022e11831.

MEDEIROS, K. R. Candidíase Vulvovaginal: uma revisão da literatura. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, **Centro de Ciências da Saúde**, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2022.

MEENA, D. S.; KUMAR, D. Candida pneumonia: an innocent bystander or a silent killer?. **Medical Principles and Practice**, v. 31, n. 1, p. 98-102, 2022. doi: 10.1159/000520111.

MENEZES, E. A.; BARBOSA, A. C. L.; CUNHA, M. C. S. O.; MENDES, L. G.; CUNHA, F. A. Suscetibilidade a antifúngicos e fatores de virulência de *Candida* spp. isoladas em Russas, Ceará. **RBAC**, v. 48, n. 1, p. 33-8, 2016.

MEZZARI, A., MENEGHELLO, A. Micologia no laboratório clínico. **Fuentefria**. Barueri (São Paulo), 2012.

MIYASAK, N. R.; UNTERKIRCHER, C. S.; CARVALHO, P. O.; SHIMIZU, M. T. Electrophoretic variants of intracellular catalase of different *Candida* species. **Mycopathologia**, v. 158, p. 187-193, 2004. doi: 10.1023/b:myco.0000041902.96793.b7.

MOORS, M. A.; STULL, T. L.; BLANK, K. J.; BUCKLEY, H. R.; MOSSER, D. M. A role for complement receptor-like molecules in iron acquisition by *Candida albicans*. **The Journal of experimental medicine**, v. 175, n. 6, p. 1643-1651, 1992. doi: 10.1084/jem.175.6.1643.

MROCZYŃSKA, M.; BRILLOWSKA-DĄBROWSKA, A. Review on current status of echinocandins use. **Antibiotics**, v. 9, n. 5, p. 227, 2020. doi: 10.3390/antibiotics9050227.

NAKAGAWA, Y.; KOIDE, K.; WATANABE, K.; MORITA, Y.; MIZUGUCHI, I.; AKASHI, T. The expression of the pathogenic yeast *Candida albicans* catalase gene in response to hydrogen peroxide. **Microbiology and immunology**, v. 43, n. 7, p. 645-651, 1999. doi: 10.1111/j.1348-0421.1999.tb02452.x.

NAVEEN, K. V.; SARAVANAKUMAR, K.; SATHIYASEELAN, A.; MUBARAKALI, D.; WANG, M. H. Human fungal infection, immune response, and clinical challenge—a perspective during COVID-19 pandemic. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 194, n. 9, p. 4244-4257, 2022. doi: 10.1007/s12010-022-03979-5.

NEGRI, M.; FARIA, M.; GUILHERMETTI, E.; ALVES, A.; PAULA, C.; SVIDZINSKI, T. Hemolytic activity and production of germ tubes related to pathogenic potential of clinical isolates of *Candida albicans*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n. 1, 2010.

NEUFELD, Paulo Murillo. **Atlas para a Identificação de Fungos de Importância Médica**, 1.ed., Rio de Janeiro.

NETT, Jeniel E.; ANDES, David R. Antifungal agents: spectrum of activity, pharmacology, and clinical indications. **Infectious Disease Clinics**, v. 30, n. 1, p. 51-83, 2016. doi: 10.1016/j.idc.2015.10.012.

NOURAEI, H.; JAHROMI, M. G.; JAHROMI, L. R.; ZOMORODIAN, K.; PAKSHIR, K. Potential pathogenicity of *Candida* species isolated from oral cavity of patients with diabetes mellitus. **BioMed Research International**, v. 2021, p. 1-6, 2021. doi: 10.1155/2021/9982744.

ODABASI, Z.; MERT, A. *Candida* urinary tract infections in adults. **World journal of urology**, v. 38, n. 11, p. 2699-2707, 2020. doi: 10.1007/s00345-019-02991-5.

