

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS – UFMG
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - ICB
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

**IDENTIFICAÇÃO DE LEVEDURAS CAUSADORAS DE MICOSES
OPORTUNISTAS EM BELO HORIZONTE, MINAS GERAIS, BRASIL**

LUCRÉCIA DE FÁTIMA GERALDO

Belo Horizonte

2020

LUCRÉCIA DE FÁTIMA GERALDO

**IDENTIFICAÇÃO DE LEVEDURAS CAUSADORAS DE MICOSES
OPORTUNISTAS EM BELO HORIZONTE, MINAS GERAIS, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Microbiologia.

Aluna: Lucrécia de Fátima Geraldo

Orientadora: Profa. Dra. Susana Johann

Belo Horizonte

2020

- 043 Geraldo, Lucrécia de Fátima.
 Identificação de leveduras causadoras de micoses oportunistas em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil [manuscrito] / Lucrécia de Fátima Geraldo. – 2020.
 164 f. : il. ; 29,5 cm.
- Orientadora: Profa. Dra. Susana Johann.
 Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia.
1. Microbiologia. 2. Biologia molecular. 3. Doenças transmissíveis. 4. Leveduras. 5. Candida. I. Johann, Susana. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 579



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

NOME DA ALUNA: LUCRÉCIA DE FÁTIMA GERALDO - 2017674359

Título do Trabalho: "Identificação de leveduras causadoras de micoses oportunistas em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil"

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós Graduação em Microbiologia, como requisito para obtenção do grau de Mestra em Microbiologia.

Aprovada em 31 de agosto de 2020, pela banca constituída pelos membros:

Membros da banca:

Profa. Dra. Nalu Teixeira de Aguiar Peres

Profa. Dra. Rachel Basques Caligiorne

Profa. Dra. Susana Johann - Orientadora

Dra. Daniele da Glória de Souza
(Coordenadora do Programa de Pós-graduação
em Microbiologia/UFMG)

Belo Horizonte, 31 de agosto de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Daniele da Gloria de Souza, Coordenador(a) de curso de pós-graduação**, em 08/08/2022, às 13:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1012076** e o código CRC **C253471B**.

Referência: Processo nº 23072.231970/2021-40

SEI nº 1012076

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela vida e o amor, pelas oportunidades encaminhadas a mim e pelas pessoas que estiveram e estão presentes na minha vida.

A Profa. Dra. Susana Johann pela orientação, pela oportunidade, pela disponibilidade, pela atenção e ensinamentos que foram imprescindíveis na realização deste trabalho.

Agradeço ao coordenador da pós graduação de microbiologia Prof. Dr. Flavio Guimarães da Fonseca, agradeço também aos funcionários Débora e Tiago.

Agradeço a minha colega Carolina Miranda pelo enorme apoio.

Meus agradecimentos ao Laboratório de Taxonomia, Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos pelo apoio financeiro para o presente estudo.

Agradeço aos meus pais pela vida, pelo amor, exemplo e incentivo e aos meus irmãos pelo apoio.

A todos os meus colegas, que de longe ou de perto acompanharam e torceram por mim e de uma forma ou de outra, contribuíram para a finalização deste trabalho.

Muito obrigada!

RESUMO

As leveduras estão entre as maiores causas de doenças infecciosas nosocomiais no mundo, em particular as causadas pela espécie do gênero *Candida*, em particular a espécie *Candida albicans*, por ser a mais prevalente em doenças em humanos. Posteriormente, seguem a *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. dubliniensis*, das quais citamos também as emergentes, *C. nivariensis*, *C. inconspicua*, *C. norvegensis* e *C. auris*. As espécies do gênero *Candida* fazem parte da microbiota humana e estão presentes em mucosas, pele e trato genital, mas podem torna-se patogênicas desencadeando processos infecciosos e doenças sistêmicas graves, principalmente em indivíduos imunocomprometidos. A identificação destas leveduras é realizada por testes bioquímicos, cultura e por métodos moleculares. Importante ressaltar a realização de atividades de vigilância contínua para identificar alterações nas taxas de incidência, agentes etiológicos, populações suscetíveis e resistência a antifúngicos. O objetivo deste trabalho é identificar as leveduras causadoras de micoses oportunistas em dois hospitais de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. Além de confrontar os dados obtidos com os resultados encontrados em laboratório das unidades e com informações no prontuário do paciente. A metodologia inclui obtenção das amostras, isolamento e identificação das leveduras, criopreservação, uso e análise de dados. De 129 amostras biológicas cedidas pelos hospitais colaboradores, foram obtidas 151 isolados e analisados 51 isolados. Inicialmente os isolados foram separados por grupos conforme suas características macroscópicas, utilizando para isto o meio de cultura CHROMágar *Candida*®. Os isolados foram identificados utilizando técnicas de biologia molecular, fingerprinting oligonucleotídeo (GTG)₅ sequências repetidas intercaladas concedendo a amplificação de fragmentos de DNA de tamanhos distintos e sequenciamento nucleotídico. Após a análise dos resultados pelo método CHROMágar *Candida*®, observamos a prevalência de *C. albicans*, não identificado e *C. krusei*. Observamos também a prevalência da espécie *C. albicans* seguida da *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. dubliniensis* e *Kluyveromyces marxianus*. Os 51 pacientes internados nos hospitais colaboradores tinham média de idade de 44,4 anos, a maioria residem em Belo Horizonte e também sem informação com relação a profissão, 52,94% apresentam testes HIV positivo e 28 evoluíram para óbito. Verificamos com este trabalho, a importância do uso de metodologia molecular, com resultados mais precisos, comparada a metodologia convencional.

Palavras-chave: GÊNERO CANDIDA, LEVEDURAS, DADOS EPIDEMIOLÓGICOS, DOENÇAS INFECCIOSAS, BIOLOGIA MOLECULAR.

ABSTRACT

Yeasts are among the major causes of nosocomial infectious diseases in the world, in particular those caused by the species of the genus *Candida*, in particular the species *Candida albicans*, as it is the most prevalent in diseases in humans. Subsequently they follow *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis* and *C. dubliniensis*, of which we also mention the emerging ones, *C. nivariensis*, *C. inconspicuous*, *C. norvegensis* and *C. auris*. The species of the genus *Candida* are part of the human microbiota and are present in mucous membranes, skin and genital tract, but they can become pathogenic triggering infectious processes and serious systemic diseases, especially in immunocompromised individuals. The identification of these yeasts is carried out by biochemical tests, culture and by molecular methods. It is important to highlight the performance of continuous surveillance activities to identify changes in incidence rates, etiological agents, susceptible populations and resistance to antifungals. The objective of this work is to identify the yeasts that cause opportunistic mycoses in two hospitals in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. In addition to comparing the data obtained with the results found in the units' laboratory and with information in the patient's record. The methodology includes obtaining samples, isolation and identification of yeasts, cryopreservation, use and analysis of data. Of 129 biological samples provided by the collaborating hospitals, 151 isolates were obtained and 51 isolates were analyzed. Initially the isolates were separated into groups according to their macroscopic characteristics, using the CHROMágar *Candida*® culture medium for this. The isolates were identified using molecular biology techniques, oligonucleotide fingerprinting (GTG) 5 repeated sequences interspersed granting amplification of DNA fragments of different sizes and molecular sequencing. After analyzing the results using the CHROMágar *Candida*® method, we observed the prevalence of *C. albicans*, unidentified and *C. krusei*. We also observed the prevalence of the species *C. albicans* followed by *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. dubliniensis* and *Kluyveromyces marxianus*. The 51 patients admitted to the collaborating hospitals had an average age of 44.4 years, the majority live in Belo Horizonte and also without information regarding the profession, 52.94% have HIV positive tests and 28 have died. We verified with this work, the importance of using molecular methodology, with more precise results, compared to the conventional methodology.

keyword: CANDIDA GENUS, YEAST, EPIDEMIOLOGICAL DATA, INFECTIOUS DISEASES, MOLECULAR BIOLOGY.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Metodologias para identificação de CI.....	56
------------------	--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Características de Biofilmes.....	22
Tabela 2:	Identificação incorreta de <i>Candida auris</i>	34
Tabela 3:	Espécimes clínicas com respectivos isolados de <i>C. nivariensis</i>	36
Tabela 4:	Presença de leveduras do gênero <i>Candida</i> em Onicomicoses.	40
Tabela 5:	Distribuição e frequência de associação de espécies de <i>Candida</i> isoladas da cavidade oral de pacientes com HIV.....	50
Tabela 6:	Distribuição da frequência e porcentagem das espécies isoladas	51
Tabela 7:	Cores presuntivas utilizando o meio CHROMágar <i>Candida</i> ®.....	61
Tabela 8:	Colônias mistas em CHROMágar <i>Candida</i> ®.....	68
Tabela 9:	Colônias de leveduras de coloração verde no meio CHROMágar <i>Candida</i> ® HEM e HJK.....	81
Tabela 10:	Colônias de leveduras de coloração rosa no meio CHROMágar <i>Candida</i> ® HEM e HJK.....	85
Tabela 11:	Colônias de leveduras de coloração azul no meio CHROMágar <i>Candida</i> ® HEM e HJK.....	89
Tabela 12:	Colônias de leveduras de coloração creme no meio CHROMágar <i>Candida</i> ® HEM e HJK.....	90
Tabela 13:	Bandas similares a levedura de referência <i>C. albicans</i>	92
Tabela 14:	Bandas não similares a levedura de referência <i>C. albicans</i>	92
Tabela 15:	Resultado do sequenciamentos e análises da plataforma Blast.....	96
Tabela 16:	Resultados por método presuntivo e biologia molecular.....	99
Tabela 17:	Dados de prontuários de pacientes internados no HEM e HJK.....	115
Tabela 18:	Identificação presuntiva/ identificação molecular.....	116

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1:	Isolados identificadas.....	99
Gráfico 2:	Cidades/Profissões.....	101
Gráfico 3:	Óbitos/Identificação presuntiva.....	101
Gráfico 4:	Vivos/Identificação presuntiva.....	102
Gráfico 5:	Óbitos/Identificação molecular.....	103
Gráfico 6:	Vivos/Identificação molecular.....	103
Gráfico 7:	Amostras biológicas/ Pacientes HIV positivo.....	104
Gráfico 8:	Amostras biológicas/ Pacientes HIV negativo.....	105
Gráfico 9:	Doenças de base/Óbitos.....	105
Gráfico 10:	Doenças de base/Agentes etiológicos I.....	106
Gráfico 11:	Doenças de base/Agentes etiológicos II.....	107
Gráfico 12:	HIV /Óbitos/ Pacientes vivos.....	108
Gráfico 13:	Amostras biológicas/Agentes Etiológicos-Biologia molecular..	108
Gráfico 14:	Amostras biológicas/Agentes Etiológicos-CHROMagar Candida®.....	109

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS:	Centro Nacional de Informação Biotecnológica
AFLP:	Polimorfismo de comprimento de fragmento amplificado
API:	Índice de perfil analítico
ATCC:	Coleção de cultura tipo americana
ANVISA:	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BDG:	β -D-glucan
BLASTn:	(Basic Local Alignment Search Tool) - Ferramenta básica de pesquisa de alinhamento local
CAC:	Candidíase atrófica crônica
CBS:	Agência Central de culturas de mofos
CDC:	Centro de Controle e Prevenção de Doenças
CDOC:	Centro de Diagnóstico de Oral
CIM	Concentração inibitória mínima
CLSI:	(Clinical and Laboratory Standards Institute) - Instituto de Padrões Clínicos e de Laboratório
CVV:	Candidíase Vulvovaginal
CVVR:	Candidíase Vulvovaginal Recorrente
D1/D2:	Regiões 26S do DNA ribossomal
DMSO:	Dimetilsulfóxido
DNA:	Ácido desoxirribonucleico
EAU:	Emiratos Árabes Unidos
EPA:	Eicosapentanóico
EUA:	Estados Unidos da América
EUCAST:	Comité Europeu de Testes de Susceptibilidade aos Antimicrobianos
GYMP:	Caldo de preparo pra congelamento de leveduras
(GTG)5:	oligonucleótido sintético

HEM:	Hospital Eduardo de Menezes
HIV:	Vírus da Imunodeficiência Humana
HJK:	Hospital Júlia Kubitschek
ICB:	Instituto de Ciências Biológicas
INCA:	Instituto Nacional do Câncer
ITS:	Espaçador Transcreto Interno
ITU:	Unidade de Tratamento Intensivo
LES:	Lúpus eritematoso sistêmico
MALDI-TOF MS:	Dessorção/ionização a laser auxiliado por matriz em espectrofotometria de massa
MRL:	Laboratório de Referência de Micologia do Reino Unido
MIC:	Concentração inibitória mínima
NAC:	<i>Candida</i> não <i>albicans</i>
NACS	Espécies <i>Candida</i> não <i>albicans</i>
NCAC	<i>Candida</i> não <i>albicans</i>
NCBI:	(National Center for Biotechnology Information) - Centro Nacional de Informação Biotecnológica
NL1/NL4:	Primers específicos para regiões ribossomais
OMS:	Organização Mundial da Saúde
OPAS:	Organização Pan-americana da Saúde
PNAFISH	Fluorescência do ácido nucleico peptídico
PCR:	Reação em cadeia da polimerase
PR:	Paraná
QS:	Sensor Quorum
rDNA:	Ácido desoxirribonucleico Ribossomal
RPMI:	Meio de Cultura para testes de susceptibilidade
SB:	Barra de escala

SDA:	Sabouraud dextrose ágar
SIDA:	Síndrome de Imunodeficiência Adquirida
SIGMA	Empresa fornecedora de antimicrobianos
TCLE:	Termo de consentimento livre e esclarecido
UFMG:	Universidade Federal de Minas Gerais
UFC/mL:	Unidade formadoras de colônias por mililitro
USA:	Estados Unidos da América
UTI:	Unidade de Tratamento Intensivo
VITEK	Aparelho automatizado da empresa Biomeriux
WGS:	(Whole-genome sequencing) Sequenciamento genoma inteiro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1	AS INFECÇÕES CAUSADAS POR LEVEDURAS	18
2.2	GÊNERO <i>CANDIDA</i>	19
2.2.1	BIOFILMES.....	21
2.2.2	<i>CANDIDA ALBICANS</i>	23
2.2.3	<i>CANDIDA GLABRATA</i>	23
2.2.4	<i>CANDIDA PARAPSILOSIS</i>	25
2.2.5	<i>CANDIDA TROPICALIS</i>	27
2.2.6	<i>CANDIDA KRUSEI (Pichia kudriavzeii)</i>	28
2.2.7	<i>CANDIDA GUILLIERMONDII (P. guilliermondii)</i>	29
2.2.8	<i>CANDIDA DUBLINIENSIS</i>	30
2.2.9	<i>CANDIDA LUSITANIAE</i>	31
2.3	GÊNERO <i>CANDIDA</i> - LEVEDURAS NOVAS E EMERGENTES	32
2.3.1	<i>CANDIDA AURIS</i>	32
2.3.2	<i>CANDIDA NIVARIENSIS</i>	35
2.3.3	<i>CANDIDA INCONSPICUA</i> E <i>CANDIDA NORVEGENSIS</i>	36
2.4	OUTROS GÊNEROS DE LEVEDURAS QUE CAUSAM DOENÇAS INFECCIOSAS	38
2.5	EPIDEMIOLOGIA E PRINCIPAIS DOENÇAS CAUSADAS POR LEVEDURAS	38
2.5.1	MICOSES SUPERFICIAIS E CUTÂNEAS	38
2.5.1.1	Onicomicose.....	39
2.5.1.2	Candidíase Vulvovaginal	41
2.5.1.3	Candidíase oral	43

2.5.2	CANDIDÍASE INVASIVA.....	44
2.5.2.1	Candidúria.....	44
2.5.2.2	Candidemia.....	46
2.5.3	DADOS EPIDEMIOLÓGICOS EM MINAS GERAIS.....	49
2.5.3.1	Epidemiologia em Belo Horizonte.....	51
2.6	TRATAMENTO.....	52
2.7	DIAGNÓSTICO.....	53
2.7.1	TUBO GERMINATIVO.....	54
2.7.2	CULTURA	54
2.7.3	OUTROS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS.....	55
2.7.4	DIFICULDADES NA IDENTIFICAÇÃO POR MÉTODOS CONVENCIONAIS.....	56
3	JUSTIFICATIVA.....	57
4	OBJETIVO GERAL.....	58
4.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	58
5	METODOLOGIA.....	59
5.1	ASPECTOS ÉTICOS.....	59
5.2	ISOLAMENTO DAS LEVEDURAS E IDENTIFICAÇÃO MICRO E MACROMORFOLOGIA.....	60
5.3	IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR.....	62
5.3.1	EXTRAÇÃO DO DNA TOTAL.....	62
5.3.2	OLIGONUCLEOTÍDEO (GTG) ₅	62
5.3.3	SEQUENCIAMENTO DA REGIÃO D1/D2 DA SUBUNIDADE MAIOR DO RDNA.....	64
5.4	USO DE FONTES SECUNDÁRIAS DE DADOS.....	64
5.5	RISCOS.....	65
5.6	BENEFÍCIOS.....	65

5.7	METODOLOGIA DE ANÁLISE DOS DADOS.....	66
5.7.1	DESFECHO PRIMÁRIO.....	66
5.7.2	DESFECHO SECUNDÁRIO.....	66
6	RESULTADOS.....	67
7	DISCUSSÃO.....	117
8	CONCLUSÃO.....	122
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	123
10	APÊNDICE.....	148
11	ANEXO.....	164

1 INTRODUÇÃO

As leveduras estão entre as maiores causas de doenças nosocomiais no mundo, em particular as causadas pelas espécies pertencentes ao gênero *Candida* (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011). Estas são encontradas no ambiente com enorme diversidade, além do corpo humano como por exemplo, em água, roupas e alimentos (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011). A espécie *Candida albicans* se destaca por ser a mais prevalente em doenças em humanos, seguidas por *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. dubliniensis* (MENEZES et al., 2015; GUTIÉRREZ et al., 2002; LUQUE et al., 2009).

A *C. albicans* faz parte da microbiota humana normal e está presente em mucosas, pele e trato genital (WEEMS, 1992; IBRAHIM et al, 1995; REICHART, SAMARANAYAKE e PHILIPSEN, 2000). Esta espécie, dentre outras, pode desencadear processos infecciosos levando ao surgimento de doenças como a candidíase vulvovaginal, onicomicose, candidíase oral em indivíduos imunodeprimidos e doenças sistêmicas graves como a candidemia (CHENG et al., 2004, WEEMS, 1992; IBRAHIM et al., 1995; REICHART, SAMARANAYAKE e PHILIPSEN, 2000; SOBEL et al., 1998; ZANARDI et al., 2008). Os indivíduos imunodeprimidos, em uso de dispositivos como cateteres, nutrição parenteral, terapia imunossupressora, internados em unidades de tratamento intensivo, são os mais acometidos por estes patógenos (DOI et al., 2016; PFALLER et al., 2007; COLOMBO et al., 2014; AHMED et al., 2014; DELALOYE e CALANDRA, 2014).

Dentre as espécies que mais acometem o ser humano destaca-se também a *C. parapsilosis*. Já foi observada uma relação entre esta espécie e o acometimento de pacientes que recebem nutrição parenteral por cateter venoso central (HACHEM et al., 2008). A espécie *C. glabrata* ocorre principalmente no quadro de neutropenia e está associada à candidemia em pacientes com neoplasias hematológicas, além de desenvolver rapidamente resistência ao fluconazol. *C. tropicalis* está se tornando um patógeno importante em pacientes neutropênicos (DA SILVA, 2018). *C. guilliermondii* possui notável capacidade de causar infecções nosocomiais (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011). *C. dubliniensis* é paralelamente semelhante a *C. albicans* por possuir tubo germinativo e clamidósporos (STAIB e MORSCHHAUSER, 1999). Em geral estão restritas as infecções na cavidade oral,

na mucosa vaginal e nos pulmões, entretanto pode levar a uma infecção sistêmica fatal, sendo razão de investigação em indivíduos com baixa imunidade (SULLIVAN et al., 1995; ACHKAR e FRIES, 2010). E a espécie *C. lusitaniae* possui baixa prevalência em amostras clínicas, mas acomete também indivíduos com doenças hematológicas e pacientes em unidade de tratamento intensivo (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011).

Além das espécies relacionadas acima, outras leveduras chamadas de espécies emergentes também podem ocorrer, como é o caso da *C. nivariensis*, descrita em 2005, após seu isolamento em um hospital espanhol (ALCOBA-FLOREZ et al., 2005). Essa levedura tem proximidade genética com *C. glabrata*, sendo sugerida como uma nova espécie de fungo oportunista (BORMAN et al., 2008). As espécies *C. inconspicua* e *C. norvegensis* foram descritas como as mais frequentemente isoladas de infecções invasivas e exibem resistência ao fluconazol (GUITARD et al., 2013; GUITARD et al., 2015). São semelhantes tanto bioquimicamente como filogeneticamente (MAJOROS et al., 2003; GUITARD et al., 2015). *C. auris* foi isolada pela primeira vez em 2009 no Japão (SATO et al., 2009) e posteriormente ocorreram diversos registros de infecções por esta espécie na Coreia do Sul, Índia, Paquistão, Quênia, Kuwait, Israel, Venezuela, Colômbia, Reino Unido e mais recentemente nos Estados Unidos (CDC - CENTRO DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇA, 2016; MAGOBO et al., 2014; EMARA et al., 2015). Estudos recentes demonstraram vários grupos desta levedura nos países citados acima utilizando as ferramentas: AFLP (polimorfismo de comprimento de fragmento amplificado), tipagem de sequência multilocus e MALDI-TOF MS - Dessorção/ionização a laser auxiliado por matriz em espectrofotometria de massa, entre cepas da Índia, África do Sul, incluindo o Brasil (CHOWDHARY, SHARMA e MEIS, 2017). Esta espécie tem sido bastante discutida devido a diversos fatores, como a capacidade de adquirir resistência a multidrogas (KATHURIA ET al., 2015; SARMA e UPADHYAY, 2017), além da dificuldade de identificação pelos métodos usuais e transmissão diretamente de artigos e equipamentos de assistência ao paciente (tais como estetoscópios, termômetro, esfigmomanômetro, entre outros). *C. auris* pode ser confundida fenotipicamente em análises em aparelhos como Vitek 2 e o API20C-AUX, sendo reportada como *C. haemulonii*, *Candida famata*, *Candida sake*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Rhodotorula glutinis* (CDC - CENTRO DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇA, 2016; KATHURIA et al 2015; MAGOGO

et al., 2014, ANVISA, 2017). Havendo a necessidade de utilização de outras metodologias para melhor identificação da espécie como MALDI-TOF MS e sequenciamento (CDC - CENTRO DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇA, 2016; KATHURIA et al., 2015).

A identificação destas leveduras pode ser realizada tanto por métodos convencionais, baseando em cultura, testes bioquímicos e por testes moleculares (SENDID et al., 2007; VECCHIONE et al., 2017). A maioria dos laboratórios de análises clínicas não realizam métodos moleculares, nos quais são utilizados testes bioquímicos e sorológicos para identificação (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011). A identificação realizada com rapidez e eficácia permite diminuir as taxas de mortalidade bem como reduzir os custos com internação, direcionando a melhor análise de testes de susceptibilidade e posterior tratamento (LIMA-NETO et al., 2014; ESSENDOUBI et al., 2005; MCCARTY e PAPPAS, 2016; BEN-AMI et al., 2012; OXMAN et al., 2010). Contudo, observa-se dificuldade nas identificações destes agentes devido às limitações no uso de métodos convencionais, como os testes bioquímicos, podendo estes ser subjetivos e em muitos casos errôneos, sendo necessário à aplicação de métodos moleculares (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011; LIMA-NETO et al., 2014; ESSENDOUBI et al., 2005).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 AS INFECÇÕES CAUSADAS POR LEVEDURAS

As doenças por leveduras são um problema crescente dentro do ambiente hospitalar em todo o mundo. As leveduras são causa de sepse tardia e diversos são os fatores de risco, como uso de antibióticos de amplo espectro, internação em UTI por mais de 72 horas, terapia imunossupressora, nutrição parenteral e uso de diversos procedimentos invasivos (DOI et al., 2016; PFALLER et al., 2007; COLOMBO et al., 2014; AHMED et al., 2014; DELALOYE e CALANDRA, 2014).

As doenças causadas por leveduras, especificamente as causadas por espécies do gênero *Candida* são: candidíase oral, candidíase vulvovaginal, onicomicose, candidúria e candidemia (SOBEL et al., 1998; ZANARDI et al., 2008;

GUPTA, 2007; YAZDANI, FOROUGHIFAR e MOHAMMADI, 2016; CHENG et al., 2004).

As espécies do gênero *Candida*, em particular a espécie *C. albicans*, são colonizadores considerados inofensivos na cavidade oral, vaginal, intestinal e na microbiota da pele. Em indivíduos imunocomprometidos estas leveduras podem se tornar patogênicos oportunistas levando a infecções na mucosa, além de serem capazes de causar infecções sistêmicas graves (WEEMS, 1992; IBRAHIM et al., 1995; REICHART, SAMARANAYAKE e PHILIPSEN, 2000).

Dentre os fatores que favorecem o surgimento de infecções por leveduras disseminadas em hospitais, descrevemos o uso de cateteres, cirurgias de intestino ou transplante de fígado e cuidados intensivos neonatais (WISPLINGLOFF et al., 2004).

Entre as espécies de *Candida* mais prevalentes destacamos *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. dubliniensis* (MENEZES et al., 2015; GUTIÉRREZ et al., 2002; LUQUE et al., 2009).