ODDS, F. C.; BROWN, A. J. P.; GOW, N. A. R. Antifungal agents: mechanisms of action. **Trends in microbiology**, v. 11, n. 6, p. 272-279, 2003. doi: 10.1016/s0966-842x(03)00117-3.

OLIVER, J. C.; FERREIRA, C. B. R. J.; SILVA, N. C.; DIAS, A. L. T. *Candida* spp. and phagocytosis: multiple evasion mechanisms. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 112, p. 1409-1423, 2019. doi: 10.1007/s10482-019-01271-x.

ORTIZ, B.; PÉREZ-ALEMÁN, E.; GALO, C.; FONTECHA, G. Molecular identification of *Candida* species from urinary infections in Honduras. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 35, n. 2, p. 73-77, 2018. doi: 10.1016/j.riam.2017.07.003.

PANKHURST, C. L. Candidiasis (oropharyngeal). **BMJ clinical evidence**, v. 2013, 2013.

PAPADIMITRIOU-OLIVGERIS, M.; SPILIOPOULOU, A.; KOLONITSIOU, F.; BARTZAVALI, C.; LAMBROPOULOU, A.; XAPLANTERI, P.; ANASTASSIOU, E. D.; MARANGOS, M.; SPILIOPOULOU, I.; CHRISTOFIDOU, M. Increasing incidence of candidaemia and shifting epidemiology in favor of *Candida* non-albicans in a 9-year period (2009–2017) in a university Greek hospital. **Infection**, v. 47, p. 209-216, 2019. doi: 10.1007/s15010-018-1217-2.

PAPPAS, P. G.; LIONAKIS, M. S.; ARENDRUP, M. C.; OSTROSKY-ZEICHNER, L.; KULLBERG, B. J. Invasive candidiasis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 1, p. 1-20, 2018. doi: 10.1038/nrdp.2018.26. PMID: 29749387.

PAŠKEVIČIUS, A.; ŠVEDIENĖ, J.; KIVERYTĖ, S.; BRIDŽIUVIENĖ, D.; VAITONIS, G.; JABLONSKIENĖ, V. *Candida* distribution in onychomycosis and in vitro susceptibility to antifungal agents. **Acta Dermatovenereologica Croatica**, v. 28, n. 4, p. 204-209, 2020.

PENDLETON, K. M.; HUFFNAGLE, G. B.; DICKSON, R. P. The significance of *Candida* in the human respiratory tract: our evolving understanding. **Pathogens and disease**, v. 75, n. 3, p. ftx029, 2017. doi: 10.1093/femspd/ftx029.

PEMÁN, Javier; ZARAGOZA, Rafael; SALAVERT, Miguel. Control y prevención de las infecciones nosocomiales y asociadas a cuidados sanitarios causadas por especies de *Candida* y otras levaduras. **Revista Española de Quimioterapia**, v. 26, n. 4, 2013.

Pereira R, Dos Santos Fontenelle RO, de Brito EHS, de Moraes SM. Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance. **Journal of Applied Microbiology**, v. 131, n. 1, p. 11-22, 2021. doi: 10.1111/jam.14949.

PEREIRA, L. C. Candidíase vulvovaginal e perspectivas atuais: sintomas, diagnóstico laboratorial, prevalência das espécies, resistência à antifúngicos, novos fatores de risco associados e avaliação da recorrência. 2021. 93 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) -Universidade de Brasília, Brasília, 2021.

POLKE, M.; HUBE, B.; JACOBSEN, I. D. *Candida* survival strategies. **Advances in Applied Microbiology**, v. 91, p. 139-235, 2015. doi: 10.1016/bs.aambs.2014.12.002.

PONDE, N. O.; LORTAL, L.; RAMAGE, G.; NAGLIK, J. R.; RICHARDSON, J. P. *Candida albicans* biofilms and polymicrobial interactions. **Critical reviews in microbiology**, v. 47, n. 1, p. 91-111, 2021. doi: 10.1080/1040841X.2020.1843400.