2.2 GÊNERO *CANDIDA*

A descrição inicial de uma espécie de *Candida* foi em 1851 e é atribuída a Bonorden, que formalizou o nome muito antigo *Monilia* (DONK, 1963). E foi por causa da tese de doutorado de Berkhout (1923), que devido à transferência de espécies que são verdadeiramente leveduras para o gênero *Candida*. Este conceito de Berkhout foi reconhecido por Diddens e Lodder (1939), embora contestado por Mackinnon e Artagaveytia-Allende (1945), afirmando que o nome correto deveria ser *Syringospora*. Foi proposto por Donk (1963) a conservação do nome *Monilia*, que ainda é empregado na literatura médica, Barnett (2004), acomodando assim, *M. cinerea* e demais patógenos similares. Contudo chegou-se a conclusão de que o nome correto seria possivelmente *Pseudomonilia* (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011). Posteriormente um exame retrospectivo foi usado como critério para desassociar *Torulopsis* de espécies de *Candida* (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011). Além disso, o gênero *Candida* é um grupo extremamente heterogêneo de mais de 150 espécies, mas está bem estabelecido, pois apenas alguns deles estão implicados em doenças infecciosas (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011)

O gênero *Candida* é um táxon composto por espécies de leveduras que não formam ascósporos e apresentam afinidades ascomicetas claras (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011). Neste gênero há ausência de reprodução sexuada e a reprodução assexuada ocorre por brotação holoblástica, onde as células são globosas, cilíndricas ou alongadas, elipsoidais, ocasionalmente ogivais, lunadas ou triangulares, podendo ser formados pseudo-hifas e hifas com septo, podendo formar também artroconídeos, mas não de forma extensiva. A parede celular é constituída por duas camadas ascomicética (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011).

Essas leveduras bioquimicamente e fisiologicamente tem como características a assimilação de nitrato, fermentação de glicose e não produzem compostos semelhantes a amido. Além da ausência de xilose, ramnose e fucose em hidrolisados celulares. É um gênero polifilético nos quais compreende espécies mitospóricas sem características especiais diferentes e tendo a maioria das espécies parentesco em outros gêneros *Teleomórficos* atribuídos aos *Saccharomycetales* (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011). No gênero *Candida*, a maioria das espécies mantêm relação comensal com seres humanos, e estão presentes na microbiota do trato gastrointestinal, mucocutâneo, tecidos e pele. A espécie de destaque é a *Candida albicans*, contudo, outras espécies tornam-se patogênicas oportunistas em condições de depressão do sistema imune podendo causar processos infecciosos em qualquer sítio. As pandemias estão cada vez mais comuns por inúmeras razões, dentre elas, citamos o uso de terapias imunossupressoras para doenças distintas e infecção por HIV (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011).

Espécies do gênero *Candida* são encontradas no ambiente com enorme diversidade além do corpo humano, como por exemplo, em alimentos, água e roupas (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011). Segundo JARVIS, 1995, os estabelecimentos de saúde são ambientes importantes para adquirir a candidíase, considerando as diferentes doenças subjacentes, tempo de internação e diferença na gravidade das doenças. Em geral, a *Candida* spp. são a quarta mais comumente causadoras de infecções (nosocomiais) na América do Norte (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011).

2.2.1 BIOFILMES

No geral os casos de candidíase foram atribuídas à espécie *Candida albicans*, mas *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*, descritas como não-*albicans Candida* (NCAC), foram identificados como patógenos humanos frequentes (ARAÚJO, HENRIQUES e SILVA, 2017). Apesar disso, os biofilmes de *Candida* são um problema clínico crescente correlacionado a taxas significativas de mortalidade. Os biofilmes têm fases distintas de desenvolvimento, o que inclui adesão/colonização, maturação e dispersão, monitoradas por complexas redes reguladoras. Contudo, é importante abordar o fato de que os biofilmes são variáveis em sua estrutura e matriz/composição, diferindo entre linhagens e espécies. A propósito, dentro deste caso a *C. albicans*, tem em seu biofilme normalmente duas camadas, sendo um depósito basal de blastosporos coberto por um filme de matriz espessa com hifais (Tabela 1) (ARAÚJO, HENRIQUES e SILVA, 2017). Um biofilme maduro geralmente se forma em 24 horas e pode ser visualizado a olho nu como uma estrutura de superfície nublada no topo de um quadrado de silicone e com um microscópio observa uma coleção organizada de diferentes tipos de células (NOBILE e JOHNSON, 2015). Recentemente vêm se discutindo os avanços em relação aos genes regulatórios de biofilmes de espécies de *Candida*, que são componentes essenciais para a candidíase (ARAÚJO, HENRIQUES e SILVA, 2017).

Além disso, a formação do biofilme dessa espécie está relacionada à transição do desenvolvimento de leveduras para hifas, como mencionado acima. Comparado a *C. albicans*, os biofilmes de *C. parapsilosis*, consistem de blastosporos agregados com células de levedura e pseudo-hifas e são muito menos espessos. No caso de *C. tropicalis*, os biofilmes maduros no geral são caracterizados por uma densa e evidente rede de células de leveduras com morfologias filamentosas. Em contraste com esta espécie, os biofilmes de *C. glabrata* são caracterizados por uma multicamada com apenas blastosporos ou monocamada compacta, uma vez que esta espécie é incapaz de formar filamentos (Tabela 1) (ARAÚJO, HENRIQUES e SILVA, 2017)

Além do mais, *C. albicans* produz biofilmes altamente estruturados, tendo como componentes vários tipos de células (isto é, células pseudo-hifais ovais, células redondas em forma de levedura que brotam e células hifais cilíndricas alongadas) envoltas em uma matriz extracelular (NOBILE e JOHNSON, 2015). A

formação do biofilme de *C. albicans* compreende quatro estágios temporais. Estes estágios compreendem em: a) aderência a uma superfície (células de levedura esféricas), (b) há uma proliferação formando uma camada basal de células ancoradoras, (c) crescimento de pseudo-hifas (unidas de ponta a ponta as células elipsoides) e hifas (cadeias de células cilíndricas) simultaneamente à produção de material da matriz extracelular; e (d) dispersão lenta de células da forma de levedura do biofilme para novas sementeiras (NOBILE e JOHNSON, 2015).

Características de Biofilmes		
Espécies	Estruturas do biofilme	Composição da matrix
<i>C. albicans</i>	Estrutura de bicamada com levedura, hifas e pseudo-hifas	Composto principalmente por carboidratos, proteínas, fósforo e hexosaminas
<i>C. parapsilosis</i>	Biofilme fino constituído por agregados blastosporos com células de leveduras e pseudo-hifas	Altas quantidades de carboidratos e baixos níveis de proteínas
<i>C. tropicalis</i>	Rede densa de células de levedura com morfologias filamentosas evidentes	Baixos níveis de carboidratos e proteínas
<i>C. glabrata</i>	Monocamada compacta ou multicamada de apenas blastosporos	Altos níveis de carboidratos e proteínas; composto principalmente por hexosamina

Tabela 1: Características dos biofilmes de *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, e *Candida glabrata* (ARAÚJO, HENRIQUES e SILVA, 2017)

Ademais, apresentam as características gerais de *Candida*, sendo mais importantes como: carboidratos, fósforo, proteínas e hexosaminas que são os principais constituintes da matriz de biofilme de *C. albicans*. No caso de *C. parapsilosis* a quantidade de proteína é menor em comparação com a de outras espécies, no entanto, as matrizes extracelulares contêm grandes quantidades de carboidratos. As matrizes de *C. tropicalis* e *C. glabrata* também são compostas de proteínas e carboidratos (ARAÚJO, HENRIQUES e SILVA, 2017)

2.2.2 CANDIDA ALBICANS

C. albicans é considerada a espécie comensal mais prevalente e patogênica das espécies de *Candida* (DE PAULA et al., 2015; MELO et al., 2004,; BACK-BRITO et al., 2006; JUNQUEIRA et al., 2012; MAURYA et al., 2013). Considerada também como uma colonizadora comum de pele e superfície de mucosas, além de ser a mais prevalentemente isolada da microbiota oral, vaginal e trato gastrointestinal (FERREIRA e AVILA,1996; IBRAHIM et al., 1995; GUTIÉRREZ et al., 2002; CLEFF et al., 2005; LUQUE et al., 2008; MENEZES et al., 2015).

Este fungo provoca doenças fatais após romper as barreiras proteicas de mucosas durante o trauma e as intervenções cirúrgicas. Isso também ocorre quando a microbiota do hospedeiro é inibida, inclusive causando infecções sistêmicas invasivas em indivíduos imunocomprometidos (GOW e BHAWNA, 2017).

Esta levedura pode apresentar blastoconídios, hifas verdadeiras e pseudo-hifas, podendo ser observadas *in vivo* estruturas semelhantes tanto de células leveduriformes como pseudo-hifas. *C. albicans* tem a capacidade de gerar nas extremidades finais das hifas, elementos de paredes espessas chamados de clamidósporos. Essa estrutura é usada para fins de diagnóstico, entretanto a espécie *C. dubliniensis* também produz estrutura semelhante. Outra característica também importante deste fungo é a capacidade de formar tubo germinativo no soro a temperatura de 37°C, diferenciando-a de outras espécies (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011). Inúmeros fatores de virulência foram propostos para *C. albicans*, dentre eles se destacam: a formação de hifas, diversidade fenotípica, fatores de adesão, tubos germinativos e produção de enzimas (BRAND, 2012).

Em consequência do aumento da incidência de infecções invasivas por *C. albicans*, aumentou também o interesse em seus fatores de virulência. Esse direcionamento na pesquisa ajudou a traçar estratégias para o controle de prevenção da candidíase e identificação de prováveis alvos para desenvolvimento e aplicação de novas terapias (D' ÉÇA et al., 2011; RÖRIG, COLACIE e ABEGG, 2009).

2.2.3 CANDIDA GLABRATA

Historicamente, a espécie *C. glabrata* foi classificada no gênero *Torulopsis* (KWON-CHUNG e BENNETT, 1992; FIDEL, VAZQUEZ E SOBEL, 1999). Esse gênero *Torulopsis* foi descrito em 1894, porém o gênero *Candida* só foi nomeado em 1913 e *C. glabrata* foi originalmente inserida no gênero *Torulopsis* por não produzir pseudo-hifa (FIDEL, VAZQUEZ E SOBEL, 1999). Em contraste, *C. glabrata* não é polimórfica, crescendo apenas como blastoconídios (levedura) (SILVA et al., 2011). Contudo, posteriormente em 1978, determinou-se que a capacidade de produzir pseudo-hifas, não era um fator distintivo confiável para os membros do gênero *Candida*, sendo proposto que *T. glabrata* fosse classificado no gênero *Candida* por sua associação com infecção humana (KWON-CHUNG e BENNETT, 1992; FIDEL, VAZQUEZ E SOBEL, 1999). Posteriormente o gênero *Candida* alterou sua descrição de “pseudomicélio” para “pseudo-hifas”, podendo ser ausente, rudimentar ou bem desenvolvido, devido à exigência na incorporação do *T. glabrata* (KWON-CHUNG e BENNETT, 1992; FIDEL, VAZQUEZ E SOBEL, 1999).

Ressaltamos também que as células de *C. glabrata* (1–4 µm), observa-se que são menores que os blastoconídios de *C. albicans* (4-6 µm). *C. glabrata* possui colônias brilhantes, e de cor creme, são amplamente indistinguíveis de outras espécies de *Candida*, e pelo tamanho relativo, que pode ser bem pequeno (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011).

Esta espécie é encontrada em todo o mundo e seu genoma é considerado altamente maleável com uma família expandida de genes EPA - eicosapentanóico (BEYER et al., 2018). Os genes EPA são responsáveis pela formação de proteínas de adesão e são constituinte da subfamília I, os genes CAGL0L13310g e CAGL0L13332g são pertencentes à subfamília I, portanto, fazem parte da família EPA. Estes dois genes ainda não foram caracterizados, logo, suas funções são desconhecidas (DESAI, MAVRIANOS e CHAUHAN, 2011). É considerada como segunda causa mais comum de infecções no sangue depois de *C. albicans*. *Candida glabrata* é a espécie mais comum de NAC (*Candida* não-*albicans*), no entanto, *C. parapsilosis* segue aproximada (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011; BEYER et al., 2018). *C. glabrata* ao ser englobada pelos macrófagos, se adapta a situação dentro do macrófago, se reproduz e posteriormente é liberada após a destruição dos macrófagos (BEYER ET AL., 2018).

C. glabrata apresenta uma reduzida susceptibilidade a azólicos, o que favorece o aumento da espécie nas últimas décadas pelo crescente uso de azólicos,

como no caso do fluconazol. Ademais, fatores como a administração de antimicrobiano de outras classes e a idade dos pacientes, também contribuem para esse aumento (LIN et al., 2005; PFALLER e DIEKEMA, 2004). As infecções por *C. glabrata* podem ser via mucosa ou sistêmica (FIDEL, VAZQUEZ E SOBEL, 1999).

Destaque também, para sua prevalência em infecções orais e vaginais (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011). Essa espécie infecta mais comumente indivíduos como diabéticos e imunocomprometidos, como no caso de infecções em recém-nascidos prematuros e pacientes em tratamento prolongado (Unidade de Tratamento Intensivo) UTI. (FIDEL, VAZQUEZ E SOBEL, 1999, BEYER et al., 2018).

Entretanto, sugerem que em achados recentes, alguns diagnósticos de infecções por *C. glabrata* podem perder-se, pela dependência de colesterol exógeno para desenvolvimento das colônias de determinados isolados e pela ausência de meios complementados com colesterol (BARD et al, 2005, HAZEN et al., 2005; REZUSTA et al., 2008). Esses isolados ao que tudo indica são capazes de utilizar colesterol exógeno ao invés de ergosterol para estrutura da membrana plasmática (ANAISSE, MCGINNIS e PFALLER, 2003; DISMUKES et al., 2003; KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011). O tratamento com antifúngico pode ter contribuído a seleção dessas linhagens dependentes de colesterol após a aquisição de mutações espontâneas na biossíntese de ergosterol, uma vez que o modo de ação de alguns antifúngicos ministrados para tratamento de infecções por *C. glabrata* está relacionada à produção de ergosterol (BARD et al., 2005; KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011).

2.2.4 CANDIDA PARAPSILOSIS

Candida parapsilosis é considerada como uma das causadoras de infecções na corrente sanguínea. Sua biologia difere acentuadamente à de *C. albicans*, além de ser altamente prevalente, podendo estar associada ao aumento da incidência de *C. parapsilosis* (TÓTH et al, 2019). Também é a causa mais comum em infecções como peritonite, sepse, endocardite e infecções oculares, entretanto há raros casos de meningite, principalmente em adultos (TROFA GÁCSEK E NOSANCHUK, 2008).

C. parapsilosis é particularmente conhecida por sua capacidade de causar infecções sistêmicas, colonizando dispositivos médicos implantados e cateteres em casos de nutrição parenteral (TÓTH et al., 2019). As habilidades adesivas de *C.*

parapsilosis, tornaram-se um passo crítico, anterior a formação do biofilme, pois, verificou-se, uma variação intra-espécies com alta capacidade de adesão entre isolados clínicos de *C. parapsilosis*, em comparação com outras espécies de *Candida* (TÓTH et al., 2019).

Apesar das infecções por *C. parapsilosis* geralmente resultarem em menores taxas de morbidade e mortalidade comparadas às infecções por *C. albicans*, inúmeros isolados clínicos, desta espécie, foram relatados como menos susceptíveis a equinocandinas e, em algumas regiões, também foi observada resistência ao tratamento com azólicos, o que dificulta a escolha da terapia antifúngica empírica (TÓTH et al, 2019).

Embora *C. albicans* seja a principal causa de candidíase invasiva no mundo, *C. parapsilosis* é uma das espécies mais comumente isolada no sul da Europa, em algumas regiões da América Latina e na Ásia, de acordo com dados de estudos epidemiológicos globais anteriores (TÓTH et al, 2019). Na região do Mediterrâneo e em algumas regiões da Europa, as infecções invasivas por *C. parapsilosis* simbolizam 20 a 25% dos episódios devidos a espécies de *Candida* nos países como a Grécia, Portugal, Itália e Espanha. Na América do Norte, *C.glabrata* e *C. parapsilosis* NAC (*Candida* não *albicans*), são igualmente responsáveis por casos de candidíase invasiva, entretanto, a crescente prevalência de *C. parapsilosis* na América Latina é indiscutível (TÓTH et al, 2019).

Esta levedura produz pseudo-hifas longas e ramificadas com aparência de “pinhal”, contudo, existem variações entre linhagens na formação de pseudo-hifas. Esta espécie não produz hifas verdadeiras, mas podem gerar pseudo-hifas caracteristicamente grandes, curvas e muitas vezes chamadas de células gigantes (SILVA et al., 2011). *C. parapsilosis* mede 2,5–4 mm no meio a base de milho acrescido no meio Tween 80, produz colônias branco, cremoso, brilhante e colônias lisas / enrugadas no meio CHROMagar *Candida*®, as colônias apresentam coloração de marfim para róseo ou lavanda, estando algumas com aspecto enrugado (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011).

Sabe-se atualmente que a espécie possui isolados distintos, denominados grupos I, II e III, definidos através de multilocus, mas estudos redefiniram linhagens como espécies *C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis* e *C. metapsilosis*, no intuito de substituir as designações anteriores dos grupos *C. parapsilosis* I, II e III

respectivamente (TAVANTI et al., 2005; GARCIA- EFFRON et al., 2011; KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011).

2.2.5 *CANDIDA TROPICALIS*

C. tropicalis é classificada como a terceira ou quarta entre as espécies de *Candida* mais isoladas em pacientes com infecção sanguínea. Tem importância relativa ainda maior na América Latina e sul da Europa (ALMIRANTE et al., 2005; COLOMBO et al., 2006; PEMAN et al., 2012, CORZO-LEON et al., 2014; FERNANDEZ-RUIZ, et al., 2015). Esta espécie de levedura produz, em ágar milho com Tween 80 e a 25 °C após 72 h, blastosporos ovais, pseudo-hifas e existem relatos da formação de hifas verdadeiras (SILVA et al., 2011).

C. tropicalis é isolada frequentemente de hemoculturas em indivíduos com leucemia, com internação em unidades de terapia intensiva e neutropenia prolongadas. É também isolada frequentemente em cavidades orais de pessoas assintomáticas. Assim como acontece em inúmeros casos de infecções por *Candida*, as infecções por *C. tropicalis* podem ser oriundas da microbiota normal do paciente (endógena) ou adquirida via pessoa a pessoa no ambiente hospitalar (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011).

No meio de milho com Tween 80 as colônias de *C. tropicalis* medem 4-8 mm e formam colônias de cor creme com uma borda ligeiramente filamentosa (SILVA et al., 2011). As colônias de *C. tropicalis* observadas em CHROMagar *Candida*® apresentam coloração azul a cinza escuro, podendo exibir um halo marrom a roxo (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011).

C. tropicalis possui inúmeras características que aumentam sua patogenicidade intrínseca (NEGRI et al., 2012). Dentre essas características, a sua capacidade de secreção de enzimas hidrolíticas extracelulares como fosfolipase, coagulases e formação de biofilme (DEORUKHKAR et al., 2014; MORALES et al., 2013; RODRIGUES et al., 2003). Além de ter a capacidade de fermentar e assimilar maltose e sacarose (SILVA et al., 2011).

2.2.6 CANDIDA KRUSEI (*Pichia kudriavzeii*)

Atualmente a espécie *C. krusei* foi transferida para o gênero *Pichia* e passou a ser denominada como de *Pichia kudriavzeii* (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011). Esta espécie é considerada a quinta causa mais comum de candidemia, sendo isolada mais comumente de indivíduos neutropênicos (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011). Tem resistência a fluconazol e possui susceptibilidade reduzida a outros antifúngicos (PELLETIER et al., 2005). É um patógeno importante na vaginite, contudo em pessoas consideradas saudáveis é atípico seu isolamento em superfícies mucosas (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011). Em cultura em ágar, apresenta geralmente colônias rugosas e planas. *C. krusei*, fisiologicamente, pode crescer em meios sem vitaminas, diferenciando de outras espécies de *Candida*. As colônias deste patógeno aparecem cor de rosa a roxas, com textura áspera em meio CHROMagar *Candida*® (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011).

A *P. kudriavzeii* tem alta vulnerabilidade com relação às enzimas liberadas dos grânulos de neutrófilos, mostrando menor patogenicidade e invasividade. Por isto, isolada frequentemente em indivíduos neutropênicos (SAMARANAYAKE E SAMARANAYAKE, 1994).

Com a introdução de fluconazol, para profilaxia fúngica, o cenário de incidência da fungemia em pacientes neutropênicos mudou seriamente para um maior envolvimento de *Candida* não *albicans* nas últimas décadas (LEVENTAKOS et al., 2010).

Assim como outras espécies de leveduras a *P. kudriavzeii*, possui a capacidade desenvolver biofilmes e a composição de sua parede celular com camadas múltiplas e caráter hidrofóbico, permite melhor adesão e colonização em superfícies inertes, como em pontas de cateteres (SAMARANAYAKE E SAMARANAYAKE 1994).

O quorum sensun (QS), um sensor síncrono de expressão de moléculas em função da densidade populacional, originalmente descrita em bactérias, também está presente em diversas espécies de leveduras. Esse mesmo comportamento incomum foi descrito para *P. kudriavzeii* (FLEISCHMANN, BROECKLING e LYONS, 2017).

2.2.7 CANDIDA GUILLIERMONDII (*P. guilliermondii*)

Candida guilliermondii foi atualmente renomeada como *Pichia guilliermondii*, sua fase teleomórfica. Esta espécie já foi isolada em água doce e salgada, solo, areia, anfíbios, aves e está presente na microbiota humana (pele e mucosas) (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011; SAVINI et al., 2011). Comparada a outras espécies de leveduras, esta espécie expressa reduzida virulência (ARENDRUP, HORN e FRIMODT-MOLLER, 2002). Embora possua notável capacidade de ocasionar infecções nosocomiais (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011). Há baixa incidência de infecções causadas por *C. guilliermondii* (*P. guilliermondii*), mas foram registrados casos de candidemia e endocardite (GIRMENIA et al., 2006). Mas, no entanto foi apontada como um patógeno emergente, com maior incidência na América Latina (PFALLER et al., 2010).

O complexo de *Candida guilliermondii* (*P. guilliermondii*) é um complexo nos quais várias espécies são fenotipicamente indistinguíveis e geneticamente heterogêneas com inclusão de *C. guilliermondii* (*P. guilliermondii*), *Candida carpophila*, *Candida xestobii* e *Candida fermentati* (HIRAYAMA et al., 2018).

Estudos recentes mostram altos níveis de resistência antifúngica pelo complexo *P. guilliermondii*, em uma alta proporção de pacientes (36,4%) que receberam antifúngicos inapropriados no tratamento. Pacientes com candidemia por causa de *P. guilliermondii* apresentam quadro clínicos menos graves e mortalidade significativamente menor comparado a pacientes infectados por *C. albicans* (13,6 vs. 33,9%) apesar das condições subjacentes relevantes e da diminuição da resistência antifúngica do complexo de espécies. O tratamento antifúngico ideal para este complexo de espécie ainda não foi definida (COLOMBO, JÚNIOR e GUINEA, 2017).

Morfologicamente, a formação de pseudo-hifa varia de acordo com a linhagem. As hifas verdadeiras, todavia, não são produzidas por esta espécie. O blastoconídio de *P. guilliermondii* pode ser encontrado em aglomerados ou em cadeias curtas. As colônias de *P. guilliermondii* apresentam cor de rosa para cor lavanda em meio CHROMagar Candida® (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011).

2.2.8 CANDIDA DUBLINIENSIS

C. dubliniensis foi isolada da cavidade oral de indivíduos infectados pelo HIV em 1995 (SULLIVAN, MORAN E COLEMAN, 2005). Também foi isolada de pacientes transplantados de medula óssea e de pessoas em uso de antimicrobianos de amplo espectro (SULLIVAN, MORAN E COLEMAN, 2005). Geralmente está restrita às infecções na mucosa oral, vaginal e aos pulmões, contudo pode levar a uma infecção sistêmica fatal, sendo investigada em indivíduos com imunidade baixa (SULLIVAN et al., 1995; ACHKAR e FRIES, 2010).

C. dubliniensis é uma levedura que é paralelamente comparada a *Candida albicans* (TSANG et al., 2013). Essa espécie de *Candida* é morfológica e fisiologicamente semelhante a *C. albicans* em diversos aspectos, entre eles: a capacidade de formar tubo germinativo e clamidósporos, coloração verde das colônias em CHROMagar Candida®, embora novas formulações do meio, as colônias se mostram mais escuras. Diferenças sutis podem ser observadas entre a espécie *C. dubliniensis* e *C. albicans*, começando pelo desenvolvimento das colônias de 42° ou 45 ° C, onde não há crescimento da *C. dubliniensis*, apenas *C. albicans*. Além disso, o crescimento de *C. dubliniensis* é inibido por aumento da concentração de sal no meio e pela incapacidade de cepas para assimilar xilose. Um relatório sugere que o ágar Staib (é acrescido com sementes de girassol, mostarda ou com tabaco) que permite a formação de clamidósporos e morfologia de diferentes colônias por *C. dubliniensis*, sendo esta uma ferramenta no diagnóstico de diferenciação entre as espécies. (STAIB e MORSCHHAUSER, 1999; MAHELOVÁ e RŮŽIČKA, 2017). Tendo em conta que a maioria dos métodos de indentificação citados acima resultam em falsos positivos e negativos, a aglutinação do látex por meio de testes comerciais (por exemplo, Bichro-Dubli, Fumouze Diagnóstico) ou outros métodos são recomendados para confirmar resultados como PCR e MALDI-TOF MS (MAHELOVÁ e RŮŽIČKA, 2017).

Essa levedura tem a capacidade de alternar formas entre filamentosas e leveduriformes, além de ser capaz de formar biofilmes em superfície abiótica e biótica (TSANG et al., 2013).

O genoma da *C. dubliniensis* já foi sequenciado (JACKSON et al., 2009) e revela alta similaridade com mais de 80% de identidade com a *C. albicans* (JACKSON et al., 2009). Tornando assim um excelente recurso para diferenciá-las,

embora estes recursos não estejam disponíveis em laboratório de análises clínicas (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011).