PRAMODHINI, S.; SRIRANGARAJ, S.; EASOW, J. M. Candiduria—study of virulence factors and its antifungal susceptibility pattern in tertiary care hospital. **Journal of Laboratory Physicians**, v. 13, n. 03, p. 231-237, 2021. doi: 10.1055/s-0041-1730880.

PRISTOV, K. E.; GHANNOUM, M. A. Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 25, n. 7, p. 792-798, 2019. doi: 10.1016/j.cmi.2019.03.028.

RAJENDRAN, R.; SHERRY, L.; NILE, C.J.; SHERRIFF, A.; JOHNSON, E. M.; HANSON, M. F.; WILLIAMS, C.; MUNRO, C. A.; JONES, B. J.; RAMAGE, G. Biofilm formation is a risk factor for mortality in patients with *Candida albicans* bloodstream infection—Scotland, 2012–2013. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, n. 1, p. 87-93, 2016. doi: 10.1016/j.cmi.2015.09.018.

RIGOPOULOS, Dimitris; ELEWSKI, Boni; RICHERT, Bertrand (Ed.). **Onychomycosis: diagnosis and effective management**. John Wiley & Sons, 2018.

RICETO, É. B. DE M.; MENEZES, R. DE P.; PENATTI, M. P. A.; PEDROSO, R. DOS S. Enzymatic and hemolytic activity in different *Candida* species. **Revista iberoamericana de micologia**, v. 32, n. 2, p. 79-82, 2015. doi: 10.1016/j.riam.2013.11.003.

RODRIGUES, A. G.; PINA-VAZ, C. COSTA-DE-OLIVEIRA, S.; TAVARES, C. Expression of plasma coagulase among pathogenic *Candida* species. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 12, p. 5792-5793, 2003.

RODRIGUES, D. K. B.; BONFIETTI, L. X.; GARCIA, R. A.; ARAUJO, M. R.; RODRIGUES, J. S.; GIMENES, V. M. F.; MELHEM, M. S. C. Antifungal susceptibility profile of *Candida* clinical isolates from 22 hospitals of São Paulo State, Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 54, 2021. doi: 10.1590/1414-431X2020e10928.

RODRIGUES, D. K. B. Distribuição das espécies de crípticas de *Candida* em isolados de corrente sanguínea: identificação e perfil de sensibilidade antifúngica. 2020.

RODRIGUES, M. T.; GONÇALVES, A. C.; ALVIM, M. C.; CASTELLANO FILHO, D. S.; ZIMMERMANN, J. B.; DA SILVA, V. L.; DINIZ, C. G. Association between vaginal secretion culture, socio-demographic characteristics and clinical manifestations of patients with vulvovaginal candidiasis. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 35, p. 554-561, 2013. doi: 10.1590/s0100-72032013001200005.

RUIZ, L. S.; PEREIRA, V. B. R. Importância dos fungos no ambiente hospitalar. **Bol Inst Adolfo Lutz**, v. 26, n. 2, p. 2-4, 2016.

SANTANA, M. M. P.; HOFFMANN-SANTOS, H. D.; DIAS, L. B.; TADANO, T.; KARHAWI, A. S. K.; DUTRA, V.; CÂNDIDO, S. L.; HAHN, R. C. Epidemiological profile of patients hospitalized with candiduria in the Central-Western region of Brazil. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 36, n. 4, p. 175-180, 2019. doi: 10.1016/j.riam.2019.04.006.

SCHAFFNER, A.; DOUGLAS, H.; BRAUDE, A. Selective protection against conidia by mononuclear and against mycelia by polymorphonuclear phagocytes in resistance to *Aspergillus*: observations on these two lines of defense in vivo and in vitro with human and mouse phagocytes. **The Journal of clinical investigation**, v. 69, n. 3, p. 617-631, 1982. doi: 10.1172/jci110489.