2.2.9 *CANDIDA LUSITANIAE*

C. lusitaniae faz parte da microbiota normal do homem e de animais, entretanto é baixa sua prevalência entre isolados de amostras clínicas (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011). As linhagens de *C. lusitaniae* produzem pseudo-hifas, vindo a desenvolver blastoconídeos (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011). Possivelmente sua transmissão se dá em ambiente hospitalar, ocasionando colonização nosocomial dos sistemas digestivo e urinário (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011). Este patógeno também acomete indivíduos com doenças hematológicas, bem como em pacientes em unidades de terapia intensiva, causando infecções graves (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011). As espécies de *Candida* estão entre a causa fúngica mais comum de endocardite infecciosa, no entanto, é raro ser causada pela espécie *C. lusitaniae* (RAHMATI, CORREA e SHE, 2020). Apenas alguns casos, foram documentados na literatura com o primeiro caso relatado de endocardite protética da válvula descrita em 1998. *C. lusitaniae* apresenta resistência intrínseca a polienos, descrita inicialmente em 1979. Infecções por essas espécies respondem mal à anfotericina, apesar dos testes *in vitro* indicando frequentemente MICs baixos (HAWKINS e BADDOUR, 2003; RAHMATI, CORREA e SHE, 2020). Em CHROMagar *Candida*® esta espécie produz colônias cor rosa a lavanda com textura cerosa (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011).

O sequenciamento do genoma inteiro identificou semelhanças genéticas entre *C. auris* e a *C. lusitaniae* emergente recentemente, podendo demonstrar resistência a múltiplos agentes antifúngicos (RAHMATI, CORREA e SHE, 2020). No tratamento de *C. lusitaniae* é crucial reconhecer sua resistência à anfotericina B e a terapia a azol considerada de primeira linha, frequentemente resulta em bons resultados em conjunto com intervenções cirúrgicas (RAHMATI, CORREA e SHE, 2020). *C. lusitaniae* foi recuperada do tecido valvar ressecado (RAHMATI, CORREA e SHE, 2020). Todas as identificações foram realizadas por dessorção/ionização a laser assistida por matriz espectrometria de massa (MALDI-TOF). Na histopatologia houve brotamento de levedura e pseudo-hifas, também confirmou endocardite

infecçiosa da válvula protética por este organismo (RAHMATI, CORREA e SHE, 2020).

2.3 GÊNERO CANDIDA - LEVEDURAS NOVAS E EMERGENTES

2.3.1 CANDIDA AURIS

A *Candida auris* foi isolada inicialmente em uma infecção do canal auditivo de um paciente no Japão em 2009 (SATO et al., 2009). Posteriormente ocorreram outros casos, como no Reino Unido onde ocorreram diversos casos de candidemia, (20%) em pacientes colonizados com *C. auris* (SHETTY et al, 2016). Há também registros de infecções por *C. auris* na Coreia do Sul, Índia, Paquistão, Quênia, Kuwait, Israel, Venezuela, Colômbia, Reino Unido, Estados Unidos, Bangladesh, Omã, Malásia, China, Emirados Árabes Unidos, Arábia Saudita, Cingapura, Tailândia, África do Sul Espanha, Alemanha, França, Áustria, Noruega, Bélgica, Suíça, Holanda, Rússia, Canadá, Panamá e Austrália e Brasil (CDC - CENTRO DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇA, 2016; MAGOBO et al, 2014; EMARA et al., 2015; LONE e AHMAD, 2019). Estudos recentes demonstraram primeiramente vários grupos, dentre os países já citados acima, hospitais onde a clonalidade dentro de *C. auris* foi demonstrada usando AFLP (polimorfismo de comprimento de fragmento amplificado), tipagem de sequência multilocus e MS MALDI-TOF entre cepas da Índia, África do Sul, incluindo o Brasil. Essa levedura é um patógeno emergente e foi a causa de infecções em feridas e em infecções invasivas graves, como infecções na circulação sanguínea, com mortalidade bruta, tendo variações de 30% a 72%. (CDC - CENTRO DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇA, 2016; LONE e AHMAD, 2019).

Essa levedura emergente possui reduzida susceptibilidade a azólicos e anfotericina B, tornando-se uma grande preocupação por adquirir resistência a multidrogas em todo o mundo (KATHURIA et al., 2015; SARMA e UPADHYAY, 2017). (CDC - CENTRO DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇA, 2016; KIM et al., 2009). Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, em outubro de 2016, a Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS) divulgou um alerta epidemiológico com relação aos surtos de *Candida auris* em serviços de saúde da América Latina, recomendando a adoção de medidas

de prevenção e controle de surtos por esse patógeno emergente que representa grave ameaça à saúde global (ANVISA, 2017).

A transmissão direta por uso de equipamentos e artigos médicos, como termômetro, esfigmomanômetro, estetoscópios, entre outros, também já foi descrita (ANVISA, 2017). Além da transmissão, a atenção também deve ser dada a dificuldade de identificação e crescimento lento de qualquer espécie de levedura em meios de culturas, considerando também as culturas de sangue que podem ocasionar resultados falsos negativos por intermitentes ou baixos níveis de candidemia (PAPAS et al., 2016).

Ademais, tais fatores contribuem para o atraso no tratamento, além da não identificação individual de *Candida*, sendo liberados resultados como outras espécies de leveduras. Além disso, em laboratórios que realizam diferentes testes bioquímicos ou utilizam aparelhos automatizados como API- 20C AUX, VITEK - 2 YST, BD - Phoenix, MicroScan e Auxacolor, pode ser confundida fenotipicamente *C. auris* com outras espécies, devido à falta de *C. auris* em suas bases de dados (Tabela 2). Para identificação, dependendo do método utilizado, *C. auris* é freqüentemente identificado incorretamente como *Rhodotorula glutinis*, *Candida sake* ou *Saccharomyces cerevisiae* por API - 20C AUX (BioMérieux), como *C. haemulonii* ou *C. famata* por VITEK-2YST VITEK (BioMérieux), como *C. haemulonii* (exceto um como *C. catenulata*) por BD - Phoenix (BD Diagnostics), como *C. famata*, *C. lusitaniae* e *C. guilliermondii* ou *C. parapsilosis* por MicroScan (Beckman Coulter) e como *Saccharomyces cerevisiae* por Auxacolor (Bio - Rad). Entretanto, um O software Vitek - 2 atualizado (versão 8.01) deve ser capaz de identificar *C. auris* do restante das espécies estreitamente relacionadas (Tabela 2). (CDC - CENTRO DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇA, 2016; KATHURIA et al., 2015; MAGOGO et al., 2014; LONE e AHMAD, 2019).

Identificações incorretas de <i>C.auris</i>	
Método de identificação	Identificações incorretas de <i>C.auris</i>
API 20C AUX	<i>Rhodotorula glutinis</i> <i>Candida sake</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
BD Phoenix	<i>Candida haemulonii</i> <i>Candida catenulata</i>
Vitek- 2 ^a	<i>Candida haemulonii</i> <i>Candida duobushaemulonii</i> <i>Candida famata</i> <i>Candida lusitaniae</i>
MicroScan	<i>Candida famata</i> <i>Candida guilliermondii</i> <i>Candida lusitaniae</i> <i>Candida parapsilosis</i> <i>Candida catenulata</i> <i>Candida albicans</i> <i>Candida tropicalis</i>
RapID Yeast Plus	<i>Candida parapsilosis</i>

Tabela 2: Identificação incorreta de *Candida auris* por diferentes métodos bioquímicos de identificação de leveduras (LONE e AHMAD, 2019).

As tecnologias para identificação correta de *C. auris*, são sequenciamento de DNA, regiões ITS ou D1/D2 do ribossomo 28s DNA ou dessorção/ionização a laser auxiliado por matriz em espectrofotometria de massa (MALDI-TOF MS), testes estes, não disponibilizados em laboratório clínico. Ademais, foi desenvolvido recentemente pela T2 Biosystems (Lexington, MA) um novo ensaio T2 de diagnóstico, para detecção rápida e específica. Dessa forma, o diagnóstico precoce de *C.auris* favorece um tratamento adequado, significando redução das taxas de mortalidade.

(CDC - CENTRO DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇA, 2016; KATHURIA et al 2015; LONE e AHMAD, 2019).

2.3.2 *CANDIDA NIVARIENSIS*

A *C. nivariensis* foi descrita no ano de 2005, após um isolamento de três pacientes em um período de três anos em um hospital espanhol (ALCOBA-FLOREZ et al., 2005). Essa levedura tem proximidade genética com *C. glabrata*, sendo sugerida como uma nova espécie de fungo oportunista (ALCOBA-FLOREZ et al., 2005; BORMAN ET AL., 2008). Tendo como base a sequência de linhagens de *C. nivariensis* isoladas de flores do Canadá (LACHANCE et al., 2001; BORMAN et al., 2008).

No ano de 2005 e 2006, espécies fenotipicamente semelhante a *C. nivariensis* foram submetidas a testes de identificação de rotina no Laboratório de Referência de Micologia do Reino Unido (MRL) e mostraram distinção entre outras espécies de fungos patogênicos pelo método de pirosequenciamento da região ITS 2 (BORMAN et al., 2008). Esta espécie apresenta menor susceptibilidade a triazóis e a anfoterina B, com MIC (concentração inibitória mínima) semelhantes ou mais elevadas do que *C. glabrata*, tornando uma levedura de grande importância clínica (BORMAN et al., 2008; ASADZADEH et al., 2019).

A produção de colônias brancas cremosas em CHROMagar Candida® não está restrita somente as cepas de *C. nivariensis*, as espécies *C. inconspicua*, *Candida norvegensis*, e algumas cepas de *C. glabrata* também podem produzir colônias brancas cremosas neste meio. Dos isolados testados apenas 363 dos 440 (82,5%) isolados produziram colônias total ou parcialmente roxas, enquanto 77 (17,5%) isolados produziram colônias brancas cremosas. Não foi restrita a nenhum tipo específico de amostra a ocorrência de colônias brancas cremosas (ASADZADEH et al., 2019).

Em vários estudos selecionados até o momento, está listado o número de isolados de *C. nivariensis* identificados de várias amostras clínicas (Tabela 3) (ASADZADEH et al., 2019).

A produção de diversos fatores de virulência estão associados a esta espécie, também, como a produção de enzimas hidrolíticas e a capacidade de aderir a substratos abióticos (FIGUEIREDO-CARVALHO et al., 2016).

Espécimes clínicas com respectivos isolados de <i>C. nivariensis</i>	
Espécimes clínicas	Numero de <i>C. nivariensis</i>
Sangue	22
Swab com secreção vaginal	12
Trato respiratório / de cavidade oral / de expectoração	14
Fluido ascítico	3
Amostra de urina / rim	2
Abcesso/pus	2
Líquido pleural	1
Líquido cefalorraquidiano	1
Exsudato de cateter / swab no local de saída	1
Swab para sítio cirúrgico	1
Fluido de diálise CAPB	1
Não especificado	6
Total	66

Tabela 3: Número de isolados de *C.nivariensis* identificados em várias amostras clínicas (ASADZADEH et al., 2019).

2.3.3 CANDIDA INCONSPICUA E CANDIDA NORVEGENSIS

As espécies *C. inconspicua* e *C. norvegensis* são espécies emergentes descritas como as mais frequentemente isoladas de infecções invasivas e que exibem resistência ao fluconazol (GUITARDE et al., 2013; GUITARD et al., 2015). São espécies bioquimicamente e filogeneticamente semelhantes (MAJOROS et al., 2003; GUITARD et al., 2015). *Candida inconspicua* foi primeiramente descrita como gênero *Torulopsis inconspicua* em Lodder e Kreger-van Rij (1952) e mais tarde reclassificado no gênero *Candida* (MIXÃO et al., 2019). *C. inconspicua* é fenotipicamente semelhante e geneticamente idêntica a *P. Cactophila*, e sugeriram a

representação de diferentes estágios sexuais da mesma espécie. *C. inconspicua* também foi identificada erroneamente como outros membros do clado, como *P. norvegensis* (MIXÃO et al., 2019).

Esta espécie é de difícil diferenciação através do uso de técnicas rotineiras, mas podem distinguir-se pela hidrólise da esculina no auxonograma (GUITARD et al., 2015). Além do uso de técnicas como sequenciamento do espaçador transcrito interno - ITS ou D1 / D2 da subunidade maior do DNA ribossômico (rDNA), técnicas de proteômica como MALDI-TOF MS e sequenciamento de um fragmento do alongamento da transcrição do gene Fator 1 (EF-1) contribuem para essa distinção (GUITARD et al., 2015).

Candida inconspicua inicialmente foi classificada como *Torulopsis inconspicua* em 1952, posteriormente foi reclassificada como pertencente ao gênero *Candida* em 1978 (MIXÃO et al., 2019).

Para identificação de *Candida inconspicua*, a levedura inicialmente foi cultivada em meio Sabouraud a 2% por a 30°C por 72 horas e em seguida após extração direta em MALDI-TOF (MALDI-Biotyper com versões como Daltonics e Bruker (MIXÃO et al., 2019).

Após o crescimento da colônia de *Candida inconspicua* em meio CandiSelect-4 por 48 h a 37°C, observa-se a coloração azul (ZHAO et al., 2016).

Um estudo realizado pela primeira vez no Irã relatou a presença de leveduras incomuns e raras, nas quais algumas delas não foram isolados ou relatadas de amostras clínicas anteriormente. Esses incluem algumas espécies raras, isoladas do gênero *Candida*, incluindo a espécie *Candida inconspicua* (KARIMI et al., 2015)

Interessantemente foi observado um aumento de mais de dez vezes de infecções por *C. inconspicua* entre os anos de 1997 e 2000; 2001 a 2004 (aumento de 9 para 276 casos). A maioria dos isolados de *C. inconspicua* causa infecções, está associada à orofaringe, osteomielite e candidíase esofágica em pacientes HIV positivo, tal como a candidemia em pacientes com neoplasias hematológicas (MIXÃO et al., 2019). Frequentemente, isolados originam-se da colonização das vias respiratórias e digestivas de fontes desconhecidas (MIXÃO et al., 2019).

Foi relatada certa frequência de cepas resistentes ao fluconazol (MIXÃO et al., 2019).

Muitos estudos sustentam que *C. inconspicua* pode frequentemente ser encontrada em produtos, incluindo leite, manteiga ou queijo. Além disso, foi

relatado recentemente em bebidas alcoólicas tradicionais, como cerveja de sorgo chamada tchapalo e o óleo de palma (MIXÃO et al., 2019)

2.4 OUTROS GÊNEROS DE LEVEDURAS QUE CAUSAM DOENÇAS INFECCIOSAS

Outros gêneros de leveduras podem causar infecções e doenças graves como as espécies do gênero *Cryptococcus*, tendo como as principais espécies *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*, sendo a segunda maior causa de doenças invasivas depois do gênero *Candida* (PFALLER e DIEKEMA, 2010; BOVERS, HAGEN e BOEKHOUT, 2008; PEMA, ZARAGOZA e SALAVERT, 2013).

Outros gêneros raramente causam doenças infecciosas em humanos, tais como *Rhodotorula* spp. (isolado geralmente em pele e mucosas), *Trichosporon* spp., *Saprochaeta* spp., *Pneumocystis jirovecii*, *Geotrichum* spp., *Saccharomyces* spp. e *Hansenula* spp.. Tais gêneros são observados em pacientes imunodeprimidos, pacientes com oncologia hematológica e transplantados que recebem profilaxia ou tratamento empírico, surgem ainda de pressão seletiva de antimicóticos (CAIRA et al., 2011; PEMA, ZARAGOZA e SALAVERT, 2013).

2.5 EPIDEMIOLOGIA E PRINCIPAIS DOENÇAS CAUSADAS POR LEVEDURAS

As leveduras podem causar diversas doenças em humanos, desde micoses superficiais ou cutâneas, como a candidíase oral e vaginal, até infecções sistêmicas graves, com disseminação para diversos órgãos, estando associados a níveis altos de morbidade e mortalidade (KIBBLER et al, 2003; ODDS et al, 2007).

2.5.1 MICOSES SUPERFICIAIS E CUTÂNEAS

Em todo mundo e em particular nos trópicos, as micoses superficiais e cutâneas representam uma importante causa de morbidade e do aumento de incidência nos últimos anos, além do aumento da frequência de visitas ao dermatologista (PELEGRINI et al., 2009).

2.5.1.1 Onicomicose

A onicomicose é uma infecção fúngica que atinge as unhas, representando 15 a 40% das doenças de unhas (ZANARDI et al., 2008). A sua predominância está aumentando e pode ser explicada pelo fato da idade da população, maior incidência de imunodeficiência, susceptibilidade genética, cuidados com as unhas, fumo, fatores ambientais e comportamentais. Além de ser três vezes mais prevalente em nadadores que não nadadores (Tabela 5) (FAERGEMANN e BARAN, 2003; TOSTI, HAY e ARENAS-GUZMAN, 2005; ZANARDI et al., 2008).

As dermatofitoses foram relatadas por vários estudos como o principal agente etiológicos da onicomicose, seguido por leveduras, em zonas temperadas especialmente (FAERGEMANN e BARAN, 2003, BALLESTÉ, MOUSQUÉS e GEZUELE, 2003, TOSTI, HAY e ARENAS-GUZMAN, 2005; JÄRV et al., 2004; ROMANO GIANNI E DIFONZO, 2005). Contudo, a porcentagem de dermatófitos isolados em unha foi relativamente baixa (CALADO et al., 2011). *Candida* spp. destaca-se como as leveduras uma das mais comumente isoladas, sendo observado também em João Pessoa, Brasil, um percentual de (82%) da espécies de *Candida* como um dos principais fungos envolvidos na onicomicose, acompanhada de dermatófitos (13,4%) (CALADO et al., 2011).

Além disso, os agentes etiológicos mais frequentemente relatados em casos de onicomicose no Ceará, Nordeste brasileiro, são provenientes de espécie de *Candida* (75,42%), seguidas de dermatófitos (12,99%) e *Fusarium* spp. (8,19%) (BRILHANTE et al., 2005). A onicomicose provocada por leveduras passou a ser a mais comum na clínica, representando 75% de todos os casos descritos na Líbia (Ellabib et al., 2002), 59,1% em Roma (MERCANTINI, MARSELLA e MORETTO, 1996), e 49,1% no Rio de Janeiro, Brasil (ARAÚJO et al., 2003; ARRUA et al., 2015).

No entanto, atualmente as espécies isoladas com mais frequência são dermatófitos, leveduras e fungos não dermatófitos. Anteriormente, apenas os dermatófitos foram considerados somente como os agentes causais mais comuns, entretanto, recentemente espécies de *Candida* foram relatadas entre os patógenos importantes que causam infecções por onicomicose (SAV et al., 2018). A infecção fúngica das unhas é subungueal distal e lateral onicomicose, nos quais os agentes etiológicos mais prevalentes nas unhas dos pés, são dermatófitos, seguido por

leveduras do gênero *Candida* e bolores, como *Acremonium* spp., *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp. (OTASEVIC et al. 2016).

Um estudo realizado em João Pessoa, Paraíba, Brasil observou que de 665 amostras, 24% dos casos foram positivos para *C. tropicalis*, 23% para *C. krusei*, 11% para *C. albicans* e 2% das espécies não foram especificadas, somente descritas como *Candida* spp. Um total de 18% sendo negativos, provavelmente este dado se refere à distribuição não uniforme dos fungos na unha e pela orientação inadequada para o procedimento antes da coleta recebido pelo paciente (Tabela 4) (ARRUA et al., 2015).

Presença de leveduras do gênero <i>Candida</i> em Onicomicoses		
LEVEDURAS	NÚMEROS DE CASOS	PREVALÊNCIA
<i>Candida</i> spp.	13	2%
<i>Candida tropicalis</i>	158	24%
<i>Candida krusei</i>	151	23%
<i>Candida albicans</i>	75	11%
<i>Candida guilliermondii</i>	126	19%
<i>Candida stellatoidea</i>	07	1%
<i>Candida parapsilosis</i>	08	1%
<i>Candia glabrata</i>	04	0,6%
#Culturas negativas	122	18%

Tabela 4: Presença de leveduras do gênero *Candida* em Onicomicoses. Distribuição de espécies de leveduras encontradas nas culturas de exames. Adaptado de: (ARRUA et al., 2015).

São importantes os fatores de virulência, usados pelo microrganismo e a defesa contra o patógeno. Estes fatores de virulência incluem a produção de enzimas (proteínase, fosfolipase e hemolisina) e, formação de biofilme pelo microrganismo (SAV et al, 2018). Mesmo utilizando dos fatores de virulência, o microrganismo encontra dificuldades na erradicação da infecção fúngica das unhas

devido à matriz extracelular, correspondente a uma biomassa fúngica espessa. Além disso, utilizam das classes de enzimas hidrolíticas como a fosfolipases, com capacidade de hidrolisar uma ou mais ligações éster glicerofosfolípides, enquanto as proteinases quebram proteínas como hemoglobina, albumina e queratina. Por causa dessas enzimas, a espécie de *Candida* aderem à célula hospedeira e através da formação de lise, formando a infecção (SAV et al, 2018)

Antifúngicos sistêmicos e tópicos são usados no tratamento da infecção por onicomicose, causados por espécies de *Candida*, como itraconazol, fluconazol, imidazóis, alilaminas (terbinafina), clotrimazol, cetoconazol e miconazol e possuem perfil seguro para aplicação humana sendo eficazes contra onicomicose (SAV et al, 2018). No entanto, devido aos tratamentos longos, de alto custo, muitas vezes ineficazes, hepatotóxicos e/ou que causam transtornos gastrointestinais, além dos diversos efeitos colaterais, muitas vezes não se tem sucesso no tratamento (SAV et al, 2018).

2.5.1.2 Candidíase Vulvovaginal

A candidíase vulvovaginal (CVV) é uma infecção sintomática oriunda do crescimento exacerbado das células de *Candida* spp. que fazem parte dos microrganismos comensais presentes na vagina (SOBEL et al., 1998). É estimado um número de três entre quatro mulheres saudáveis vivenciaram esse caso de infecção, ao menos um episódio em algum momento da vida em seu período fértil (GIEGER, FOXNAN E GILLESPIE, 1995). A cada duas mulheres, uma aproximadamente vivenciou um ou dois episódios ao longo da vida (CARROLL, HURLEY e STANLEY, 1973). Sendo 5 a 8 % dessas mulheres tem CVV periodicamente, correspondendo a Candidíase Vulvovaginal Recorrente (CVVR) (SOBEL, 1985).

A candidíase vulvovaginal recorrente (CVVR) é determinada como mais de quatro episódios no ano, em geral ocasionada pelas espécies de *C. albicans* ou *C. glabrata*, com causa de recorrência desconhecida na maior parte das mulheres (SOBEL, 2007; PAPPAS et al., 2009; MÅRDH et al., 2002; ANDERSON, KLINK e COHRSSSEN, 2004; RICHTER et al., 2005).

As CVV se classificam em não complicadas, aproximadamente 90% e complicadas, aproximadamente 10%, baseando em características clínicas, fatores

inerentes ao hospedeiro, resposta a terapia e ao microrganismo. O critérios para seguintes definições estão de acordo com a frequência dos episódios, sendo a não complicada estabelecida como infrequente (≤ 3 episódios por ano), tendo a *C. albicans* como principal agente causador. Nas descritas complicadas, inclui-se casos graves, associado à gravidez, diabetes descontrolada e imunossupressão (SOBEL, 2007; PAPPAS et al., 2009).

As taxas de isolados de *C. albicans* nas formas agudas e recorrentes de CVV e em grupos controles foram 37,3%, 54,2% e 8,5%, respectivamente, enquanto as taxas de infecção de *Candida não albicans* nesses grupos foram 24,1%, 50,9% e 25%, respectivamente (GUZEL et al., 2011).

Cinco estudos independentes revelam a percentagem de 17% na Itália, 24% nos Estados Unidos, 42,9 a 49,6% na Turquia de isolados de *Candida não C. albicans* causando CVV (SPINILLO et al., 1997; RICHTER et al., 2005; OZCAN et al., 2010; GUZEL et al., 2011). Ademais, observa-se um aumento de episódios de infecções causadas por *Candida não C. albicans* (NYIRJESY et al., 1995; SPINILLO et al., 1997).

Conforme determinadas regiões geográficas há variações também na incidência, nas quais *C. tropicalis* é mais prevalente na África e no Oriente Médio, *C. glabrata* tem mais incidência no Pacífico Asiático e União Europeia e *C. parapsilosis* é mais predominante na América Latina e América do Norte (ALEXANDER et al. 2013; CHAPELAND-LECLERC et al., 2010; KLEVAY et al., 2008; PFALLER e DIEKEMA, 2004).

A CVV também é considerada como segunda causa mais comum de vaginite após vaginose bacteriana. Há uma estimativa que as mulheres colonizadas com *Candida* são 10–15% dos pacientes assintomáticos, 70-75% das mulheres experimentam um caso de CVV em suas vidas, além disso, 50% das mulheres infectadas inicialmente, sofrerão um segundo evento de CVV e ainda 5–10% de todas as mulheres desenvolverão RVVC. O fato de mulheres assintomáticas terem a presença de *Candida* na vagina, não necessariamente elas terão a CVV (GONÇALVES et al., 2016).

A incidência de CVV em mulheres sintomáticas varia de acordo com as populações estudadas bem como sua localização. Nos últimos anos os estudos publicados demonstram incidências da doença em mulheres sintomáticas que variam de 12,1% a 57,3%. Foram relatadas por estudos epidemiológicos que as

maiores incidências são oriundas em países africanos como Tunísia 48,0% e Nigéria com 57,3%, seguidos por Brasil e Austrália. As menores incidências foram mencionadas nos países europeus, Itália com 19,5%, Grécia 12,1% e Índia (17,7 a 20,4%). Considerando a colonização assintomática, brasileira, italiana e israelense estes estudos demonstram colonização vaginal por espécies de *Candida* em mulheres sem sintomas de CVV com uma prevalência entre 11,6% e 17,0% (GONÇALVES et al., 2016).

Além disso, o uso excessivo de antibióticos e antifúngicos, como os azólicos para uso tópico, tem contribuindo para a frequência de espécies de *Candida não albicans*, devido à resistência desses agentes (RICHTER et al., 2005; MUTUA, REVATHI e MACHOKI, 2010). Nota-se que em algumas regiões do mundo e em determinadas faixas etárias, a prevalência de *Candida-não albicans* (principalmente *C. glabrata*) em candidíase vaginal (SINGH et al., 2002).

2.5.1.3 Candidíase oral

A doença mais comum em indivíduos com HIV/AIDS é a candidíase orofaríngea e mais provavelmente 90% destes indivíduos desenvolverá a infecção (MENEZES et al., 2015; JUNQUEIRA et al., 2012).

Uma condição predisponente para o desenvolvimento de candidíase orofaríngea é a colonização persistente da cavidade oral pela levedura (MENEZES et al., 2015; ERKÖSE e ERTURAN, 2007). Nos indivíduos com HIV/AIDS é avaliado como um marcador da progressão da doença a alta incidência de candidíase orofaríngea e densidade elevada de leveduras na cavidade oral (MENEZES et al., 2015; AL-ABEID et al 2004).

Um estudo retrospectivo realizado na Faculdade de Odontologia de Pelotas, Universidade Federal de Pelotas (Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil), analisou e revisou um total de registros médicos de 1.534 pacientes diagnosticados com candidíase oral entre 1997 e 2014 do CDOD (Centro de Diagnóstico de Oral). Um índice de (80,3%) destes pacientes eram mulheres com idade entre 51 e 70 anos e 1.308 pacientes eram caucasianos (brancos). No geral observou-se 61,1% dos pacientes não apresentavam doenças sistêmicas e que os participantes que usavam dentaduras CAC (candidíase atrófica crônica) foram que mostraram o tipo mais comum de candidíase, 59,3% (REINHARDT et al., 2018).

Das 133 *Candidas* isoladas dos pacientes internados, a mais isolada foi *C. albicans* com percentual de 75,2%, *C. glabrata* 18,8%, logo em seguida *C. tropicalis* 2,25%, também *C. dubliniensis* 2,25% e *C. krusei* 1,5% (DOVIGO et al, 2013; DE PAULA et al., 2015).

2.5.2 CANDIDÍASE INVASIVA

A candidíase invasiva pode ser causada por diversas espécies de *Candida* e pode estar relacionada com cuidados de saúde. Esta doença também é uma das principais causas de morbidade e mortalidade correlacionadas às doenças invasivas. Em torno de 95% dos casos são causadas pelas espécies patogênicas mais comuns, como *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*. No geral, infecções graves relativas a estes organismos mais frequentes são referidas como candidíase invasiva e podem infectar a mucosa do esôfago, orofaringe e vagina (MCCARTY e PAPPAS, 2016).

As espécies de *Candida* possui capacidade de formar biofilmes tanto em próteses como cateteres urinários e dispositivos intravenosos (MAYER, WILSON e HUBE, 2013; SARDI et al., 2013). Segundo SAVILLE et al., 2008, essa adesão a superfícies favorece a conversão da forma leveduriforme para hifas. Outro ponto importante é a resposta celular, por contribuir na destruição e eliminação de patógenos (GOW et al., 2012). Considerando este fato, indivíduos com alguma disfunção leucopênica significativa, são propensos a desenvolverem candidemia ou outra candidíase invasiva. Fatores não menos importantes como exposição a fármacos, imunossupressão são determinantes em indivíduos com candidíase invasiva (MCCARTY e PAPPAS, 2016).

2.5.2.1 Candidúria

As espécies de *Candida* estão entre as causas mais comuns de infecções urinárias causadas por fungos (GUPTA, 2007; YAZDANI, FOROUGHIFAR e MOHAMMADI, 2016). A incidência de candidúria torna-se mais prevalente nas unidades de terapia intensiva (YAZDANI, FOROUGHIFAR e MOHAMMADI, 2016). A maioria dos pacientes com candidúria não desenvolve septicemia comparadas a bacteriúria. Contudo estudos demonstraram que 1% a 8% dos pacientes com

candidemia também apresentaram candidúria (YAZDANI, FOROUGHIFAR e MOHAMMADI, 2016).

O presente estudo e outras investigações mostram que *C. albicans* representa 50% a 70% dessas infecções no trato urinário, seguido por *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. krusei* (XESS et al., 2007; YAZDANI, FOROUGHIFAR e MOHAMMADI, 2016). No entanto, em outros estudos demonstraram informações divergentes, nos quais o complexo de *C. parapsilosis* tornou-se a principal causa da candidíase, incluindo candidúria (LINDER et al., 2003; TROFA, GÁCSER E NOSANCHUK, 2008; YAZDANI, FOROUGHIFAR e MOHAMMADI, 2016).

As infecções causadas por *Candida* spp. No trato urinário são pela via hematogênica descendente ou ascendente do períneo, diferente das bactérias Gram negativas, em especial *E. coli*, que na maioria das vezes usa a via ascendente (ALFOUZAN e DHAR, 2017; ACHKAR e FRIES, 2010). O acesso à via hematogênica por *Candida* spp. pode desencadear o desenvolvimento de inúmeros microabscessos do córtex resultando na contaminação do microrganismo na urina. Contudo, essa via de patogênese por *Candida* spp. não esta bem esclarecida (ALFOUZAN e DHAR, 2017; KAUFFMAN, 2005).

É um achado clínico comum, principalmente em pacientes hospitalizados. A presença de candidúria (ou seja, espécies de *Candida* na urina), com algumas descrições indicando 90% dos pacientes com *Candida* urinária. Os pacientes hospitalizados com infecções do trato (ITU) unidade de tratamento intensivo, usavam um cateter urinário. Os médicos não devem descartar esse achado clínico, porque a presença de leveduras na urina pode ter seu significado etiológico nas ITUs, sendo indicativo patológico subentendido no sistema geniturinário (por exemplo, candidíase vulvovaginal). Além disso, a candidúria pode ser útil como marcador para candidemia disseminada, que está relacionada com uma mortalidade bruta de 30-40%. A candidúria é definida como 10^4 - 10^5 (UFC / mL), de leveduras detectadas na urina, o índice de $10^5 < \text{UFC/mL}$, corresponde aos pacientes com sintomas de ITU causados geralmente por *Candida* (GAJDÁCS et al., 2019). Fatores de risco de candidúria e *Candida* urinária estão bem estabelecidas e inclui sexo feminino, diabetes mellitus, extremos de idade, hospitalização prolongada, uso recente de antibióticos de amplo espectro ou imunossupressores, unidade de terapia intensiva (UTI), disfunção da bexiga, nefrolitíase estase urinária, anomalias congênitas trato urinário ou estruturais da urina, transplante, ou ITUs bacterianas.

Segundo GAJDÁCS et al., 2019, houve o acréscimo dos níveis de colonização das espécies de *Candida* em quase todas as superfícies mucosas em pacientes HIV positivos que (considerando o estado geral de imunossupressão do paciente) ons quais elevará os níveis de infecções por *Candida* manifestadas, incluindo o trato geniturinário. O agravo em relação aos tecidos do sistema urinário é promover obstrução do sistema urinário (GAJDÁCS et al., 2019).

Em um estudo em pacientes com candidúria observou-se que a idade média dos pacientes foi de 72,01 anos de pacientes internados; enquanto no grupo ambulatorial, foi de 69,74 anos . Contudo, há predominância de pacientes com mais de 50 anos de idade nos dois grupos. A maioria (99,8%) de amostras urina de ambulatórios foram desconsideradas, enquanto, as amostras de urina dos internados com sondas, houve um percentual de (87,59%), urina mediana de (12,06%) e amostras obtido por aspiração suprapúbica da bexiga (0,3%) foram menos relevantes (GAJDÁCS et al., 2019)

Em um período de estudos de 10 anos, o Instituto de Microbiologia Clínica da Hungria recebeu, em média, 2115 casos positivos de candidúria. No geral, a espécie *C. albicans* foi a mais isolada com índice de 65,22% e 59,64% em (ambulatoriais) e (internados), respectivamente. Vale ressaltar que a prevalência de NACS (*Candida* não *abicans*) não pode ser negligenciada (especialmente *C. glabrata* e *C. tropicalis*, representando aproximadamente 20% dos pacientes ambulatoriais e aproximadamente 30% de isolados hospitalares) (GAJDÁCS et al., 2019).

2.5.2.2 Candidemia

A candidemia é caracterizada como uma infecção nosocomial, cuja metade dos casos notificados de infecção é provocada por *C. albicans* (CHENG et al., 2004; ESCRIBANO et al., 2013; ARENDRUP et al., 2011). No entanto, em um período de 12 anos no Japão, incluiu um total de 283 casos de candidemia de 275 pacientes. Desses 283 casos, foram coletados 295 *Candida* spp., incluindo diferentes espécies de *Candida* spp. e casos de bacteriemia / fungemia polimicrobiana, devido a patógenos que não eram *Candida* spp.. Nos casos de *Candida* spp. foram compostos por 131 (44,4%) isolados de *C. albicans*, 74 (25,1%), *C. glabrata*, 45 (15,3%), *C. parapsilosis*, 28 (9,5%), de *C. tropicalis* 17 (5,8%) e de outras *Candida*

spp., incluindo *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. dubliniensis* (ISHIKANE et al., 2019).

A candidemia se desenvolve a partir de fatores como a degradação da barreira entérica em decorrência de processos invasivos (cirurgia abdominal), quadro oncológico de neutropenia, pacientes com diabetes e insuficiência renal em unidade de terapia intensiva, incluindo também o uso de dispositivos como cateteres intravasculares, pacientes entubados ou com sondas urinárias (EPELBAUM e CHASAN, 2017; MCCARTY e PAPPAS, 2016; DELALOYE e CALANDRA, 2014).

As infecções fúngicas invasivas geram um impacto relevante nos indicadores de morbidade e mortalidade, provocando 0,4 mortes por 100 mil habitantes nos Estados Unidos (TROFA, GÁCSEK E NOSANCHUK, 2008). A candidemia propicia maior permanência na internação hospitalar e proporciona maiores despesas com recursos para a saúde e mais cuidados médicos. Foi citada como a quarta causa mais comum e frequente de infecção na corrente sanguínea, mas isso se aplica aos cuidados intensivos. Em dados de estudos populacionais é a sétima infecção mais comum na corrente sanguínea (ENOCH et al., 2017).

Em um estudo realizado em um hospital em Israel no período de 2007 a 2014, os dados obtidos avaliaram *C. albicans* como o principal agente causador de candidemia (52 pacientes, 41,1%), seguido por *C. glabrata* (28 pacientes, 23,7%), *C. parapsilosis* (18 pacientes, 15,2%) e *C. tropicalis* (16 pacientes, 13,6%); Outras espécies de *Candida* foram incluídas como *C. krusei* na UTI, *C. lusitaniae*, *C. lipolytica* e *C. rugosa*. Outros estudos revelam grandes proporções de isolados de *C. glabrata* em pacientes nos blocos cirúrgicos e nas unidades de tratamento intensivo, enquanto que em um estudo de Israel, as maiores proporções de isolados foram de *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*. Verificou-se também ao longo dos anos uma diminuição da porcentagem de *C. albicans*, de 53,8% para 35,3%, e o aumento na porcentagem de *C. glabrata* de 7,7% para 29,4%. Contudo outros isolados não foram demonstrados (ELIAKIM-RAZ et al., 2016). A distribuição de *Candida* spp. provocando candidemia, varia em estudos realizados em todo o mundo; de fato pode haver diferenças entre hospitais, entre unidades diferentes no mesmo hospital e em áreas locais. Essa variante ocorre como resultado dos distintos fatores predisponentes dos pacientes, a uso de antifúngicos nesses hospitais e outros fatores (ENOCH et al., 2017). Falagas e colegas fizeram uma revisão sistemática envolvendo estudos de candidemia entre 1996 e 2009, em quase todos os estudos a

C. albicans manifestou com a espécie predominante. A maior proporção de *C. albicans* foi encontrada na Europa Central / do Norte e no EUA. As NAC (*Candida* não albicans) eram mais comuns na Ásia e Sul, América do Sul e Europa. A espécie *C. glabrata* mais prevalentemente isolada nos EUA e no Norte /A Europa Central; *C. parapsilosis* na Europa do Sul, América do Sul, e várias partes da Ásia; e *C. tropicalis* na Ásia e América do Sul (ENOCH et al., 2017).

Existem vários problemas com o estudo da incidência de candidemia. Entre elas está a sensibilidade da maioria dos sistemas de hemocultura, que corresponde a 50% dependendo do sistema de hemocultura, do volume de sangue para realizar a cultura e se o paciente está recebendo tratamento com antifúngicos adequado (ENOCH et al., 2017). Por falta de dados não se recomenda testes de amplificação (exemplo PCR). Outra limitação em alguns estudos é o uso de diferentes denominadores baseados na população, por exemplo, casos por 100.000 pessoas, ao passo que outros são hospitalizados, por exemplo, casos por 1.000 internações ou casos por 10.000 pacientes / dia (ENOCH et al., 2017). Por outro lado Truque (2002) e colegas descreveram o acréscimo de candidemia devido exclusivamente a um aumento de NAC. As NAC preocupam, pois algumas espécies são extremamente virulentas, e estão associados a possíveis falhas no tratamento devido à susceptibilidade restrita a alguns agentes antifúngicos. Com resultados similares em outros estudos a *C. albicans* foi responsável por 79% das candidemias em pacientes em UTI, mas apenas 37% em pacientes hematológicos (ENOCH et al., 2017).

A incidência de candidemia aumentou nas últimas duas a três décadas. Isto se deve a um aumento no uso de terapia mais agressiva (por exemplo, quimioterapia, transplante e terapia intensiva). Contudo, alguns estudos recentes sugerem reversão no aumento da incidência em algumas áreas e Cleveland (2015) e colegas expuseram que os declínios se devem a prováveis melhorias na prestação de cuidados de saúde; outra explicação possível para a incidência decrescente de candidemia em alguns estudos é a prevenção com o uso de biomarcadores como ferramentas de previsão (colonização índice de *Candida*, etc.) (ENOCH et al., 2017).

A candidemia eleva as taxas de mortalidade na faixa de 20 a 49%; a mortalidade impultável foi calculada em acerca de 15% em vários estudos (ENOCH et al., 2017). Existem divergências na literatura quando se trata de espécies. Contudo, Arendrup (2011) e colegas sugeriram que *C. krusei* tivesse o maior

mortalidade (36%), em paralelo com 25% para *C. parapsilosis* e 14% para outras espécies de *Candida*. Barchiesi (2015) observou que *C. krusei* tinha a maior mortalidade, mas que *C. parapsilosis* tinha a reduzida mortalidade. Outros estudos sugerem que *C. albicans* está associado com maior mortalidade, ao mesmo tempo em que, Gamelatsou et al., (2014) acreditam que *C. glabrata* teve a maior mortalidade e *C. parapsilosis* teve a menor mortalidade. Esses achados conflitantes podem ser devidos a populações diferentes ou diferenças no desenho do estudo (ENOCH et al., 2017).

2.5.3 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS EM MINAS GERAIS

Em um estudo realizado em Uberlândia, Minas Gerais, verificou-se a colonização de pelo menos duas espécies causadoras de candidíase orofaríngea em 22,5% dos pacientes, com a maior predominância da associação entre *C. albicans* e *C. parapsilosis*. (MENEZES et al., 2015; ERKÖSE e ERTURAN, 2007; JUNQUEIRA et al., 2012; LI et al., 2013; LUQUE et al., 2009).

Em outro estudo, também realizado em Uberlândia, MG, Brasil, foram analisados 111 isolados de *Candida* spp. em 60,5% (89) dos pacientes com candidíase orofaríngea, nas quais a espécie *C. albicans* predomina entre os achados, com índice de (67,6%), confirmando os dados em São Paulo, Argentina e Nigéria, com achados frequentes de *C. albicans* de 51,5%, 58,9% e 45%, respectivamente (Tabela 5) (MENEZES et al., 2015; JUNQUEIRA et al., 2012; LUQUE et al., 2009). As espécies de *Candida não albicans*, somam um total de 32,4% isolados. Dentre os 89 pacientes com cultura positiva de espécie de *Candida*, 69 (77,5%) foram colonizados por apenas uma espécie e 20 (22,5%) apresentaram uma combinação de duas ou mais espécies. Nos quais, encontram-se as mais comuns como a *C. parapsilosis*, (seguido de *C. tropicalis*), seguindo a tendência observada em outros estudos equivalentes (MENEZES et al., 2015; ERKÖSE e ERTURAN, 2007).

Distribuição e frequência de associação de espécies de <i>Candida</i> , isoladas da cavidade oral de pacientes com HIV					
Espécies	Frequência dos isolados	Porcentagem (%)	Associação de diferentes espécies	Frequência dos isolados	Porcentagem (%)
<i>C. albicans</i>	75	67,6	<i>C. albicans</i> + <i>C. parapsilosis</i>	6	30
<i>C. parapsilosis</i>	10	9,0	<i>C. albicans</i> + <i>C. tropicalis</i>	5	25
<i>C. tropicalis</i>	8	7,2	<i>C. albicans</i> + <i>C. glabrata</i>	2	10
<i>C. glabrata</i>	5	4,5	<i>C. albicans</i> + <i>C. krusei</i>	2	10
<i>C. krusei</i>	4	3,6	<i>C. albicans</i> + <i>C. kefir</i>	1	5
<i>C. dubliniensis</i>	3	2,7	<i>C. dubliniensis</i> + <i>C. lusitaniae</i>	1	5
<i>C. kefir</i>	2	1,8	<i>C. albicans</i> + <i>C. dubliniensis</i>	1	5
<i>C. famata</i>	1	0,9	<i>C. albicans</i> + <i>C. parapsilosis</i> + <i>C. tropicalis</i>	1	5
<i>C. guilliermondii</i>	1	0,9	<i>C. albicans</i> + <i>C. glabrata</i> + <i>C. tropicalis</i>	1	5
<i>C. lusitaniae</i>	1	0,9			
<i>C. peliculosa</i>	1	0,9			
Total	111	100		20	100

Tabela 5: Distribuição e frequência de associação de espécies de *Candida*, isoladas da cavidade oral de pacientes com HIV tratados na Clínica Ambulatorial de doenças infecciosas do Hospital Clínico da Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, em 2012. Adaptado de (MENEZES et al., 2015).

2.5.3.1 Epidemiologia em Belo Horizonte

Em um estudo realizado na Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte em Minas Gerais, Brasil, foram analisados 133 isolados de espécimes clínicos de 100 pacientes internados no ano de 1995 a 1996 (PINHO RESENDE, RESENDE e SALIBA, 2002). Destas amostras analisadas, foram incluídas secreções, feridas cirúrgicas, aspirados gástricos, secreções brônquicas, lavagens broncoalveolares, secreções traqueais e secreções de drenagem abdominal, amostras de sangue e urina e amostras de cateter (venosas e percutâneas) Destes isolados analisados, houve maior prevalência de *C. albicans*, seguidas de *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. guilliermondii* (Tabela 6) (PINHO RESENDE, RESENDE e SALIBA, 2002).

Distribuição da frequência e porcentagem das espécies isoladas	
Isolados (espécies)	Números (%)
<i>Candida albicans</i>	68 (51)
<i>Candida tropicalis</i>	44 (33)
<i>Candida parapsilosis</i>	11 (8)
<i>Candida glabrata</i>	06 (5)
<i>Candida krusei</i>	03 (2)
<i>Candida guilliermondii</i>	01 (1)

Tabela 6: Distribuição da frequência e porcentagem das espécies isoladas (n= 133). Adaptado de (PINHO RESENDE, RESENDE e SALIBA, 2002).

Em um hospital público de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, um estudo realizado em 2008, pesquisou sobre candidíase oral em pacientes com HIV, nos quais observaram nestes pacientes que 80 a 90% são acometidos pela doença e possuem contagem de CD4 inferior a 200 células por mm³(GABLER et al., 2008). Observaram também que quanto mais baixa imunidade, maior a frequência das

lesões. Foram analisados 67 pacientes, sendo 44 homens e 23 mulheres com diferentes lesões causadas pela candidíase oral. Observou neste estudo, que *Candida albicans* foi isolada em 16 de 23 pacientes com candidíase pseudomembranosa, sendo *C. glabrata* presente em 5 pacientes e *C. tropicalis* em três pacientes. *Candida parapsilosis* foi encontrada associada com *C. albicans* em 3 episódios de candidíase pseudomembranosa e *C. guilliermondii* foi isolado em uma lesão. *Candida albicans* também se encontrava presente em 9 dos 11 episódios de doenças eritematosas candidíase. *C. albicans* também foi encontrada em um paciente em quem foi isolado *Candida tropicalis*. Outras espécies de *Candida* associados à candidíase eritematosa foram *C. krusei*, *C. glabrata*, e *C. dubliniensis*, com cada espécie observada em uma lesão. Além disso, *Candida albicans* foi encontrada em todos os pacientes com quilate angular, sendo que em 2 deles houve uma associação com *C. tropicalis*. Em 1 paciente com queilite angular, as espécies de leveduras oportunistas *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. tropicalis* foram isolados da mesma lesão (GABLER et al., 2008).

2.6 TRATAMENTO

O conjunto de fármacos para o tratamento da candidíase atualmente corresponde a três classes de drogas: os polienos, azólicos e equinocandinas. Além disso, um análogo pirimidina, a flucitosina tem como função auxiliar no tratamento de candidíase do sistema nervoso central e endocardite por *Candida* (BEM-AMI, 2018).

As equinocandinas são lipopeptídeos cíclicos que inibem a síntese de parede celular. As equinocandinas são a caspofungina, micafungina e anidulafungina (BEM-AMI, 2018).

A micafungina, por exemplo, tem excelente eficácia no tratamento contra candidíase esofágica em pacientes com HIV contra *C. albicans* (BEM-AMI, 2018). A micafungina também é indicada para o início do tratamento da candidíase (PAPPAS et al., 2016). Embora, algumas espécies de *Candida* são intrinsecamente resistentes a agentes antifúngicos, como *C. glabrata* e *C. krusei* (SUDHAN et al., 2016). No entanto, para isso é indicado à dose mais alta de fluconazol ou voriconazol ou o uso da anfotericina B que é indicada em situações de resistência a outros antifúngicos (PAPPAS et al., 2016).

Polienos se ligam ao ergosterol da membrana citoplasmática fúngica. Como exemplo, temos a anfotericina B que é uma molécula lipofílica (BEM-AMI, 2018).

Os azóis inibem o crescimento dos fungos ligando-se e inibindo a lanosterol 14 α desmetilase, enzima pertencente ao citocromo P450, afetando assim a síntese da membrana plasmática. Os azóis são fluconazol, voriconazol, itraconazol, e cetoconazol (BEM-AMI, 2018; GOULART et al., 2018).

Fluconazol é usado atualmente como primeira escolha para terapia empírica para candidemia em pacientes não neutropênicos com doença moderada leve, e no sentido de reduzir a candidemia em pacientes clinicamente estáveis e susceptíveis ao fluconazol (CHANG et al., 2017).

As infecções invasivas por *Candida* geralmente podem ser tratadas com monoterapia com azóis, equinocandinas ou anfotericina B, contudo há publicações relatando o uso de combinação de terapia (CHANG et al., 2017)

Estudos recentes relataram taxas crescentes de resistência a equinocandina e ao fluconazol em países europeus, inclusive nos Estados Unidos. Além disso, *C. glabrata* e *C. krusei*, tem resistência ao fluconazol, foi também documentada em diferentes regiões a resistência de *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* (DOI et al., 2016).

Foi estudada de forma ampla a epidemiologia da candidemia na Europa e nos Estados Unidos e não na América Latina, além de ausência de dados sobre a resistência à equinocandina na América Latina (DOI et al., 2016). Publicações recentes de Bizerra et al., 2014 registraram o primeiro caso de resistência a equinocandina no Brasil demonstrando assim, a importância da realização de atividades de vigilância contínua para identificar alterações nas taxas de incidência, agentes etiológicos, populações suscetíveis, e resistência a antifúngicos em nossa região (DOI et al., 2016).

2.7 DIAGNÓSTICO

A identificação de leveduras é de suma importância para clínica, sendo possível a diferenciação de espécies, bem como virulência e resistência a fármacos (RICHTER et al., 2005; VECCHIONE et al., 2017). A identificação pode ser realizada tanto por métodos convencionais, como testes bioquímicos, teste do tubo germinativo, baseando também em cultura com uso, por exemplo, meio

CHROMagar Candida®, e por testes moleculares (SULLIVAN E COLEMAN, 1998; SENDID et al., 2007; ZHAO et al., 2016; VECCHIONE et al., 2017).

2.7.1 TUBO GERMINATIVO

A metodologia do tubo germinativo foi descrita por Tschadjian em 1960. Essa prova é um dos passos iniciais para identificação de leveduras (ELISEI, 2009; KONEMAN et al., 2001). Este é um método simples de triagem que distingue as espécies de *C. albicans* ou *C. dubliniensis* (tubo germinativo positivo) de outras espécies leveduras (tubo germinativo negativo). A visualização do tubo germinativo se dá pela projeção alongada, que emerge do blastoconídeo, quando esta se encontra em contato com soro humano ou de outros animais, em um período de 2 a 3 horas a temperatura de 37°C (SIDRIM & ROCHA, 2004; ELISEI, 2009).

2.7.2 CULTURA

Para o diagnóstico de candidíase é utilizada como padrão ouro a cultura de fungos, exames histopatológicos (biópsias), imunofluorescência. Contudo, nos casos de culturas de sangue são identificados aproximadamente 50% de todos os pacientes com candidíase invasiva, isso se deve a baixa sensibilidade, demonstrada por estudos de autópsias (MCCARTY e PAPPAS, 2016; CLANCY e NGUYEN, 2013). Essa baixa sensibilidade se deve à exposição a antifúngico, à técnica propriamente dita e volume sanguíneo para hemocultura (MCCARTY e PAPPAS, 2016; CLANCY e NGUYEN, 2013).