SHAFIEI, M.; PEYTON, L.; HASHEMZADEH, M.; FOROUMADI, A. History of the development of antifungal azoles: A review on structures, SAR, and mechanism of action. **Bioorganic chemistry**, v. 104, p. 104240, 2020. doi: 10.1016/j.bioorg.2020.104240.

SHIMIZU, M. T.; ALMEIDA, N. Q.; FANTINATO, V.; UNTERKIRCHER, C. S. Studies on hyaluronidase, chondroitin sulphatase, proteinase and phospholipase secreted by *Candida* species: Untersuchungen zur Hyaluronidase-, Chondroitinsulfatase-, Proteinase- und Phospholipase-Aktivität bei verschiedenen *Candida*-Arten. **Mycoses**, v. 39, n. 5-6, p. 161-167, 1996. doi: 10.1111/j.1439-0507.1996.tb00120.x.

SHIN, J. H.; KEE, S. J.; SHIN, M. G.; KIM, S. H.; SHIN, D. H.; LEE, S. K.; SUH, S. P.; RYANG, D. W. Biofilm production by isolates of *Candida* species recovered from nonneutropenic patients: comparison of bloodstream isolates with isolates from other sources. **Journal of clinical microbiology**, v. 40, n. 4, p. 1244-1248, 2002. doi: 10.1128/JCM.40.4.1244-1248.2002.

SILVA, J. O.; FERREIRA, J. C.; CANDIDO, R. C. Enzymatic activity, slime production and antifungal agent sensitivity of *Candida* sp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 3, 2007. doi: 10.1590/s0037-86822007000300023.

SKLENÁR, Z.; SCIGEL, V.; HORÁCKOVÁ, K.; SLANAR, O. Compounded preparations with nystatin for oral and oromucosal administration. **Acta poloniae pharmaceutica**, v. 70, n. 4, p. 759-762, 2013.

SOBEL, J. D. Recurrent vulvovaginal candidiasis. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 214, n. 1, p. 15-21, 2016. doi: 10.1016/j.ajog.2015.06.067.

STANISZEWSKA, M. Virulence factors in *Candida* species. **Current Protein and Peptide Science**, v. 21, n. 3, p. 313-323, 2020. doi: 10.2174/1389203720666190722152415.

STEIMBACH, L. M.; TONIN, F. S.; VIRTUOSO, S.; BORBA, H. H.; SANCHES, A. C.; WIENS, A.; FERNANDEZ-LLIMÓS, F.; PONTAROLO, R. Efficacy and safety of amphotericin B lipid-based formulations—A systematic review and meta-analysis. **Mycoses**, v. 60, n. 3, p. 146-154, 2017. doi: 10.1111/myc.12585.

SZYMAŃSKI, M.; CHMIELEWSKA, S.; CZYŻEWSKA, U.; MALINOWSKA, M.; TYLICKI, A. Echinocandins—structure, mechanism of action and use in antifungal therapy. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 37, n. 1, p. 876-894, 2022. doi: 10.1080/14756366.2022.2050224.

TAMURA, N. K.; NEGRI, M. F.; BONASSOLI, L. A.; SVIDZINSKI, T. I. Fatores de virulência de *Candida* spp. isoladas de cateteres venosos e mãos de servidores hospitalares [Virulence factors for *Candida* spp. recovered from intravascular catheters and hospital workers hands]. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 1, 2007. doi: 10.1590/s0037-86822007000100021. PMID: 17486265.

VANNINI, M.; EMERY, S.; LIEUTIER-COLAS, F.; LEGUEULT, K.; MONDAIN, V.; RETUR, N.; GASTAUD, L.; POMARES, C.; HASSEINE, L. Epidemiology of candidemia in NICE area, France: A five-year study of antifungal susceptibility and mortality. **Journal of Medical Mycology**, v. 32, n. 1, 2022. doi: 10.1016/j.mycmed.2021.101210.

VANDEPUTTE, P.; FERRARI, S.; COSTE, A. T. Antifungal resistance and new strategies to control fungal infections. **International journal of microbiology**, v. 2012, 2012. doi: 10.1155/2012/713687.