Na cultura pode ser utilizado o meio CHROMagar Candida® que contém cromógeno, cloranfenicol que inibe o crescimento bacteriano e substratos enzimáticos que ao serem hidrolizados por enzimas específicas, identificando presuntivamente leveduras pela presença de pigmentação das colônias em um período de incubação 24 a 48 horas na temperatura de 37°C (SULLIVAN E COLEMAN, 1998; ODDS e BERNAERTS, 1994; ARAUJO et al., 2005; BD - CHROMagar Candida Medium - Becton Dickinson, 2019).

2.7.3 OUTROS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

Outros métodos podem auxiliar no diagnóstico como o desorção/ionização a laser auxiliado por matriz em espectrofotometria de massa (MALDI-TOF MS), no qual a análise é por aplicação de espectrofotometria de massa (PASTERNAK, 2012). Faz-se o emprego também da análise por hibridação *in situ* fluorescente do ácido nucleico peptídico - PNA FISH, uma técnica que consiste de procedimentos de colorações tradicionais com associação do uso exclusivo de sondas de peptídeo de ácido nucléico. Sondas de peptídeo de ácido nucléico - PNAs são um híbrido estrutural entre um ácido nucleico e uma proteína, com bases nitrogenadas funcionais ligadas através de uma acetamida terciária e uma espinha dorsal de uma proteína (TADIMETY et al., 2019). Além das técnicas de ensaio T2 *Candida* – ensaio que detecta DNA de *Candida* através da aglutinação de nanopartículas e subsequentes alterações na ressonância magnética nuclear do sangue total (GILL et al., 2019). A técnica de β -D-glucan (BDG), que consiste em um ensaio imunoenzimático cromogênico e quantitativo para detecção BDG presente na parede celular das espécies de *Candida* (THEEL e DOERN, 2013; STENDER, 2012). Outro método de grande importância é técnica de PCR (Reação em cadeia da polimerase) e apresenta especificidade superior a 90% (EPELBAUM e CHASAN, 2017). Neste método molecular podem ser caracterizados por polimorfismos ITS1 e ITS2 e análises desses locus, além do domínio variável D1/D2 (SELVARANGAN et al., 2003; CHEN et al., 2000; CHEN et al., 2001).

Diversos métodos alternativos laboratoriais (não baseados em cultura e minimamente invasivos com um tempo mínimo de resposta) foram desenvolvidos e avaliados para diagnósticos rápidos de candidíase invasiva nas últimas décadas. Estes métodos abrangem os padrões ouro, testes de laboratório não cultivado com base na mensuração de patógenos e biomarcadores provenientes do hospedeiro, ferramentas de previsão clínica e tecnologias de ponta. Ferramentas essas, que incluem (PCR), reação em cadeia da polimerase; (PCT), procalcitonina; (CAGTA), Anticorpo para tubo germinativo de *Candida albicans*; (IL17), Interleucina 17; (SAA), Soro amilóide A; além de (PNA-FISH), hibridização *in situ* fluorescente de ácido nucleico peptídico e MALDI-TOF (Figura 01) (PITARCH, NOMBELA e GIL, 2018).

Estes métodos são baseados na mensuração e avaliação de biomarcadores oriundos do patógeno (proteínas e carboidratos, ácidos nucleicos de *Candida*,) ou de

hospedeiro (proteínas humanas) em amostras clínicas (como sangue, plasma, urina ou soro, entre outras amostras biológicas) de pacientes em risco de (IC) candidíase invasiva (PITARCH, NOMBELA e GIL, 2018).

Na detecção histopatológica de *Candida* spp. na biópsia (avaliação de tecido), amostras de locais normalmente estéreis permitem a confirmação de doença invasiva, como inflamação e invasão. Entretanto, esse método convencional pode se tornar arriscado em pacientes instáveis ou mesmo contra indicado em pacientes com trombocitopenia grave como coagulopatias ou gravemente enfermos. Ademais tem reduzida sensibilidade em cultura fúngica, isso provável a distribuição do patógeno no tecido infectado. Além disso, sua utilidade pode ser limitada em pacientes que receberam terapia profilática ou preventiva antes da amostragem de biópsia de tecidos (PITARCH, NOMBELA e GIL, 2018).

Metodologias para identificação de CI

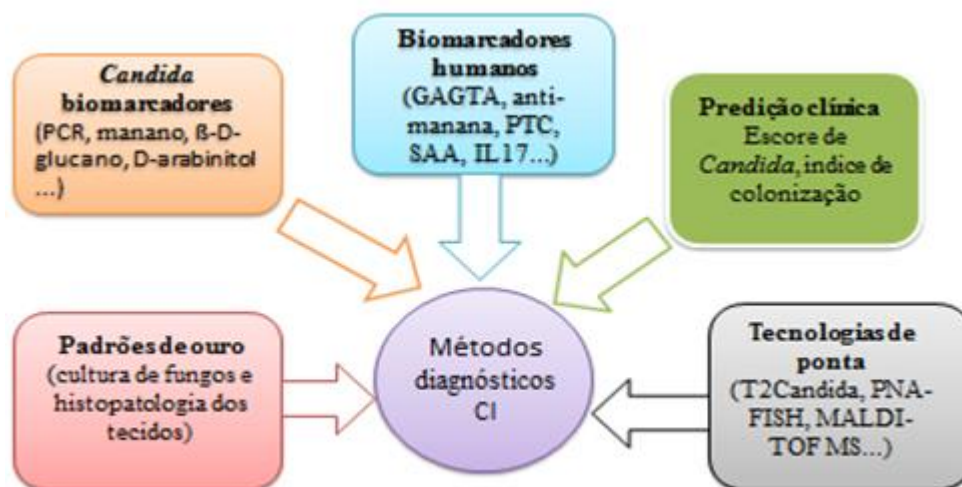


Figura 01: Métodos atualmente disponíveis para diagnóstico de CI (candidíase invasiva) (PITARCH, NOMBELA e GIL, 2018).

2.7.4 DIFICULDADES NA IDENTIFICAÇÃO POR MÉTODOS CONVENCIONAIS

O tempo é fator determinante no que diz respeito à identificação de patógenos, pois influencia nas taxas de mortalidade e nos custos com indivíduos hospitalizados. (LIMA-NETO et al., 2014; MARKLEIN et al., 2009; PUTIGNANI et al., 2011; LIMA-NETO et al., 2014). Acrescenta-se também o fato de laboratórios

clínicos não dispõem de instalações e equipamentos para realizarem biologia molecular, fazendo uso apenas de caracterização morfológica e sorológica (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011).

Dentre os métodos convencionais, temos o exemplo clássico à cultura. A cultura pode demorar conforme o patógeno ou apresentar resultados positivos em um período de quatro a seis horas ou demorar semanas, no entanto os testes fenotípicos liberam resultado em 24 ou 48 horas. Segundo (KUMAR et al., 2006), a cada hora de demora no tratamento adequado de uma septicemia, a mortalidade aumenta de 10 a 20% (PASTERNAK, 2012). Visto também que a identificação precoce da etiologia de uma sepse diminui o custo e o tempo de internação (PASTERNAK, 2012; BEEKMANN et al., 2003).

O isolamento e identificação de espécies de *Candida* em laboratório micológico com métodos convencionais são lentos e trabalhosos, pois requer de 3 a 6 dias para ter o diagnóstico. Os métodos convencionais são tecnicamente mais laboriosos, principalmente na análise e não fornecem dados como o nível genotípico de identificação. Entretanto, o uso de métodos automatizados, avançados e moleculares auxiliariam os pesquisadores para desenvolver novas intervenções terapêuticas e auxiliar no melhor atendimento ao paciente (SUDHAN et al., 2016).

Como consequência teria resultado mais rápido e correto identificação de espécies de *Candida* ajudando no combate à infecção e redução das taxas de mortalidade (SUDHAN et al., 2016).

3 JUSTIFICATIVA

A crescente incidência de infecções oportunistas por leveduras se deve ao aumento de fatores como, a maior agressividade no tratamento de neoplasias, síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), transplante de órgãos, lúpus eritematoso sistêmico (LES), entre outras doenças. No que se refere às infecções fúngicas generalizadas, têm destaque as leveduroses. Em Unidades de Terapia Intensiva, muitas vezes o curso é de sepse grave em pacientes internados, ocorrendo muitas vezes à morte. A emergente resistência de espécies a multi-drogas, como é o caso da *C. auris*, prejudica a decisão terapêutica. Agregado as estes fatores a ausência de técnicas de identificação mais sofisticadas, como de

biologia molecular, em sua maioria dentro dos laboratórios de Análises Clínicas, aumentam os impactos econômicos das infecções por leveduras, por dificultarem ainda mais o sucesso no tratamento destas infecções. Portanto, para se obter um tratamento com eficácia, torna essencial ter um conhecimento de qual é a espécie que ocasionou a infecção para desta forma poder se escolher o melhor tratamento. Diante deste quadro, o presente estudo propõe identificar as principais leveduras que estão causando infecções nos Hospitais Eduardo de Menezes e Júlia Kubitschek (Belo Horizonte, MG).

4 OBJETIVO GERAL

Identificar as leveduras causadoras de micoses oportunistas em dois hospitais de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Re-isolar as leveduras recebidas pelos hospitais;
- 2- Fazer a identificação presuntiva das leveduras isoladas utilizando o meio de cultura CHROMagar *Candida*®;
- 3- Agrupar as leveduras isoladas conforme as características macroscópicas;
- 4- Identificar por metodologias de biologia molecular as leveduras causadoras de micoses oportunistas provenientes de amostras clínicas de pacientes internados no Hospital Eduardo de Menezes e no Hospital Júlia Kubitschek, Belo Horizonte, MG, Brasil;
- 5- Identificar os principais fatores de risco para cada espécie de levedura encontrada utilizando a análise dos prontuários médicos;
- 6- Confrontar os resultados de identificação por métodos convencionais realizados pelos laboratórios microbiológicos dos hospitais envolvidos com os resultados obtidos por biologia molecular a ser realizado pelo presente estudo;

5 METODOLOGIA

Os isolados das leveduras foram obtidos a partir das amostras clínicas de pacientes internados nos Hospitais Eduardo de Menezes e Júlia Kubitschek, Belo Horizonte, Minas Gerais que apresentaram infecções características de micoses oportunistas causadas por leveduras nos anos de 2018-2019. Estas amostras foram concedidas pelo setor de Microbiologia dos laboratórios de Análises Clínicas dos hospitais citados.

5.1 ASPECTOS ÉTICOS

Este projeto possui implicações éticas envolvendo seres humanos, pois envolve armazenamento temporário e uso de material biológico humano, além de análise de fichas laboratoriais e/ou clínicas. Nesta proposta, os hospitais e laboratórios colaboradores cederam aos pesquisadores, uma cultura de levedura proveniente de amostra clínica (sangue, secreções, escarro, entre outros), sendo esta coletada no procedimento de rotina do atendimento dos pacientes com suspeita de infecção fúngica e este material será apenas usado, pelos pesquisadores, para estudo dos agentes etiológicos (leveduras).

Diante do caráter urgente das infecções fúngicas, é de extrema importância à análise de um grande número de amostras clínicas, aumentando as chances de se ter um panorama das leveduras emergentes, bem como de se estabelecer alterações nos procedimentos de identificação e de tratamento. Os pesquisadores entendem a importância do consentimento individualizado dos pacientes, por isso solicitam a assinatura do Termo de Consentimento e Livre Esclarecido de forma que seja possível obter as amostras clínicas necessárias para o desenvolvimento desta pesquisa e preservar os pacientes.

A pesquisadora responsável pela pesquisa, bem como toda a equipe de pesquisadores se comprometem a resguardar a confidencialidade, sigilo, privacidade, proteção de imagem e a não estigmatização dos pacientes garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas inclusive em termos de autoestima de prestígio econômico ou financeiro. Nenhum paciente será identificado em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Todo o projeto será

desenvolvido segundo as normas e leis que regem o uso de material animal e humano, segundo critérios da resolução Nº 466 (12 DE DEZEMBRO DE 2012) do Conselho Nacional de Saúde e suas normas e resoluções complementares.

5.2 ISOLAMENTO DAS LEVEDURAS E MACROMORFOLOGIA

Inicialmente essas amostras biológicas foram analisadas nos laboratórios de Análises Clínicas dos hospitais coparticipantes Eduardo de Menezes e Julia Kubitschek, que utilizaram a metodologia de semeadura no CHROMagar *Candida*®, sendo então liberados resultados conforme apresentação da coloração presuntiva das colônias. Após esta avaliação, estas amostras foram repicadas para outro tubo e encaminhadas para o laboratório de Taxonomia, Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos no ICB – UFMG.

No laboratório de Taxonomia, Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos as amostras foram repicadas imediatamente em uma placa de Petri, contendo o meio CHROMagar *Candida*® (Difco). As amostras inoculadas foram então incubadas em estufas microbiológicas a 37 °C por até 5 dias. Após incubação estas placas foram analisadas quanto à pureza das amostras e caso demonstrassem conter mais de um isolado de leveduras estas eram re-isoladas em CHROMagar *Candida*®. As colônias foram analisadas quanto aos seus aspectos macromorfológicos como coloração, bordas, tamanho, entre outros (ODDS e BERNAERTS, 1994).

As colônias foram separadas em grupos conforme a sua coloração em CHROMagar *Candida*®. Segundo o fabricante as colônias de cor verde, são presuntivas para *C. albicans*; azul, provável *C. tropicalis*; roxas, aspecto seco e rugoso de bordas mais claras, provável *C. krusei*. Também foram agrupadas as que apresentaram outras cores, como a cor creme.

Na (Tabela 7) demonstramos a coloração presuntiva do CHROMagar *Candida*® indicado pelo fabricante, juntamente com a identificação presuntiva e com a macromorfologia das as colônias.

As colônias re-isoladas no laboratório de Taxonomia, Biodiversidade e Biotecnologia e Fungos receberam um novo código de identificação e foram

semeadas em ágar Sabouraud dextrosado com 5% de cloranfenicol - Sigma-USA, para aumentar a biomassa, estes isolados foram criopreservados conforme descrito a seguir.

Para a criopreservação das leveduras, cada colônia foi inoculada em tubo de ensaio contendo 3 mL de caldo de enriquecimento GYMP e incubados por 24-72 horas a 37°C. Transcorrido esse período, 850 µl de cada amostra foi transferida para tubos criogênicos estéreis onde foram adicionados 150 µl de glicerol estéril. Os criotubos foram estocados em freezer a -20°C por três horas e posteriormente transferidos para ultrafreezer a -80°C, onde se encontram as coleções do laboratório.

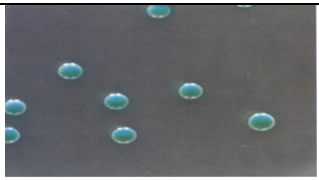
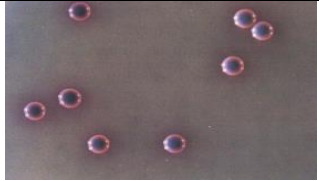

Cores presuntivas utilizando o meio CHROMagar <i>Candida</i> ®			
CHROMagar <i>Candida</i> ® (cor presuntiva)	CHROMagar <i>Candida</i> ® (identificação presuntiva)	Aspectos das colônias	Colônia com coloração presuntiva
Verdes	<i>Candida albicans</i>	Cor verde e bordas mais claras. (48horas, por 37°C)	
Azuis	<i>Candida tropicalis</i>	Cor azul e bordas mais claras. (48horas, por 37°C)	
Roxas	<i>Candida krusei</i>	Roxas, colônias grandes, ásperas, bordas amplas e pálidas (48horas, por 37°C)	

Tabela 7: Demonstrativo das cores presuntivas utilizando o meio CHROMagar *Candida*®. (ODDS e BERNAERTS, 1994; BD CHROMagar Orientation Medium, 2019).

5.3 IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR

5.3.1 EXTRAÇÃO DO DNA TOTAL

A extração do DNA total foi realizada conforme o trabalho descrito por Ferrer e colaboradores (2001), utilizando a extração de DNA com Clorofórmio: Álcool Isoamílico.

Os isolados foram ressuspensos em 100 µl de tampão de lise Tris – HCl 0,05M, EDTA 0,005M, NaCl 0 e SDS1% ; homogeneizados incubados a 65°C por 30 minutos, adicionou-se 200 µl clorofórmio: álcool isoamílico (24:1), em seguida homogeneizados, por inversão (20x), centrifugados a 14000rpm por 15 minutos, retirou-se o sobrenadante (aproximadamente 100 µl) e transferido para um novo eppendorf. Foram adicionados ao sobrenadante isopropanol v/v (aproximadamente 100 µl), os isolados foram homogeneizados por inversão (20x) e colocados a temperatura ambiente por 15 minutos. Após este período, as amostras foram centrifugadas 1400 rpm por 10 minutos em seguida descartados os sobrenadantes. Adicionou-se 200mL de etanol 70% gelado; homogeneizado por inversão (20x). Centrifugou-se a 1400 rpm por 10 minutos. Repetiu a adição do etanol 70% gelado e a centrifugação por 10 minutos a 1400rpm. Foi retirado o etanol e os isolados ficaram overnight - durante período noturno, para secagem em temperatura ambiente. No dia seguinte o pellet de DNA foi ressuspensado com 50 µl de tampão TE pH 8 pra hidratação no período de 30 minutos (FERRER et al., 2001).

Após este processo os isolados foram dosados no aparelho NanoDrop ND 1000 - Thermo fisher, para verificação da integridade e pureza do DNA dos isolados, variando a concentração adequada de DNA entre 50 e 200 ng / µl para ter um bom rendimento dos produtos de PCR (AL-TEKREETI et al., 2018)

Foram realizadas a identificação presuntiva utilizando o meio CHROMágar *Candida*®.

5.3.2 OLIGONUCLEOTÍDEO (GTG)₅

Foram usadas amostras ATCC para comparação como *C. albicans* (ATCC 18804), *C. glabrata* (ATCC 2001), *C. tropicalis* (ATCC 750), *C parapsilosis* (ATCC 22019) e *C. krusei* (ATCC 20298).

Para a realização do método de oligonucleótido (GTG)₅ nos quais segundo VERSALOVIC et al., 1994 designam sequências repetidas intercaladas concedendo a amplificação de fragmentos de DNA de tamanhos distintos (WIID et al., 1994). Os isolados foram inicialmente agrupados conforme cores presuntivas apresentadas no padrão do meio CHROMagar *Candida*® como descrito anteriormente. Para reações de PCR foram utilizados oligonucleótido sintético (GTG)₅, nos quais foram utilizadas os isolados agrupados conforme a coloração a partir do resultado presuntivo do CHROMagar *Candida*®, observando orientações conforme fabricante. Para o procedimento de PCR foram utilizados 1,0µl de DNA para cada análise. Usou-se também 16,8µl de água bidestilada, 2,5µl de tampão(10x), 1,5µl de MgCl₂, 1,0µl de dNTP, 2,0µl de (GTG)₅, 0,2µl de Taqman, Após este procedimento esses isolados foram incubados no termociclador, onde, os ciclos consistem inicialmente em uma desnaturação a 94°C, por 2 minutos, seguidos de 40 ciclos de desnaturação a 93°C por 45 segundos, anelamento a 50°C por 2 minutos e extensão a 72°C por um minuto, a extensão final a 72°C por 6 minutos. (KURTZMAN e ROBNETT, 1998). Os produtos do PCR foram revelados através do gel de agarose a 1,5%, observando acima de 80% de semelhança das bandas dos isolados com relação ao controle padrão de *Candida albicans*. Os isolados, cuja bandas foram semelhantes, também foram consideradas como pertencentes à mesma espécie (SILVA-FILHO et al., 2005; SILVA-BEDOYA, RAMÍREZ-CASTRILLON e OSORIO-CADAVID, 2014). Para revelação e obtenção deste resultado foi utilizado gel de agarose a 1,5% preparado com 1,5g de agarose em 100mL de TBE 0,5X novo e revelado com gel Red (KURTZMAN e ROBNETT, 1998).

Os isolados não agrupados na metodologia de oligonucleotídeo (GTG)₅, foram purificados o seu produto de PCR anteriormente ao processo de sequenciamento. Utilizou-se 47µl de produto de PCR (amplicon), 11,75µl de EDTA 125mM, 141µl de etanol absoluto. Após adição dos componentes, estes foram homogeneizados por inversão (20x), deixados em temperatura ambiente por 15 minutos para precipitação do DNA; Centrifugou-se a 14000rpm por 25 minutos à temperatura ambiente, retirou-se cuidadosamente o sobrenadante; adicionou-se 120µl de etanol 70% gelado para lavar o sedimento. Homogeneizou-se por inversão (20x); centrifugou-se a 14000rpm por 10m minutos à temperatura ambiente; descartou-se o sobrenadante; em seguida deixou-se o etanol em processo de evaporação em overnight – período noturno. No dia seguinte foram esses produtos

de PCR ressuspensos com 10µL de água ultrapura e hidratadas por 30 minutos a 37°C (KURTZMAN e ROBNETT, 1998). Após este processo, esses produtos de PCR foram novamente dosados no NanoDrop ND 1000 - Thermofisher para verificação de sua pureza e integridade, e posteriormente encaminhados para sequenciamento.

5.3.3 SEQUENCIAMENTO DA REGIÃO D1/D2 DA SUBUNIDADE MAIOR DO DNA

Para a reação de PCR dos isolados não agrupados no (GTG)₅ com as amostras referência foram utilizados os iniciadores NL-1 (5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3') e NL-4 (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3') conforme descrito por VAZ et al., 2009. Utilizou-se também o primer ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') conforme descrito por VAZ et al., 2009. Tanto na realização do PCR NL1/NL4, como no PCR ITS1/NL4 foram adicionadas a cada 1,0mL dos isolados, 35,8mL de água ultrapura, 5,0mL de tampão (TP), 2,0µL de MgCl₂, 2,0µL de dNTP, 1,0µL de NL1 e 1,0µL de NL4, 0,2µL de taqman, 1,0µL de Betaína, 1,0µL de DMSO. Após este procedimento foram incubados no termociclador por um período de três horas.

O produto de PCR obtido foi dosado em aparelho NanoDrop ND 1000 - Thermo fisher. As reações de sequenciamento foram realizadas usando o kit DYEnamic™ (Amersham Biosciences, USA) em combinação com o sistema de sequenciamento automatizado MegaBACE™ 1000. Para os isolados que não se agruparam no (GTG)₅, foram utilizados o método de PCR NL1/NL4 e PCR ITS1/NL4. O sequenciamento realizou-se no Laboratório da FIOCRUZ. Posteriormente as sequências de DNA obtidas foram analisadas utilizando o programa BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool - versão 2.215 do BLAST 2.0) disponível no portal NCBI desenvolvido pelo National Center For Biothecnology.

5.4 USO DE FONTES SECUNDÁRIAS DE DADOS

Realizou-se um levantamento das infecções por leveduras com base em análises de fichas laboratoriais de participantes com suspeita de infecção por leveduras. A consulta às fichas foi feita com supervisão da equipe dos Laboratórios colaboradores. De cada participante foram analisadas apenas as fichas de exames

relativos ao diagnóstico de infecções por leveduras. Também foram confrontados os dados anotados anteriormente citados, desde que disponíveis. Além de dados de uso de medicamentos e de doenças de base como diabetes, SIDA e fibrose cística.

Os dados das fichas laboratoriais dos participantes usados para a tabulação criou-se novas fichas, contendo informações dos participantes e não mais o nome do participante, de forma a preservar a identidade dos participantes. Todos os participantes foram identificados por um sistema de código, formado por números e letras indicando o número do participante e origem do material, como exemplificado: HEM- 01 (HE= Hospital Eduardo de Menezes; 01= participante 01).

5.5 RISCOS

As amostras das culturas das leveduras utilizadas neste estudo foram obtidas de pacientes que tiverem solicitação de diagnóstico laboratorial para infecções fúngicas por leveduras. Estas amostras coletadas para o exame solicitado são apenas a cultura positiva para levedura foi encaminhada aos pesquisadores desta proposta para outras análises. As amostras clínicas (sangue, secreções) foram coletadas segundo os procedimentos de rotina dos laboratórios coparticipantes, que contam com pessoal técnico especializado e estrutura própria para tais procedimentos. A pesquisadora responsável pela pesquisa, bem como toda a equipe de pesquisadores se comprometeram a resguardar a confidencialidade, sigilo, privacidade, proteção de imagem e a não estigmatização dos pacientes garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas inclusive em termos de autoestima de prestígio econômico ou financeiro. Nenhum paciente foi ou será identificado em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Todo o projeto será desenvolvido segundo as normas e leis que regem o uso de material humano em pesquisa.

5.6 BENEFÍCIOS

Como benefício às instituições obtiveram dados epidemiológicos das principais leveduras causadoras de micoses sistêmicas nos hospitais, sem gastos por parte das instituições.

5.7 METODOLOGIA DE ANÁLISE DOS DADOS

Os prontuários e fichas laboratoriais foram revisados com o auxílio de uma tabela padronizada para a coleta de informações sobre epidemiologia, clínica e abordagem diagnóstica e terapêutica relacionados com o achado microbiológico. Onde foram anotados dados, desde que disponíveis, idade, sexo, cidade de origem, profissão, amostra biológica, carga viral, evolução para óbito, data do óbito, doença de base tratamento, e informações adicionais: doenças de base como diabetes, SIDA e fibrose cística e fatores predisponentes. Doenças de base foram definidas como moléstias e condições que motivaram a internação dos pacientes, e como fator predisponente qualquer procedimento diagnóstico ou terapêutico e complicações surgidas durante a hospitalização. Os pacientes foram divididos em diversos grupos conforme a doença de base, sexo, local de internação, material de onde foi isolada a levedura (sangue, urina, cateter, escarro, líquor).

Os resultados de identificação das leveduras realizados por biologia molecular (foram realizados no presente projeto) foram confrontados com os resultados de identificação das leveduras pelos laboratórios do setor de microbiologia dos laboratórios de Análises Clínicas dos hospitais. Para isto foram tabulados os dados de identificação das fichas laboratoriais dos hospitais envolvidos.

Para a análise dos dados obtidos foram feitos testes estatísticos específicos, como por exemplo, o Quiquadrado, com o objetivo de comparar as frequências com que foram isoladas as diferentes espécies de leveduras em relação ao estado imunológico dos pacientes e as outras variantes clínicas.

5.7.1 DESFECHO PRIMÁRIO

O desfecho primário foi obter as amostras e ter a identificação de todos os isolados junto com o histórico de cada paciente. Estas amostras foram identificadas logo que foram cedidas pelo laboratório para termos os dados de identificação.

5.7.2 DESFECHO SECUNDÁRIO

No desfecho secundário analisamos todos os dados dos pacientes e relacionar com as leveduras identificadas. As análises estatísticas nos auxiliaram

neste momento de forma a obtermos dados epidemiológicos das leveduras que acometem determinados grupos de pacientes. Além da capacitação e treinamento de recursos humanos, no que se refere a mestres, doutores e/ou pós-doutores. Divulgação de resultados em congressos nacionais e/ou internacionais, bem como da publicação de artigos científicos.

6 RESULTADOS

As amostras de leveduras, estudadas no presente trabalho, foram isoladas nos laboratórios de microbiologia dos hospitais participantes desta pesquisa a partir de amostras clínicas. Para realização das análises foram coletadas nos hospitais colaboradores as seguintes amostras biológicas em sua maioria, escarro (39,03%), seguido de aspirado traqueal (23,72%), urina (22,03%), sangue (5,08%) e os demais lavados brônquio alveolar, minibal, swab retal, ponta de cateter, fezes, escarro, swab oral aspirado de medula óssea, dentre outros (1,69%).







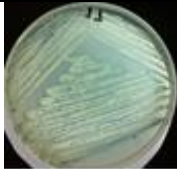
No presente estudo foram obtidas, dos hospitais colaboradores Eduardo de Menezes e Julia Kubitschek, um total de 129 amostras de leveduras. Após o reisolamento no laboratório de Taxonomia Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos, ICB, UFMG obteve-se um total de 155 isolados diferentes de leveduras. Das amostras enviadas ao laboratório de Taxonomia Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos, algumas amostras apresentaram colônias mistas (Tabela 8).





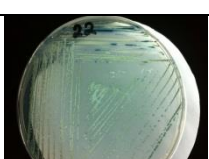

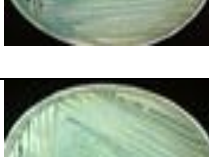

Colônias mistas em CHROMagar Candida®	
UFMGCB 40 LFG 38532/1 HEM	UFMGCB 80 LFG 827/4 HEM
UFMGCB 40 LFG 38532/3 HEM	UFMGCB 90 LFG 14355/1 HEM
UFMGCB 43 LFG 37608/1 HEM	UFMGCB 90 LFG 14355/2 HEM
UFMGCB 43 LFG 37608/3 HEM	UFMGCB 95 LFG 14303/1 HEM
UFMGCB 46 LFG 39608/1 HEM	UFMGCB 95 LFG 14303/2 HEM
UFMGCB 46 LFG 39608/2 HEM	UFMGCB 96 LFG 14059/1 HEM

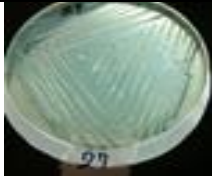




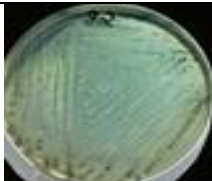


UFMGCB 51 LFG 45549/1 HEM	UFMGCB 96 LFG 14059/2 HEM
UFMGCB 51 LFG 45549/3 HEM	UFMGCB 102 LFG 19902/1 HEM
UFMGCB 51 LFG 45549/4 HEM	UFMGCB 102 LFG 19902/2 HEM
UFMGCB 69 LFG 57203/1 HEM	UFMGCB 106 LFG 25820/1 HEM
UFMGCB 69 LFG 57203/2 HEM	UFMGCB 106 LFG 25820/2 HEM
UFMGCB 80 LFG 827/1 HEM	UFMGCB 107 LFG 26062/1 HEM
UFMGCB 80 LFG 827/3 HEM	UFMGCB 107 LFG 26062/2 HEM
UFMGCB 1 LFG 11112/2 HJK	UFMGCB 8 LFG 10096/4 HJK
UFMGCB 1 LFG 11112/3 HJK	UFMGCB 8 LFG 10096/8 HJK
UFMGCB 3 LFG 10221/1 HJK	UFMGCB 8 LFG 10096/9 HJK
UFMGCB 3 LFG 10221/3 HJK	UFMGCB 8 LFG 10096/10 HJK
UFMGCB 4 LFG 10599/2 HJK	UFMGCB 8 LFG 10096/11 HJK
UFMGCB 4 LFG 10599/3 HJK	UFMGCB 10 LFG 10114/1 HJK
UFMGCB 7 LFG 10518/1 HJK	UFMGCB 10 LFG 10114/3 HJK
UFMGCB 7 LFG 10518/3 HJK	UFMGCB 11 LFG 15171/1 HJK
UFMGCB 8 LFG 10096/2 HJK	UFMGCB 11 LFG 15171/2 HJK



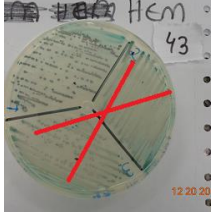


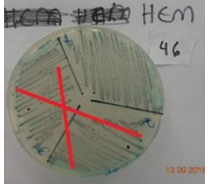
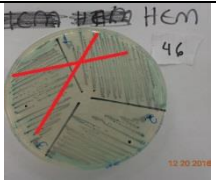
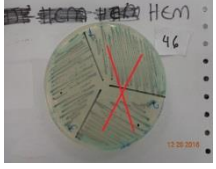
Tabela 8: Isolados cujas amostras apresentação colônias mistas no meio CHROMagar Candida®








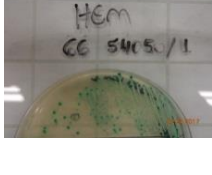

Os isolados de leveduras foram inicialmente agrupados conforme a coloração de suas colônias após repique em meio CHROMagar Candida®. Desta forma obtemos os seguintes grupos: grupo verde (Tabela 9); grupo rosa, (Tabela 10); grupo azul (Tabela 11) e grupo de colônias com coloração creme (Tabela 12). Além das colorações, também foram observadas as características macroscópicas de cada colônia, como pode ser observado nas tabelas abaixo.


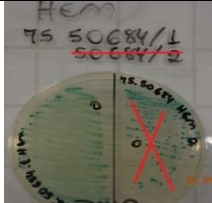
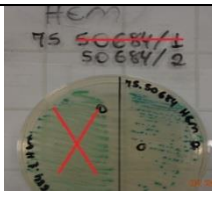




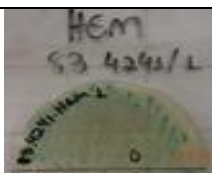
AMOSTRAS EM PLACAS COM MEIO CHROMagar Candida® COM COLÔNIAS COR VERDE – HEM e HJK			
Código	Morfotipo das colônias	Colônias	Identificação presuntiva
UFMGCB 01 LFG 24166 HEM	Cor verde com tom acizentado, côncava, colônias opacas, lisas.		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 02 LFG 24389 HEM	Cor verde com tom acizentado mais escuro, côncava, colônias opacas, lisas.		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 03 LFG 26192 HEM	Colônias cor verde com tom acizentado, lisas, opacas.		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 08 LFG 28158 HEM	Colônias cor verde com tom acizentado, lisas, opacas.		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 09 30304 HEM	Colônias verdes, opacas, lisas.		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 10 LFG 30286 HEM	Colônias cor verde com tom acizentado, lisas, opacas.		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 11 LFG 30701 HEM	Colônias verdes acizentado, opacas, lisas.		<i>C. albicans</i>



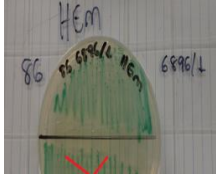


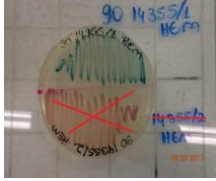
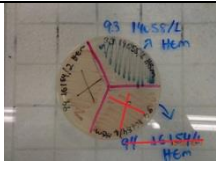
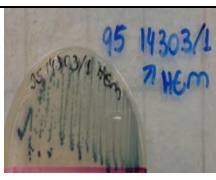
UFMGCB 14 LFG 30941 HEM	Colônias verdes com tons acizentado, opacas, lisas,		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 18 LFG 31558 HEM	Colônias verdes com tons acizentado, opacas, lisas, borda regular.		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 19 LFG 32092 HEM	Colônias verdes com bordas verdes mais escuros, opacas, lisas.		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 21 LFG 32846 HEM	Colônias verdes e com bordas tons de cinza, opacas, lisas.		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 22 LFG 32899 HEM	Colônias verdes com bordas verdes e com bordas tons de cinza mais escuros, opacas, lisas.		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 24 LFG 34671 HEM	Colônias verdes, opacas, lisas.		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 25 LFG 34887 HEM	Colônias verdes, opacas, lisas.		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 26 LFG 34689 HEM	Cor verde com tom acizentado mais escuro, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>





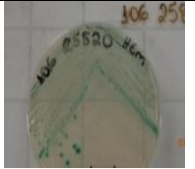



UFMGCB 27 LFG 34989 HEM	Colônias verdes, opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 28 LFG 35200 HEM	Cor verde com tom acizentado, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 29 LFG 35168 HEM	Cor verde com tom acizentado, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 30 LFG 36544 HEM	Cor verde com tom esverdeado nas bordas, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 31 LFG 39429 HEM	Cor verde com tom acizentado, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 32 LFG 40785 HEM	Cor verde com tom acizentado mais escuro , colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 34 LFG 40830 HEM	Cor verde com tom acizentado, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 38 LFG 36907-1 HEM	Cor verde com tom mais esverdeado nas bordas, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>



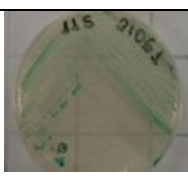


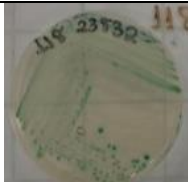


UFMGCB 39 LFG 37257-1 HEM	Cor verde com tom mais esverdeado nas bordas, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 40 LFG 38532-1 HEM	Cor verde com tom mais esverdeado nas bordas, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 43 LFG 37608-1 HEM	Cor verde com tom acizentado mais escuro, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 43 LFG 37608-3 HEM	Cor verde com tom acizentado, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 45 LFG 39135-1 HEM	Cor verde com tom esverdeado nas bordas, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 46 LFG 39608-1 HEM	Cor verde com tom acizentado mais escuro, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 46 LFG 39608-2 HEM	Cor verde com tom acizentado, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 46 LFG 39608-3 HEM	Cor verde com tom acizentado, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>





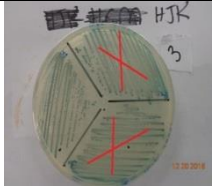


UFMGCB 47 LFG 49113-2 HEM	Colônias verdes mais escuras, lisa, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 48 LFG 44548-1 HEM	Colônias verdes mais escuras, lisa, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 49 LFG 45637-1 HEM	Colônias verdes com tons mais escuros, lisa, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 57 LFG 51064-1 HEM	Colônias verdes, lisa, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 58 LFG 42609-1 HEM	Colônias verdes mais escuras, lisa, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 60 LFG 51621-1 HEM	Colônias verdes com tons mais escuras nas bordas, lisa, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 61 LFG 50803-1 HEM	Colônias verdes com tons mais escuras nas bordas, lisa, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 66 LFG 54050-1 HEM	Colônias verdes com tons mais escuras nas bordas, lisa, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 73 LFG 50570-1 HEM	Colônias verdes com tons mais escuras nas bordas, lisa, opacas		<i>C. albicans</i>



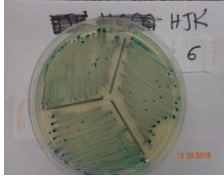



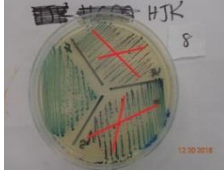

UFMGCB 74 LFG 50886 -1 HEM	Colônias verdes com tons mais verdes escuro nas bordas, lisa, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 75 LFG 50684-1 HEM	Colônias verdes com tons de verde mais escuro nas bordas, lisa, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 75 LFG 50684-2 HEM	Cor verde com tom acizentado, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 76 LFG 53721-1 HEM	Colônias verdes mais claras, lisa, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 80 LFG 827-3 HEM	Colônias verdes mais claras, com bordas verde mais escuro, lisa, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 81 LFG 920-3 HEM	Colônias verdes com bordas verde mais escuro, lisa, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 82 LFG 918-1 HEM	Colônias verdes mais claras, com bordas verde mais escuro, lisa, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 83 LFG 4241-1 HEM	Colônias verdes mais claras, com bordas verde mais escuro, lisa, opacas		<i>C. albicans</i>








UFMGCB 84 LFG 4245-2 HEM	Colônias verdes mais claras, com bordas verde mais escuro, lisa, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 85 LFG 4478-1 HEM	Colônias verdes, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 86 LFG 6896-1 HEM	Colônias verdes, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 87 LFG 9877-1 HEM	Colônias verdes mais claras, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 89 LFG 12150-1 HEM	Colônias verdes, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 90 LFG 14355-1 HEM	Colônias verdes mais claras, com bordas verde mais escuro, lisa, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 93 LFG14058-1 HEM	Cor verde com tom acizentado, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 95 LFG 14303-1 HEM	Cor verde com tom acizentado, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>

UFMGCB 97 LFG 6054-1 HEM	Cor verde com tom acizentado, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 98 LFG 7000-1 HEM	Cor verde com tom acizentado, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 99 LFG 9787-1 HEM	Cor verde com tom acizentado, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 101 LFG 19875-1 HEM	Cor verde com tom acizentado, bordas verde escuro colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 106 LFG 22399-1 HEM	Colônias verdes mais claras, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 109 LFG 12482 HEM	Colônias verdes mais claras, com bordas verde mais escuro, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 110 LFG 12842 HEM	Colônias verdes, com bordas verde mais escuro, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 111 LFG 31216 HEM	Colônias verdes, com bordas verde mais escuro, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>

UFMGCB 112 LFG 17677 HEM	Colônias verdes, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 114 LFG 18097 HEM	Colônias verdes, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 115 LFG 21061 HEM	Colônias verdes com bordas verdes escuro, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 116 LFG 23416 HEM	Colônias verdes com bordas verdes escuro, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 117 LFG 31928 HEM	Colônias verdes com bordas verdes escuro, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 118 LFG 23832 HEM	Colônias verdes, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 119 LFG 29579 HEM	Colônias verdes com bordas verdes escuro, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 120 LFG 24454 HEM	Colônias verdes com bordas verdes escuro, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>

UFMGCB 121 LFG 24829 HEM	Colônias verdes com bordas verdes, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 122 LFG 26022 HEM	Colônias verdes com bordas verdes com tons mais escuro, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 123 LFG 31848 HEM	Colônias verdes com bordas verdes com tons mais escuro, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>
AMOSTRAS EM PLACAS COM MEIO CHROMagar Candida® COM COLÔNIAS COR VERDE – HJK			
Código	Morfotipos das colônias	Colônias	Identificação presuntiva
UFMGCB 2 LFG 11640-1 HJK	Colônias verdes, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 3 LFG 10221-1 HJK	Cor verde com tom acizentado, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 3 LFG 10221-3 HJK	Cor verde com tom acizentado, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 4 LFG 10599-1 HJK	Colônias verdes, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>

UFMGCB 4 LFG 10599-2 HJK	Cor verde com tom acizentado, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 4 LFG 10599-3 HJK	Colônias verdes com bordas verdes com tons mais escuro, lisas, opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 6 LFG 13247-1 HJK	Cor verde com tom acizentado, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 7 LFG 10518-1 HJK	Colônias verdes, lisas, opacas, bordas esverdeadas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 7 LFG 10518-3 HJK	Cor verde com tom acizentado, colônias opacas, lisas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 8 LFG 10096-2 HJK	Acizentada no centro da colônia, borda irregular com tom de cinza claro e verde		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 8 LFG 10096-4 HJK	Cor verde escuro com borda cinza		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 8 LFG 10096-8 HJK	Cor verde no centro, com cinza escuro, com borda cinza clara		<i>C. albicans</i>

UFMGCB 8 LFG 10096-9 HJK	Verde escuro com pontos acizentados, borda irregular cinza, tamanho médio		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 8 LFG 10096-10 HJK	Borda verde clara com centro verde escuro, colônias pequenas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 8 LFG 10096-11 HJK	Verde com róseo acizentado, com borda cinza		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 10 LFG 10114-1 HJK	Verde escuro com borda verde claro		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 10 LFG 10114-3 HJK	Acizentada com borda verde escuro		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 15 LFG 1252-1 HJK	Colônias verdes, lisas, opacas, bordas regulares		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 17 LFG 1650-1 HJK	Colônias verde escuro, lisas e opacas		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 18 LFG 1755-1 HJK	Verde claro com borda verde escuro, lisa e opaca		<i>C. albicans</i>







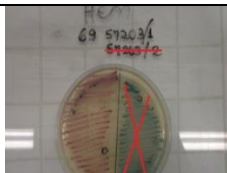








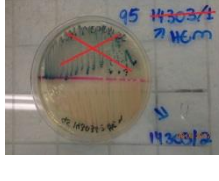
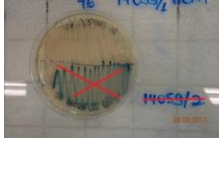
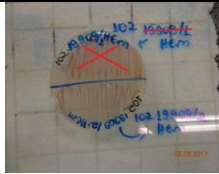

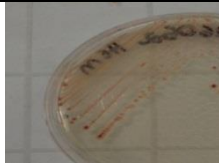



UFMGCB 20 LFG 1381-1 HJK	Verde claro, lisa, opaca, bordas regulares		<i>C. albicans</i>
UFMGCB 21 LFG 1413-1 HJK	Verde claro, lisa, opaca, bordas regulares		<i>C. albicans</i>

Tabela 9: Colônias de leveduras de coloração verde após repique no meio CHROMagar Candida® dos isolados provenientes dos hospitais colaboradores.

AMOSTRAS EM PLACAS COM MEIO CHROMagar Candida® COM COLÔNIAS COR ROSA – HEM e HJK			
Código	Morfotipo das colônias	Colônias	Identificação presuntiva
UFMGCB 16 LFG 31126 HEM	Róseo, opaca, lisa, borda regular com tons roxeado, cremosa.		Não identificado
UFMGCB 33 LFG 40711 HEM	Róseo, opaca, lisa, borda regular com tons rosa mais escuro		Não identificado
UFMGCB 35 LFG 39278-1 HEM	Róseo, opaca, lisa, borda regular com tons creme escuro, cremosa		Não identificado
UFMGCB 40 LFG 38532-3 HEM	Rosa, opaca, lisa, borda regular com tons creme mais claro		Não identificado

<p>UFMGCB 51 LFG 45549-3 HEM</p>	<p>Rosa, opaca, seca, borda regular</p>		<p>Não identificado</p>
<p>UFMGCB 52 LFG 48135-1 HEM</p>	<p>Róseo, opaca, lisa, borda regular com tons rosa mais escuro</p>		<p>Não identificado</p>
<p>UFMGCB 59 LFG 52705-1 HEM</p>	<p>Colônias cor roxa rugosa, seca, opaca, borda irregular branca</p>		<p><i>C. krusei</i></p>
<p>UFMGCB 68 LFG 56653-2 HEM</p>	<p>Colônias cor rosa claro rugosa, seca, opaca, borda irregular</p>		<p>Não identificado</p>
<p>UFMGCB 69 LFG 57203-1 HEM</p>	<p>Roxa, seca, opaca, borda regular cor branca</p>		<p><i>C. krusei</i></p>
<p>UFMGCB 70 LFG 53249-1 HEM</p>	<p>Rosa claro, lisa, opaca, borda regular com tons mais roxeados</p>		<p>Não identificado</p>
<p>UFMGCB 77 LFG 52-2 HEM</p>	<p>Rosa claro, lisa, opaca, borda regular com tons mais roxeados</p>		<p>Não identificado</p>

UFMGCB 78 LFG 126-1 HEM	Rosa escuro, cremosa, opaca, borda regular, com tons de lilás		Não identificado
UFMGCB 80 LFG 827-3 HEM	Rosa claro, lisa, opaca, borda regular com tons mais roxeados		Não identificado
UFMGCB 88 LFG 10778-1 HEM	Rosa claro, lisa, opaca, borda regular tom de lilás		Não identificado
UFMGCB 90 LFG 14355-2 HEM	Rosa, lisa, opaca, borda regular tom de lilás		Não identificado
UFMGCB 91 LFG 15706-2 HEM	Rosa, opaca, lisa, borda regular		Não identificado
UFMGCB 94 LFG 16154-1 HEM	Rosa claro, opaca, lisa, borda regular		Não identificado
UFMGCB 95 LFG 14303-2 HEM	Rosa clara, opaca, lisa, borda regular, cremosa		Não identificado
UFMGCB 96 LFG 14059-1 HEM	Rosa clara, opaca, lisa, borda regular, cremosa		Não identificado

UFMGCB 102 LFG 19902-2 HEM	Colônias cor rosa claro rugosa, seca, opaca, borda irregular		Não identificado
UFMGCB 104 LFG 19849 HEM	Colônias cor rosa claro rugosa, seca, opaca, borda irregular		Não identificado
UFMGCB 107 LFG 26062-1 HEM	Rosa, lisa, opaca, borda regular tom de lilás		Não identificado
AMOSTRAS EM PLACAS COM MEIO CHROMagar Candida® COM COLÔNIAS COR ROSA – HJK			
Código	Morfotipo das colônias	Colônias	Identificação presuntiva
UFMGCB 1 LFG 11112-2 HJK	Colônias cor roxa rugosa, seca, opaca, borda irregular com cor mais clara (branca)		<i>C.krusei</i>
UFMGCB 1 LFG 11112-3 HJK	Rosa, lisa, opaca, borda regular tom de lilás		Não identificado
UFMGCB 11 LFG 15171-1 HJK	Rosa, opaca, lisa, borda regular com tons creme mais claro		Não identificado







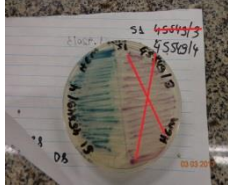
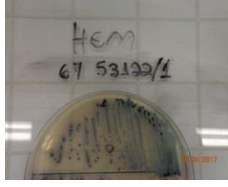
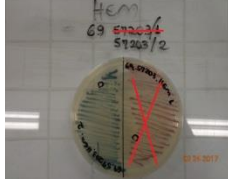


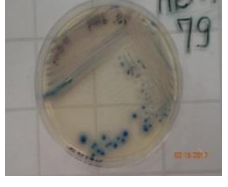
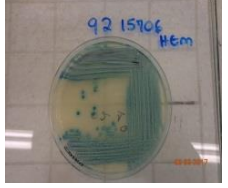

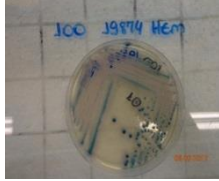



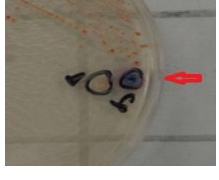




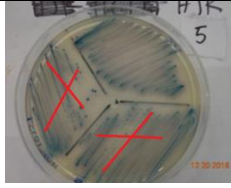

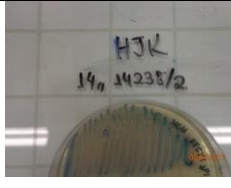
UFMGCB 11 LFG 15171-2 HJK	Rosa, opaca, lisa, borda regular		Não identificado
UFMGCB 16 LFG 1266-1 HJK	Colônias cor rosa claro rugosa, seca, opaca, borda irregular		Não identificado

Tabela 10: Colônias de leveduras de coloração rosa após repique no meio CHROMagar Candida® dos isolados provenientes dos hospitais colaboradores.