VIEIRA, F.; NASCIMENTO, T. Resistência a Fármacos Antifúngicos por *Candida* e Abordagem Terapêutica. **Rev Port Farmacoter**. v. 9, n. 3, 2017.

ZARRINFAR, H.; KABOLI, S.; DOLATABADI, S.; MOHAMMADI, R. Rapid detection of *Candida* species in bronchoalveolar lavage fluid from patients with pulmonary symptoms. **brazilian journal of microbiology**, v. 47, p. 172-176, 2016. doi: 10.1016/j.bjm.2015.02.001.

WIDATY, S.; MIRANDA, E.; BRAMONO, K.; MENALDI, S.L.; MARISSA, M.; OKTARINA, C.; SURYA, D.; KUSUMAWARDHANI, H. T. Prognostic factors influencing the treatment outcome of onychomycosis *Candida*. **Mycoses**, v. 63, n. 1, p. 71-77, 2020. doi: 10.1111/myc.13018.

WYSONG, D. R.; CHRISTIN, L.; SUGAR, A. M.; ROBBINS, P. W.; DIAMOND, R. D. Cloning and sequencing of a *Candida albicans* catalase gene and effects of disruption of this gene. **Infection and immunity**, v. 66, n. 5, p. 1953-1961, 1998. doi: 10.1128/IAI.66.5.1953-1961.1998.

YAPAR, Nur. Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. **Therapeutics and clinical risk management**, p. 95-105, 2014. doi: 10.2147/TCRM.S40160.

YIGIT, N.; AKTAS, E.; DAGISTAN, S.; AYYILDIZ, A. Investigating biofilm production, coagulase and hemolytic activity in *Candida* species isolated from denture stomatitis patients. **The Eurasian Journal of Medicine**, v. 43, n. 1, p. 27, 2011.

YOUSIF, A.; JAMAL, M. A.; RAAD, I. Biofilm-based central line-associated bloodstream infections. **Biofilm-based Healthcare-associated Infections: Volume I**, p. 157-179, 2015.

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Epidemiologia das infecções fúngicas em Juiz de Fora/Minas Gerais: etiologia, diversidade genética e perfil de susceptibilidade aos antifúngicos

Pesquisador: Vanessa Cordeiro Dias

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 18611019.6.0000.5147

Instituição Proponente: Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia/UFJF

Patrocinador Principal: Cortes Villela Medicina Laboratorial

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.783.237

Apresentação do Projeto:

Apresentação do projeto está clara, detalhada de forma objetiva, descreve as bases científicas que justificam o estudo, estando de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12 de 2012, item III.

Objetivo da Pesquisa:

Os Objetivos da pesquisa estão claros bem delineados, apresenta clareza e compatibilidade com a proposta, tendo adequação da metodologia aos objetivos pretendido, de acordo com as atribuições definidas na Norma Operacional CNS 001 de 2013, item 3.4.1 - 4.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos e benefícios descritos em conformidade com a natureza e propósitos da pesquisa. O risco que o projeto apresenta é caracterizado como risco mínimo e benefícios esperados estão adequadamente descritos. A avaliação dos Riscos e Benefícios está de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12 de 2012, itens III; III.2 e V.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto está bem estruturado, delineado e fundamentado, sustenta os objetivos do estudo em sua metodologia de forma clara e objetiva, e se apresenta em consonância com os princípios éticos norteadores da ética na pesquisa científica envolvendo seres humanos elencados na resolução 466/12 do CNS e com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS.

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N

Bairro: SAO PEDRO

CEP: 36.036-900

UF: MG

Município: JUIZ DE FORA

Telefone: (32)2102-3788

Fax: (32)1102-3788

E-mail: cep.propesq@ufjf.edu.br

Continuação do Parecer: 3.783.237

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O protocolo de pesquisa está em configuração adequada, apresenta FOLHA DE ROSTO devidamente preenchida, com o título em português, identifica o patrocinador pela pesquisa, estando de acordo com as atribuições definidas na Norma Operacional CNS 001 de 2013 item 3.3 letra a; e 3.4.1 item 16. Apresenta o TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO em linguagem clara para compreensão dos participantes, apresenta justificativa e objetivo, campo para identificação do participante, descreve de forma suficiente os procedimentos, informa que uma das vias do TCLE será entregue aos participantes, assegura a liberdade do participante recusar ou retirar o consentimento sem penalidades, garante sigilo e anonimato, explicita riscos e desconfortos esperados, indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa, contato do pesquisador e do CEP e informa que os dados da pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador pelo período de cinco anos, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466 de 2012, itens: IV letra b; IV.3 letras a, b, d, e, f, g e h; IV. 5 letra d e XI.2 letra f. O Pesquisador apresenta titulação e experiência compatível com o projeto de pesquisa, estando de acordo com as atribuições definidas no Manual Operacional para CPEs. Apresenta DECLARAÇÃO de infraestrutura e de concordância com a realização da pesquisa de acordo com as atribuições definidas na Norma Operacional CNS 001 de 2013 item 3.3 letra h.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto, o projeto está aprovado, pois está de acordo com os princípios éticos norteadores da ética em pesquisa estabelecido na Res. 466/12 CNS e com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS. Data prevista para o término da pesquisa: dezembro de 2023.

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa CEP/UFJF, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 466/12 e com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS, manifesta-se pela APROVAÇÃO do protocolo de pesquisa proposto. Vale lembrar ao pesquisador responsável pelo projeto, o compromisso de envio ao CEP de relatórios parciais e/ou total de sua pesquisa informando o andamento da mesma, comunicando também eventos adversos e eventuais modificações no protocolo.

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N

Bairro: SAO PEDRO

CEP: 36.036-900

UF: MG

Município: JUIZ DE FORA

Telefone: (32)2102-3788

Fax: (32)1102-3788

E-mail: cep.propesq@ufjf.edu.br

Continuação do Parecer: 3.783.237

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1397990.pdf	18/12/2019 14:18:43		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	18/12/2019 13:59:31	Vanessa Cordeiro Dias	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Assentimento.doc	18/12/2019 13:59:19	Vanessa Cordeiro Dias	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	11/12/2019 08:16:00	Vanessa Cordeiro Dias	Aceito
Outros	Conflito_de_interesses.pdf	30/08/2019 08:14:45	Vanessa Cordeiro Dias	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Infraestrutura_HAS.pdf	30/08/2019 08:13:41	Vanessa Cordeiro Dias	Aceito
Folha de Rosto	Folha.pdf	06/08/2019 20:53:01	Vanessa Cordeiro Dias	Aceito
Outros	Ciencia.pdf	31/07/2019 14:55:32	Vanessa Cordeiro Dias	Aceito
Outros	Acesso.jpg	31/07/2019 14:54:16	Vanessa Cordeiro Dias	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Bio.pdf	31/07/2019 14:53:16	Vanessa Cordeiro Dias	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Infraestrutura.pdf	31/07/2019 14:51:22	Vanessa Cordeiro Dias	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N
Bairro: SAO PEDRO **CEP:** 36.036-900
UF: MG **Município:** JUIZ DE FORA
Telefone: (32)2102-3788 **Fax:** (32)1102-3788 **E-mail:** cep.propesq@ufjf.edu.br



UFJF - UNIVERSIDADE
FEDERAL DE JUIZ DE FORA -
MG



Continuação do Parecer: 3.783.237

JUIZ DE FORA, 19 de Dezembro de 2019

Assinado por:
Jubel Barreto
(Coordenador(a))

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N

Bairro: SAO PEDRO

CEP: 36.036-900

UF: MG

Município: JUIZ DE FORA

Telefone: (32)2102-3788

Fax: (32)1102-3788

E-mail: cep.propesq@ufjf.edu.br