AMOSTRAS EM PLACAS COM MEIO CHROMagar Candida® COM COLÔNIAS COR AZUL – HEM e HJK			
Código	Morfotipo das colônias	Colônias	Identificação presuntiva
UFMGCB 06 LFG 27463 HEM	Colônias azuis com bordas azuis escuras, cremosa, regular, opaca		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 36 LFG 42241-1 HEM	Colônias azuis com bordas azuis mais escuras, cremosa, regular, opaca		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 50 LFG 47347-1 HEM	Colônias azuis escuras, cremosa, opaca, regular		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 51 LFG 45549-1 HEM	Colônias azuladas com tons na borda de azul mais escuro, cremosa, opaca, lisa		<i>C. tropicalis</i>

UFMGCB 51 LFG 45549-4 HEM	Colônias azuis com tons na borda de azul mais escuro, cremosa, opaca, lisa		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 67 LFG 53122-1 HEM	Colônias azuis mais escuras, cremosa, lisa, opaca, borda regular		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 69 LFG 57203-2 HEM	Colônias azuis, cremosa, lisa, borda regular, opaca		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 71 LFG 51841-2 HEM	Colônias azuis claro e escuro, borda regular, lisa, opaca, cremosa		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 72 LFG 15-1 HEM	Colônias azuis escuras, borda regular, lisa, opaca, cremosa		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 79 LFG 124-1 HEM	Colônias azuis claro com bordas azuis escuro, borda regular, cremosa, lisa, opaca		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 92 LFG 15706-1 HEM	Colônias azuis com tons verdes claro, cremosa, lisa, opaca, borda regular		<i>C. tropicalis</i>

UFMGCB 96 LFG 14059-2 HEM	Colônias azuis claro com bordas azuis escuro, borda regular, cremosa, lisa, opaca		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 100 LFG 19874-1 HEM	Colônias azuis claro e escuro, opaca, lisa, cremosa, borda regular		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 103 LFG 30645-1 HEM	Colônias azuis claras e escuras e com tom de cor creme, lisa, opaca, cremosa, borda regular		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 105 LFG 22399-2 HEM	Colônias azuis claro e escuro, opaca, lisa, cremosa, borda regular		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 106 LFG 22399-2 HEM	Colônias azuis claro, borda regular, cremosa, lisa, opaca		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 107 LFG 26062-2 HEM	Colônia azul escuro, opaca, lisa, cremosa, borda regular		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 108 LFG 26377 HEM	Colônias azuis claro e escuro, opaca, lisa, cremosa, borda regular		<i>C. tropicalis</i>

UFMGCB 113 LFG 17715 HEM	Colônias azuis claro e escuro, com tons de creme, opaca, lisa, cremosa, borda regular		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 124 LFG 27134 HEM	Colônias azuis claro e escuro, lisa, opaca, cremosa, borda regular		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 125 LFG 31905 HEM	Colônias azuis claro e escuro, lisa, opaca, cremosa, borda regular		<i>C. tropicalis</i>
AMOSTRAS EM PLACAS COM MEIO CHROMagar Candida® COM COLÔNIAS COR AZUL – HJK			
Código	Morfotipo das colônias	Colônias	Identificação presuntiva
UFMGCB 5 LFG 10157-1 HJK	Colônias azuis claro com bordas azul escuro, lisa, opaca, cremosa, borda regular		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 12 LFG 14352-2 HJK	Colônias azuis claro com bordas azul escuro, lisa, opaca, cremosa, borda regular		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 14 LFG 14238-2 HJK	Colônias azuis claro e escuro, lisa, opaca, cremosa, borda regular		<i>C. tropicalis</i>




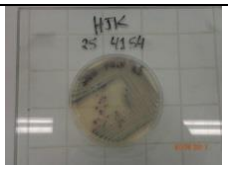
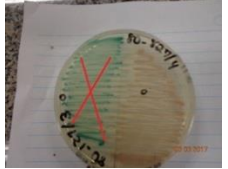
UFMGCB 19 LFG 1337-1 HJK	Colônias azuis claro e escuro, lisa, opaca, cremosa, borda regular		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 23 LFG 3408-1 HJK	Colônias azuis claro e escuro, lisa, opaca, cremosa, borda regular		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 24 LFG 4138-1 HJK	Colônias azuis claro e escuro, cremosa, opaca, lisa, borda regular		<i>C. tropicalis</i>
UFMGCB 25 LFG 4154-1 HJK	Colônias azuis claro e escuro, opaca, cremosa, lisa, borda regular		<i>C. tropicalis</i>

Tabela 11: Colônias de leveduras de coloração azul após repique no meio CHROMagar Candida® dos isolados provenientes dos hospitais colaboradores.

AMOSTRAS EM PLACAS COM MEIO CHROMagar Candida® COM COLÔNIAS COR CREME – HEM e HJK			
Código	Morfotipo das colônias	Colônias	Identificação presuntiva
UFMGCB 80 LFG 827-4 HEM	Colônias creme, lisas, aspecto cremoso, borda regular, opacas		Não identificado

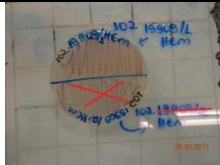

UFMGCB 102 LFG 19902-1 HEM	Colônias creme, lisas, aspecto cremoso, opacas, borda regular,		Não identificado
AMOSTRAS EM PLACAS COM MEIO CHROMagar Candida® COM COLÔNIAS COR CREME – HJK			
Código	Morfotipo das colônias	Colônias	Identificação presuntiva
UFMGCB 13 LFG 15505-1 HJK	Colônias creme, opacas, lisas, aspecto cremoso, borda regular,		Não identificado

Tabela 12: Colônias de leveduras de coloração creme após repique no meio CHROMagar Candida® dos isolados provenientes dos hospitais colaboradores.

Podemos observar, após análise das características macroscópicas das colônias em meio CHROMagar Candida®, que obtivemos 97 colônias de coloração verde. Conforme proposto pelos fabricantes deste meio de cultura, todas as colônias de coloração verde podem ter sua identificação presuntiva para a espécie *C. albicans*. Além disto, obtemos 28 colônias de coloração azul, estas leveduras, conforme o fabricante do meio de cultura utilizado são presuntivas para a espécie *C. tropicalis*. O meio de cultura CHROMagar Candida® também prevê um resultado presuntivo para *C. krusei*, que seriam as colônias roxas com bordas brancas e aspecto mais rugoso e seco, quanto a esta coloração e aspecto obtemos 02 isolados. Para as leveduras que produziram outras cores de colônias não foi possível chegar a uma identificação presuntiva utilizando o CHROMagar Candida®.

Posteriormente, os isolados de leveduras com colônias de coloração verde foram agrupados para a realização da técnica de fingerprinting utilizando para isto o iniciador (GTG)5. Neste grupo um levedura para controle positivo, da espécie *C. albicans* (ATCC 18804), foi adicionada para confirmar a identificação presuntiva do meio CHROMagar Candida®.

Na (Tabela 13), pode-se observar os isolados que apresentaram padrão de banda semelhante ao isolado de referência *C. albicans* ATCC 18804 na técnica de fingerprinting. Estes isolados foram identificados como pertencentes à espécie *C. albicans*. No entanto, na (Tabela 14) observamos isolados cujas bandas foram diferentes do isolado de referência.

Na tabela (Tabela 15) podem-se observar os resultados de identificação realizados no presente trabalho utilizando o sequenciamento molecular dos isolados.

Para os isolados de leveduras é demonstrado na (Tabela 16), a identificação utilizando o método CHROmagar Candida®, a técnica de fingerprinting (GTG)5 e o sequenciamento molecular da região D1/D2 e/ou ITS.

Bandas similares a levedura de referência <i>C. albicans</i>	
UFMGCB 30 LFG 36544 HEM	UFMGCB 85 LFG 4478/1 HEM
UFMGCB 43 LFG 37608/1 HEM	UFMGCB 86 LFG 6896/1 HEM
UFMGCB 43 LFG 37608/3 HEM	UFMGCB 89 LFG 12150/1 HEM
UFMGCB 10 LFG 30286 HEM	UFMGCB 97 LFG 6054/1 HEM
UFMGCB 38 LFG 36907/1 HEM	UFMGCB 98 LFG 7000/1 HEM
UFMGCB 46 LFG 39608/1 HEM	UFMGCB 99 LFG 9787/1 HEM
UFMGCB 46 LFG 39608/2 HEM	UFMGCB 101 LFG 19875/1 HEM
UFMGCB 47 LFG 49113/2 HEM	UFMGCB 109 LFG 12482 HEM
UFMGCB 49 LFG 45637/1 HEM	UFMGCB 110 LFG 12842 HEM
UFMGCB 57 LFG 51064/1 HEM	UFMGCB 111 LFG 31216 HEM
UFMGCB 60 LFG 51621/1 HEM	UFMGCB 112 LFG 17677 HEM
UFMGCB 61 LFG 50803/1 HEM	UFMGCB 117 LFG 31928 HEM
UFMGCB 66 LFG 54050/1 HEM	UFMGCB 120 LFG 24454 HEM
UFMGCB 73 LFG 50570/1 HEM	UFMGCB 123 LFG 31848 HEM
UFMGCB 74 LFG 50886/1 HEM	UFMGCB 15 LFG 1252/1 HJK

UFMGCB 75 LFG 50684/1 HEM	UFMGCB 17 LFG 1650/1 HJK
UFMGCB 75 LFG 50684/2 HEM	UFMGCB 4 LFG 10599/2 HJK
UFMGCB 81 LFG 820/3 HEM	UFMGCB 18 LFG 1755/1 HJK
UFMGCB 82 LFG 918/1 HEM	UFMGCB 20 LFG 1381/1 HJK
UFMGCB 84 LFG 4245/2 HEM	

Tabela13: Gel de eletroforese em agarose apresentando as bandas de amplificação do DNA dos isolados usando primer (GTG)5, Gel 1.

Bandas não similares a levedura de referência <i>C. albicans</i>	
UFMGCB 02 LFG 24389 HEM	UFMGCB 8 LFG 10096/8 HJK
UFMGCB 28 LFG 35200 HEM	UFMGCB 8 LFG 10096/9 HJK
UFMGCB 22 LFG 32899 HEM	UFMGCB 8 LFG 10096/10 HJK
UFMGCB 03 LFG 26192 HEM	UFMGCB 10 LFG 10114/1 HJK
UFMGCB 18 LFG 31558 HEM	UFMGCB 87 LFG 9877/1 HEM
UFMGCB 48 LFG 44548/1 HEM	UFMGCB 90 LFG 14355/1 HEM
UFMGCB 58 LFG 42609/1 HEM	UFMGCB 92 LFG 15706/1 HEM
UFMGCB 76 LFG 53721/1 HEM	UFMGCB 93 LFG 14058/1 HEM
UFMGCB 01 LFG 24166 HEM	UFMGCB 105 LFG 22399/2 HEM
UFMGCB 11 LFG 30701 HEM	UFMGCB 106 LFG 25820/1 HEM
UFMGCB 14 LFG 30951 HEM	UFMGCB 106 LFG 25820/2 HEM
UFMGCB 24 LFG 34671 HEM	UFMGCB 118 LFG 23832 HEM
UFMGCB 27 LFG 34989 HEM	UFMGCB 119 LFG 29579 HEM
UFMGCB 40 LFG 38532/1 HEM	UFMGCB 121 LFG 24829 HEM
UFMGCB 83 LFG 4241/1 HEM	UFMGCB 122 LFG 26022 HEM
UFMGCB 3 LFG 10221/3 HJK	UFMGCB 2 LFG 11640/1 HJK
UFMGCB 8 LFG 10096/4 HJK	UFMGCB 21 LFG 1413/1 HJK

Tabela 14: Gel de eletroforese em agarose apresentando as bandas de amplificação do DNA dos isolados usando primer (GTG)5, Gel 2.

Resultado dos sequenciamentos e análises da plataforma Blast

Cód.	Resultado Top BLAST (n° de acc GenBank)	Identidade (%)	Cobertura (%)	N° de análises	Sequências	Identificação proposta
UFMG CB 8 LFG 28158 HEM	<i>Candida albicans</i> NG054826	99	100	500	CGGCAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGC GTCTTTGGCGTCCGCGTTGTAATTTGAA GAAGGTATCTTTGGGCCCGGCTCTTG CTATGTTCCCTTGGAACAGGACGTCACAG AGGGTGAGAATCCCGTGCGATGAGATG ACCCGGGTCTGTGAAAGTTCCCTCGAC GAGTCGAGTTGTTGGGAATGCAGCTC TAAGTGGGTGTAATTCATCTAAAGC TAAATATTGGCGAGAGACCATAGCGA ACAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAG AACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACG TGAAATTGTTGAAAGGGAAGGCTTGA GATCAGACTTGGTATTTTGCATGTTGCT CTCTCGGGGGCGCCGCTGCGGTTTAC CGGGCCAGCATCGGTTTGGAGCGGGA GGATAATGGCGGAGGAATGTGGCAGCG CTTCTGCTGTGTTATAGCCTCTGACG ATACTGCCAGCCTAGACCGAGGACTGC GGTTTTT	<i>C. albicans</i>
UFMG CB 16 LFG 31116 HEM	<i>Candida glabrata</i> MF148859	100	100	458	CCTTGAACAGGACGTCATGGAGGGTG AGAATCCCGTGTGGCGAGGGTGCAGT TCTTTGTAAAGGGTGCCTGAAGAGTCCA GTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGG GTGGTAAATCCATCTAAAGCTAAATAC AGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTA CAGTGATGAAAAGATGAAAAGAACTTTG AAAAGAGAGTGAAAAGTACGTGAAATT GTTGAAAGGGAAGGGCAATTTGATCAGA CATGGTGTGTTTGGCCCTTGCCTCTCG TGGGCTTGGACTCTCGAGCTCACTG GGCCAGCATCGGTTTGGCGGCCGAA AAAACCTAGGGAATGTGGCTCTCGCC TCGGTGTAGAGTGTATAGCCCTGGGG AATACGGCCAGCCGGACCGAGGACTG CGATACTTGTATCTAGGATGCTGGCAT AATGGTTATATGCCGCCCGT	<i>C. glabrata</i>
UFMG CB 21 LFG 32846 HEM	<i>Candida dubliniensis</i> KY106420	100	100	540	GCAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGCGT CTTTGGCGTCCGAGTTGTAATTTGAAGA AGGTATCTTTGGGCCCGGCTCTTGCTA TGTTCCCTTGGAACAGGACGTCACAGAG GGTGAGAATCCCGTGCGATGAGATGGC CCGGGTCTATGTAAGTTCTTCGACGA GTCGAGTTGTTGGGAATGCAGCTCTAA GTGGGTGGTAAATTCATCTAAAGCTAA ATATTGGCGAGAGACCATAGCGAACA AGTACAGTGATGAAAAGATGAAAAGAAC TTTAAAAAGAGAGTGAAAAGTACGTGA AATTGTTGAAAGGGAAGGGCTTGAGAT CAGACTTGGTATTTTCAAGTTACTCTTT CGGGGTGGCTCTGCGGTTTACCGG GCCAGCATCGGTTTGGAGCGGTAGGAT AATGGCGGGGAATGTGGCAGCACTTT GGTTGTGTTATAGCCTCTGACGATAC TGCCAGCCTAGACCGAGGACTGCGGTT	<i>C. dubliniensis</i>

					TTTACCTAGGATGTTGGCATAATGATCT TAAGTCGCCCGTCTTG	
UFMG CB 33 LFG 40711 HEM	<i>Candida</i> <i>glabrata</i> KY106477	100	100	469	CCTTGGAACAGGACGTCATGGAGGGTGAGAATCC CGTGTGGCGAGGGTGTGAGTCTTTGTAAGGGT GCTCGAAGAGTCGAGTTGTTGGGAATGCAGCTC TAAGTGGGTGTAATTCATCTAAAGCTAAATA CAGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTG ATGGAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGT GAAAAGTACGTGAAATGTTGAAAGGGAAAGGG CATTGTAGCAGACATGGTGTGTTGCGCCCTTGC TCTCGTGGGCTTGGGACTCTCGCAGCTCACTGGG CCAGCATCGGTTTTGGCGCCGAAAAAACCTAG GGAATGTGGCTCTGCGCCTCGGTGTAGAGTGTTA TAGCCCTGGGAAATACGGCCAGCCGGGACCGAG GACTCGGATACTGTTATCTAGGATGCTGGCATAA TGTTATATGCGCCCGCTTGAACACG	<i>C. glabrata</i>
UFMG CB 35 LFG 39278 /1 HEM	<i>Kluyveromyces</i> <i>marxianus</i> KY108107	100	100	513	AAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGCGTCTTCGACGT CCGAGTTGTAATTTGAAGAAGGCGACTTTGTAGC TGGTCTTGTCTATGTTCTTGGAAACAGGACGTCA TAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCAGGATCCC AGTTATTTGTAAGTGCTTTCGACGAGTCGAGTTG TTGGGAATGCAGCTCAAGTGGGTGTTAAATTC CATCTAAAGCTAAATTTGGCGAGAGACCGATAG CGAACAACTACAGTATGGAAGAT GAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAGTAC GTGAAATTTGAAAGGGAAGGCAATTTGATCAG ACATGGCGTTTGTCTCGGCTTTCGCTGGCCAGCA TCAGTTTTAGCGTTGGATAAATCCTCGGAAATG GGCTCTGTTGAGTAGAGTGTATAGCCCGTGGG AATACGCCAGCTGGGACTGAGGATTGCGACTTT TGCAAGGATGCTGGCGTAATGGTAAATGCCGC CCGCTTGA	<i>K. marxianus</i>
UFMG CB 39 LFG 37257 /1 HEM	<i>Candida</i> <i>albicans</i> JN874492	100	100	536	GCAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGCGTCTTTGGC GTCCGAGTTGTAATTTGAAGAAGGTATCTTTGGG CCCGGCTTGTCTATGTTCTTGGAAACAGGACGT CACAGAGGGTGAGAATCCCGTGCATGAGATGA CCCGGGTCTGTGTAAGTTCCTCGCAGGATCGA GTTGTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGTTAA ATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGCCG ATAGCGAACAACTACAGTATGGAAGATGAAA AGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAGTACGTGA AATTGTTGAAAGGGAAGGGCTTGAAGTCAACT GGTATTTGCATGCTGCTCTCTCGGGGCGGCCG CTGCGTTTACCGGGCCAGCATCGTTTGGAGCG GCAGGATAATGGCGGAGGAATGTGGCACGGCTT CTGCTGTGTTATAGCCTCTGACGATGCTGCCAG CCTAGACCGAGGACTCGGTTTTAACTAGGAT GTTGCATAATGATCTTAAGTCGCCCG	<i>C. albicans</i>
UFMG CB 51 LFG 45543 /3 HEM	<i>Candida</i> <i>tropicalis</i> KY106850	100	100	347	TTGGAACAGAACGTCACAGAGGGTGAGAATCCC GTGCGATGAGATGATCCAGGCCTATGTAAGTTC CTTCGAAGAGTCGAGTTGTTGGGAATGCAGCTC TAAGTGGGTGTAATTCATCTAAAGCTAAATAT TGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGA TGGAAAAGATGAAAAGAATTTGAAAAGAGAGTG AAAAAGTACGTGAAATTTGAAAAGGGAAGGGC TTGAGATCAGACTTGGTATTTGTATGTTACTTCT CGGGGTGGCCTTACAGTTTATCGGGCCAGCAT CAGTTTGGGCGGTAGGAGAATTGCGTTGGAATGT GGCACGGC	<i>C. tropicalis</i>
UFMG CB 69 LFG 57203 /1	<i>Candida</i> <i>glabrata</i> KY106477	99	100	550	AGCGGCAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCT TTGGTGGCCAGTTGTAATTTGAGAGTACCACTT TGGGACTGTACTTTGCTATGTTCTTGGAAACAGG ACGTCATGGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAG GGTGTCACTTTTGAAGGGTGCTCGAAGAGT CGAGTGTGGGAATGAGCTCTAAGTGGGTGG TAAATTCATCTAAAGCTAAATACAGCGAGAGA CCGATAGCGAACAACTACAGTATGGAAGATG AAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAGTACGT GAAATTTGAAAAGGGAAGGGCATTGTATCAGAC ATGGTGTGTTGCGCCCTTGCCTCTGTTGGGCTT GGACTCTGCGAGCTCACTGGGCCAGCATCGGTTTT GGCGCCGAAAAAACCTAGGGAATGGGCTCT	<i>C. glabrata</i>

HEM					GCGCTCGGTGAGAGTGTATAGCCCTGGGG AATACGCCACCGGGGACCGAGGACTGCGATACT TGTTATCTAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCC GCCCCGTC	
UFMG CB 78 LFG 126/1 HEM	<i>Candida glabrata</i> KY106477	100	100	549	CGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGT ACCTTTGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGA GAGTACCACCTTTGGGACTGTACTTTGCC TATGTTCCCTTGGAACAGGACGTCATGGA GGGTGAGAAATCCCGTGTGGCGAGGT GTCAGTTCTTTGTAAGGGTGCCTGAAG AGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTA AGTGGGTGGTAAATTCATCTAAAGCTA AATACAGGCGAGAGACCGATAGCGAAC AAGTACAGTGTAGAAAGATGAAAAGAA CTTTGAAAAGAGAGTAAAAAGTACGTG AAATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTGAT CAGACATGGTGTTTTGCGCCCTTGCCT CTCGTGGCTTGGGACTCTCGCAGCTC ACTGGCCAGCATCGTTTGGCGGCCG GAAAAACCTAGGGAATGTGGCTCTGC GCTCGGTGTAGAGTGTATAGCCCTG GGGAAACGGCCAGCCGGACCGAGG ACTGCGATACTTGTATCTAGGATGCTG GCATAATGGTTATATGCCGCCGCTC	<i>C. glabrata</i>
UFMG CB 80 LFG 827/1 HEM	<i>Candida glabrata</i> KY106477	100	100	554	GAGCGGCAAAAGCTCAAA TTTGAATCTGGTACCTTTGGTGCCCGA GTTGTAATTTGGAGAGTACCACCTTTGGG ACTGTACTTTGCCTATGTTCCTTGGAAC AGGACGTCATGGAGGGTGAAGATCCCG TGTGGCGAGGGTGTCAAGTTCTTTGAAA GGGTGCTCGAAGAGTCCGAGTTGTTGG GAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAAT CCATCTAAAGCTAAATACAGGCAGAGA CCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGA AAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGT GAAAAGTACGTGAAATGTTGAAAGGG AAGGGCATTGATCAGACATGGTGT GCGCCCCCTTGCCTCTCGTGGCTTGGG ACTCTCGCAGCTCACTGGCCAGCATC GGTTTTGGCGGCCGAAAAACCTAGG GAATGTGGCTCTCGCCCTCGGTGTAGA GTGTTATAGCCCTGGGGAATACGGCCA GCCGGACCGAGGACTGCGATACTTGT ATCTAGGATGCTGGCATAATGGTTATAT GCCGCCGCTCTT	<i>C. glabrata</i>
UFMG CB 1 LFG 1112 /2 HJK	<i>Candida glabrata</i> KY928431	100	100	458	TGGAACAGGACGTCATGGAGGGTGAATCCC GTGTGGCGAGGGTGTCAAGTCTTTGTAAGGG TGCTCGAAGAGTCGAGTTCTTTGGGAATGCAG CTCTAAGTGGGTGGTAAATCCATCTAAGCT AAATACAGGCGAGAGACCGATAGCGAACAACT ACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTTTGAAA AGAGAGTAAAAAGTACGTGAAATGTTGAAA GGGAAGGGCATTGATCAGACATGGTGT CGCCCCCTGCTCTCGTGGGCTGGGACTCTC GCAGCTCACTGGCCAGCATCGGTTTGGCGG CCGAAAAAACCTAGGGAATGTGGCTCTGCGC CTCGTGTAGAGTGTATAGCCCTGGG GAATACGGCCAGCCGGACCGAGGACTGCGAT ACTTGTATCTAGGATGCTGGCATAATGGTTA TATGCCGCCGCTCTT	<i>C. glabrata</i>
UFMG CB 1 LFG 1112 /3	<i>Candida Glabrata</i>	100	100	463	TCCTTGGAACAGGACGTCATGGAGGGTGA TCCCGTGTGGCGAGGGTGTCAAGTCTTTGTA AGGGTGTCTGAAGAGTCCGAGTTGTTGGGAAT GCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAATCCATCTAA AGCTAAATACAGGCGAGAGACCGATAGCGAAC AAGTACAGTGATGAAAAGATGAAAAGAACTTT GAAAAGAGAGTAAAAAGTACCTGAAATTTGT GAAAAGGGAAGGGCATTGATCAGACATGGTGT TTTGGCCCCCTTGCCTCTCGTGGGCTTGGGAC TCTCGCAGCTCACTGGCCAGCATCGGTTTGG GCGGCCGAAAAAACCTAGGGAATGTGGCTCT	<i>C. glabrata</i>

HJK	KY928431				GCGCCTCGGTGTAGAGTGTATAGCCCTGGGG AATACGGCCAGCCGGACCGAGGACTGCGATA CTTGTTATCTAGGATGCTGGCATAATGGTTAT ATGCCGCCCGTCTTG	
-----	----------	--	--	--	---	--

Tabela 15: Identificação molecular das leveduras de isolados obtidos no hospital Eduardo de Menezes e hospital Julia Kubitschek.

Resultados por método presuntivo e biologia molecular			
Código	CHROMagar Candida®	(GTG)5	Sequenciamento molecular
UFMGCB 8 LFG 28158 HEM	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 10 LFG 30286 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 16 LFG 31126 HEM	Não identificado	-	<i>Candida glabrata</i>
UFMGCB 21 LFG 32846 HEM	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida dubliniensis</i>
UFMGCB 30 LFG 36544 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 33 LFG 40711 HEM	Não identificado	-	<i>Candida glabrata</i>
UFMGCB 35 LFG 39278 HEM	Não identificado	-	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
UFMGCB 38 LFG 36907/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 39 LFG 37257/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 43 LFG 36708/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 43 LFG 36708/3 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 46 LFG 39608/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-

UFMGCB 46 LFG 39608/2 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 47 LFG 49113/2 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 49 LFG 45637/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 51 LFG 45543/3 HEM	Não identificado	-	<i>Candida tropicalis</i>
UFMGCB 57 LFG 51064/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 60 LFG 51621/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 61 LFG 50803/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 66 LFG 54050/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 69 LFG 57203/1 HEM	<i>Candida krusei</i>	-	<i>Candida glabrata</i>
UFMGCB 73 LFG 50570/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 74 LFG 50886/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 75 LFG 50684/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 75 LFG 50684/2 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 78 LFG 126/1 HEM	Não identificado	-	<i>Candida glabrata</i>
UFMGCB 80 LFG 827/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida glabrata</i>
UFMGCB 81 LFG 920/3 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 82 LFG 918/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 84 LFG 4245/2 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-

UFMGCB 85 LFG 4478/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 86 LFG 6896/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 89 LFG 12150/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 97 LFG 6054/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 98 LFG 7000/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 99 LFG 9787/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 101 LFG 19875/1 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 109 LFG 12482 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 110 LFG 12842 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 111 LFG 31216 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 112 LFG 17677 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 117 LFG 31928 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 120 LFG 2454 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 123 LFG 31848 HEM	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 1 LFG 11112/2 HJK	Não identificado	-	<i>Candida glabrata</i>
UFMGCB 1 LFG 11112/3 HJK	Não identificado	-	<i>Candida glabrata</i>
UFMGCB 4 LFG 10599/2 HJK	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 15 LFG 1252/1 HJK	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-

UFMGCB 17 LFG 1650/1 HJK	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 18 LFG 1755/1 HJK	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 20 LFG 1381/1 HJK	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-

Tabela 16: Resultados presuntivos do CHROMagar *Candida*[®], identificação por (GTG)5 – realizados no laboratório de Taxonomia, Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos do ICB- UFMG e identificação por sequenciamento, Fiocruz.

Resultado de identificação dos 51 isolados realizados no laboratório de Taxonomia Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos, ICB, UFMG, pelo método de PCR, juntamente com resultado de sequenciamento realizado pela Fiocruz (Gráfico 1).

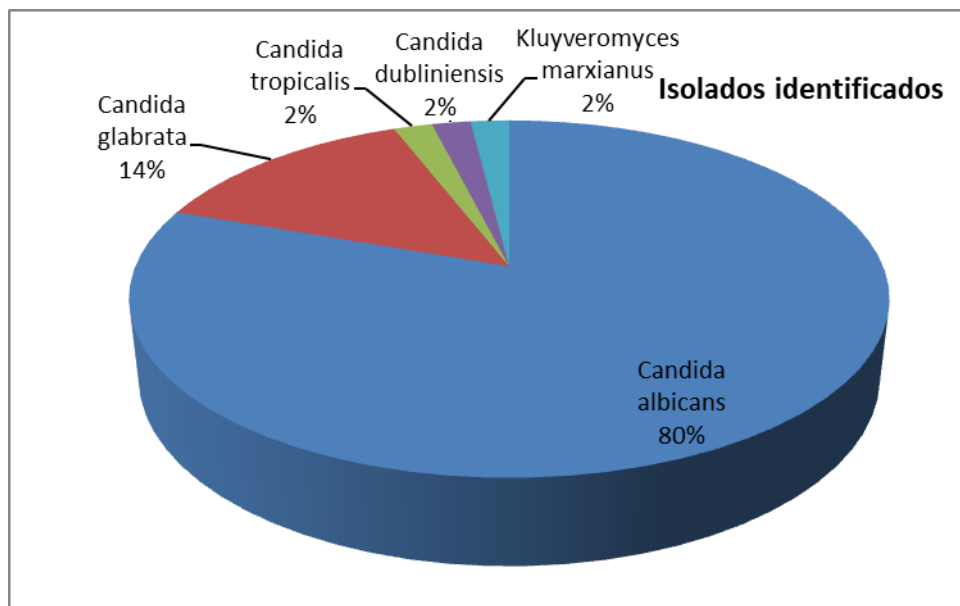


Gráfico 01: Distribuição dos 51 isolados identificados no laboratório de Taxonomia, Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos e Fiocruz.

Os dados correlacionando os resultados da identificação realizada pelos laboratórios dos hospitais colaboradores, juntamente com a identificação das leveduras realizados no presente trabalho, incluindo qual a origem dos isolados clínicos, tabela no apêndice.

Os dados obtidos dos prontuários dos pacientes internados no Hospital Eduardo de Menezes e Hospital Júlia Kubitschek seguem na (Tabela 17).

Podemos observar na (Tabela 17) que os pacientes, cujas amostras de leveduras que foram utilizadas, tinham entre 1 mês de vida a 29 anos com a maioria dos pacientes do sexo masculino, percentual de 9,80% , com idade de 31 anos a 50 anos com maioria sendo do sexo masculino, com percentual de 45,11%, a faixa etária de 51 a 70 anos, 29,21%, sendo a maioria sendo do sexo masculino e na faixa etária de 71 a 100 anos, 5,88%, sendo maioria dos pacientes sendo do sexo masculino A maioria dos pacientes eram do sexo masculino 62,75% e 37,25% do sexo feminino. Com média de 46,8 anos.

Evoluíram para óbito 54,90% dos pacientes, sendo 64,28% do sexo masculino e 35,72% feminino. Dos pacientes vivos 62,21% são do sexo masculino e 37,79% feminino. Dos pacientes vivos, residentes em Belo Horizonte são 65% e na região metropolitana 20%, em cidades do interior 15%. O total de pacientes internados residentes em Belo Horizonte correspondem a 64,76%, na região metropolitana 25,44%, enquanto que nas cidades do interior 9,80% (Tabela 17).

Dos pacientes internados, 52,94% são HIV positivo com média de 327,6 células /mm³ TCD4 e média de um quantitativo de 81384,17 para carga viral. Dos pacientes com HIV positivo, 62,96% são do sexo masculino e 37,04% do sexo feminino, com média de idade de 42,61 anos. Considerando também os com HIV negativo chega ao percentual de 47,06%, sendo do sexo masculino 58,33% e do sexo feminino 41,67% (Tabela 17).

Realizou-se um comparativo entre o local de residência dos pacientes internados nos hospitais colaboradores com as profissões exercidas (Gráfico 2) (Tabela 17).

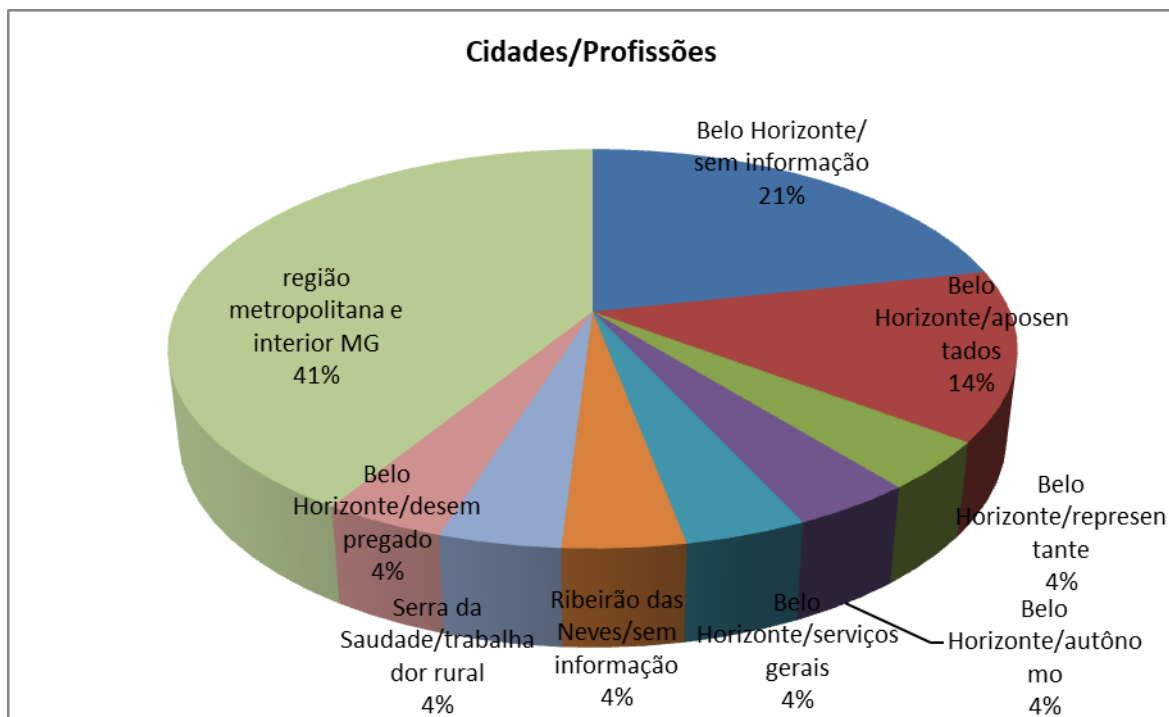


Gráfico 2: Correlação entre as cidades cujos os pacientes residem com informação da profissão exercida.

Dos pacientes que evoluíram para óbito nos hospitais coparticipantes Eduardo de Menezes e Júlia Kubitschek foram comparados as identificações usando a metodologia de CHROMagar Candida® (Gráfico 3) (Tabela 17).

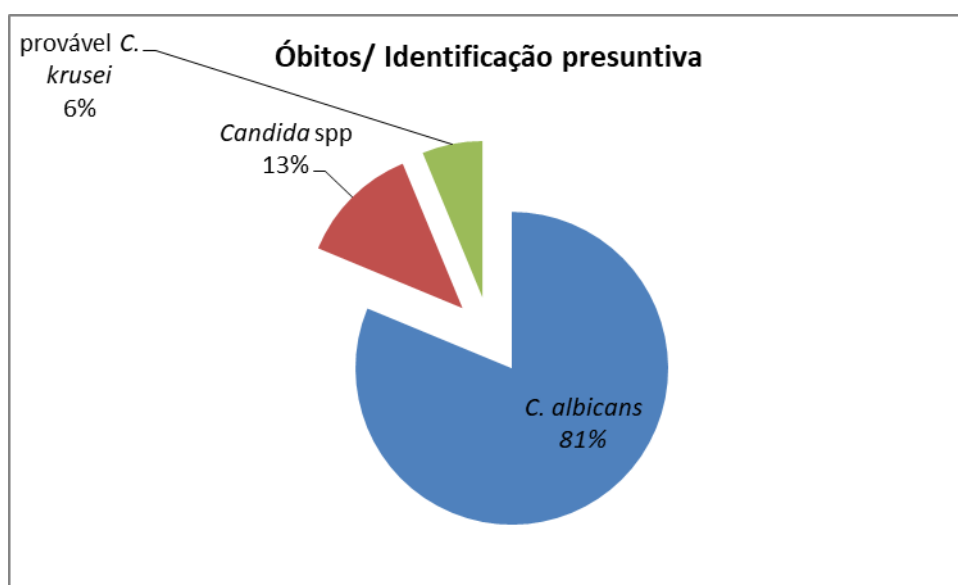


Gráfico 3: Pacientes que evoluíram para óbito cujas identificações foram por CHROMagar Candida® nos hospitais colaboradores.

Dos pacientes vivos cujo se encontravam internados nos hospitais coparticipantes Eduardo de Menezes e Júlia Kubitschek foram comparados as identificações usando a metodologia de CHROMagar Candida® (Gráfico 4)(Tabela 17).

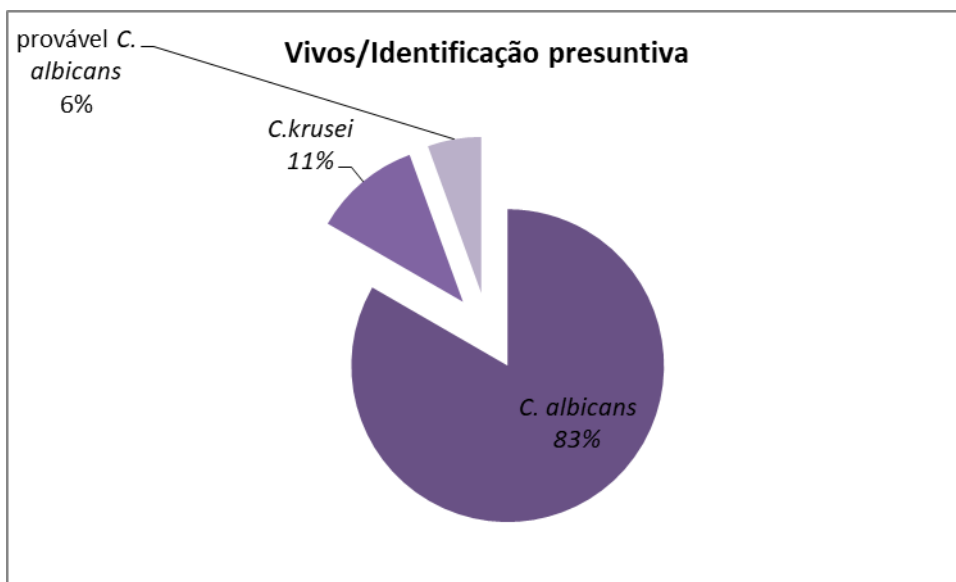


Gráfico 4: Pacientes vivos cujas identificações dos isolados foram por CHROMagar Candida® nos hospitais colaboradores

Dos resultados obtidos por identificação molecular realizados no Laboratório de Taxonomia, Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos – ICB-UFMG, dos pacientes que evoluíram para óbito (Gráfico 5)(Tabela 17).

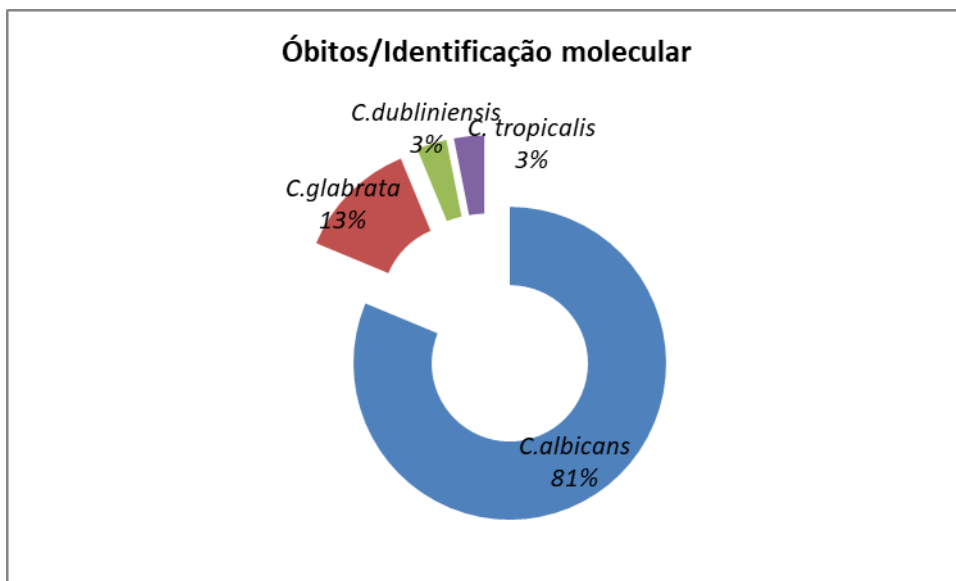


Gráfico 5: Pacientes que evoluíram para óbito cuja identificação dos isolados foi realizada por metodologia molecular no laboratório de Taxonomia, Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos-ICB – UFMG.

Dos resultados obtidos por identificação molecular realizados no Laboratório de Taxonomia, Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos – ICB-UFMG, dos pacientes internados vivos (Gráfico 6)(Tabela 17).

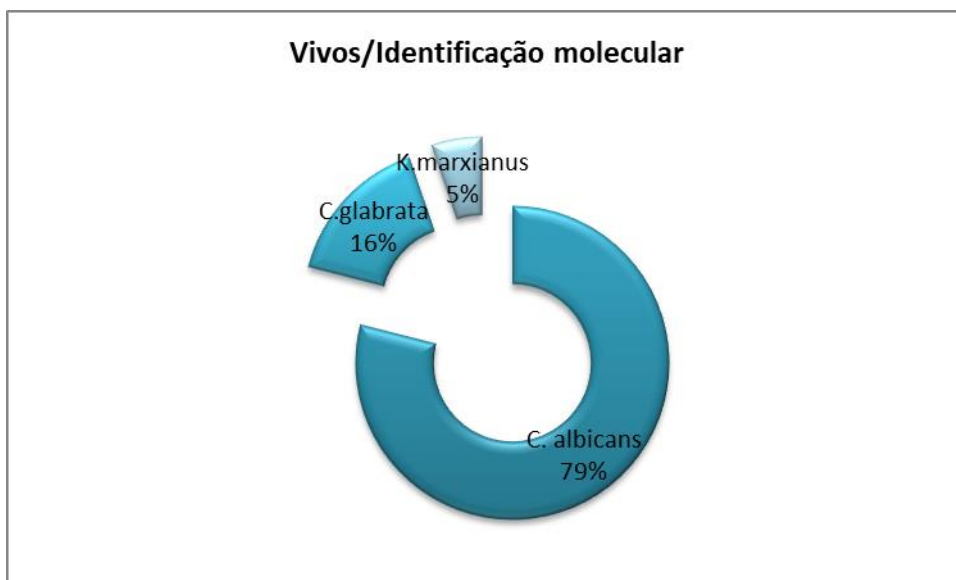


Gráfico 6: Pacientes vivos cuja identificação dos isolados foi realizada por metodologia molecular no laboratório de Taxonomia, Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos- ICB – UFMG.

Nos resultados apresentados pelo Laboratório de Taxonomia, Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos, ICB, UFMG, verificamos as análises das identificações presuntivas de CHROMagar Candida® e método de biologia molecular, sendo que dos 51 isolados, 39 foram analisados pelo método de fingerprinting (GTG)5 e 12 analisados pelo método de sequenciamento. Contudo, por biologia molecular temos 80,40% de *C. albicans*, 13,72% de *C. glabrata*, 1,96% de *C. dubliniensis* e 1,96% de *Kluyveromyces marxianus* e 1,96% de *C. tropicalis* (Tabela 17). Dos analisados pelo método presuntivo CHROMagar Candida®, pelos laboratórios de Análises Clínicas dos hospitais coparticipantes observamos que 78,44 representam *C. albicans*, 9,80% *Candida* spp., 3,92% *C. krusei*, 3,92% provável *C. krusei*, 1,96% provável *C. albicans* e 1,96% isolado não identificado (Tabela 17).

Correlação entre amostras biológicas mais obtidas dos pacientes com HIV positivo e pacientes sem o vírus HIV nos hospitais Eduardo de Menezes e Julia Kubitschek (Gráfico 7)(Gráfico 8)(Tabela 17)

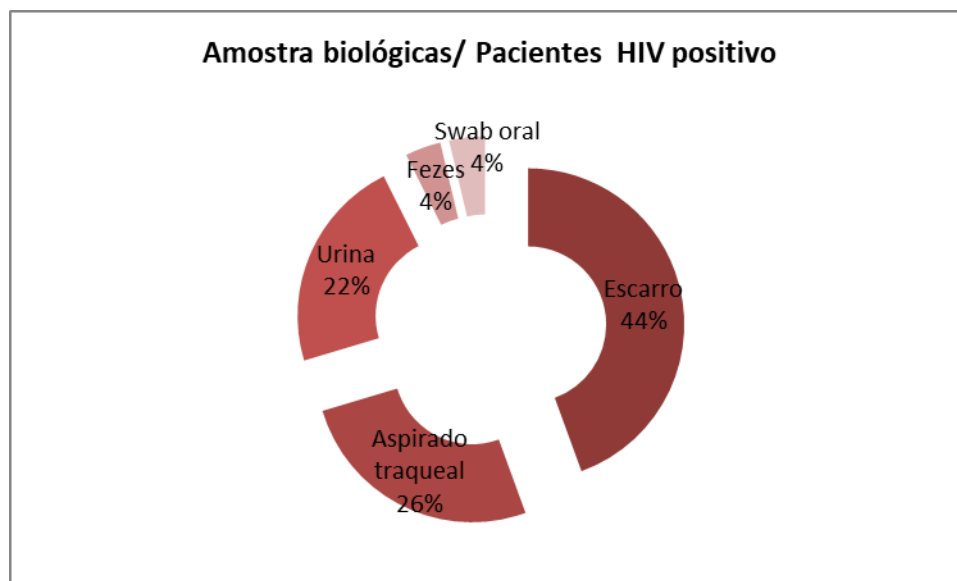


Gráfico 7: Correlação entre amostras biológicas mais analisadas dos pacientes dos hospitais coparticipantes e pacientes com HIV positivo.

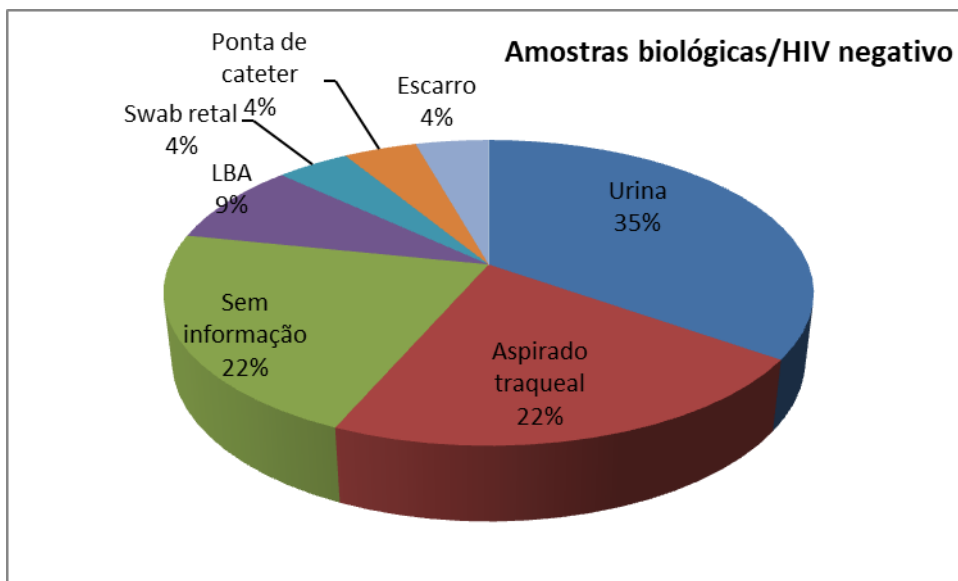


Gráfico 8: Correlação entre amostras biológicas mais analisadas dos pacientes dos hospitais coparticipantes e pacientes com HIV negativo. LBA: lavado brônquio alveolar.

Doenças de base que mais acometeram os pacientes internados nos hospitais coparticipantes, que foram correlacionados com óbitos. A- infecções associadas ao HIV, B - SIDA, C- doenças bacterianas, D- pneumonia, E- choque séptico, F- meningite, G- quadro respiratório grave, H- diabetes, I- colite (Gráfico 9) (Tabela 17).

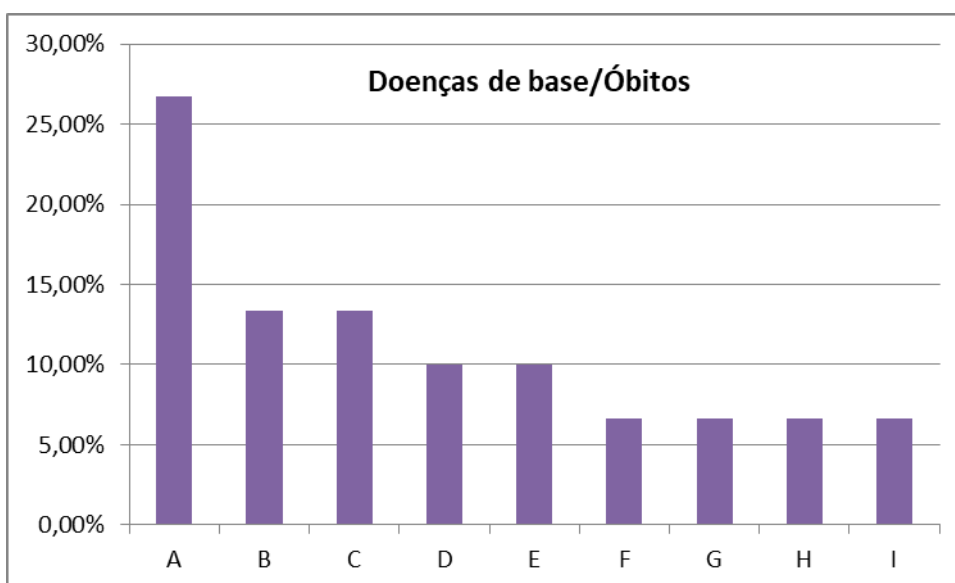


Gráfico 9: Doenças de base que mais acometeram pacientes dos hospitais coparticipantes correlacionados aos óbitos.

Doenças de base que mais acometeram os pacientes internados nos hospitais coparticipantes, que foram correlacionados com agentes etiológicos identificados presuntivamente por CHROMagar Candida® realizados nos laboratórios dos hospitais coparticipantes. A- infecções associadas ao HIV: A1-*C. albicans* e A2- *Candida* spp; B- SIDA: B1-*C. albicans*; C-choque séptico: C1-*C.albicans* e C2- provável *C. krusei*; D- diabetes: D1- *C.albicans*; E- pneumonia: E1-*C.albicans* e E2- *C. krusei*; F- doenças bacterianas: F1- *C. albicans*; G- meningite pneumocócica: G1-*C. albicans* e G2- *Candida* spp; H- quadro respiratório grave: H1-*C. albicans*; I- colite: I1- *C. albicans* (Gráfico 10)(Tabela 17).

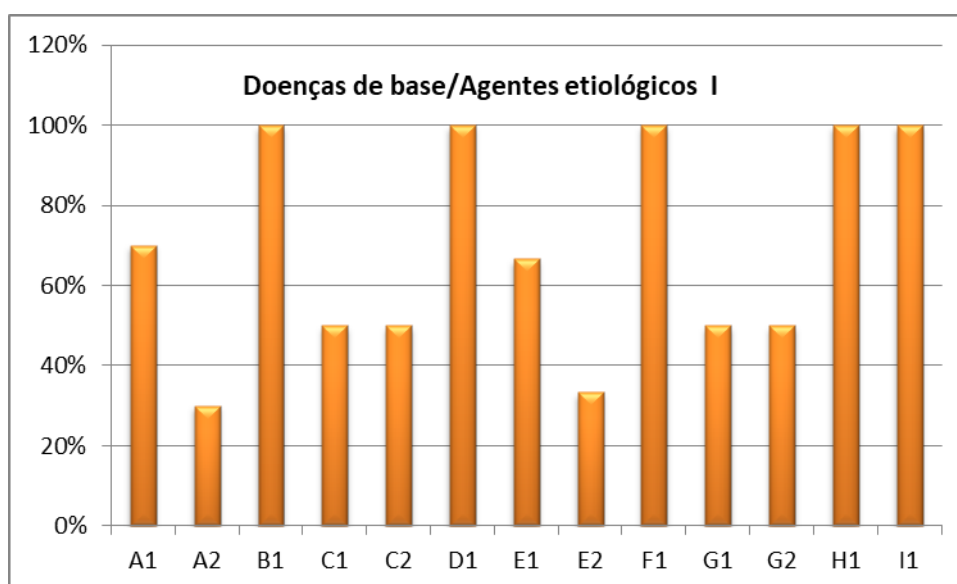


Gráfico 10: Doenças de base correlacionadas com agentes etiológicos conforme resultado presuntivo do CHROMagar Candida® nos laboratórios dos hospitais coparticipantes.

Doenças de base que mais acometeram os pacientes internados nos hospitais coparticipantes, que foram correlacionados com agentes etiológicos identificados por método molecular no laboratório de Taxonomia Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos, ICB - UFMG. A- infecções associadas ao HIV: A1-*C. albicans*, A2- *C. glabrata* e A3- *C. dubliniensis*; B- SIDA: B1- *C. albicans*; C-choque séptico: C1- *C.albicans* e C2- *C. glabrata*; D- diabetes: D1- *C.albicans* e D2- *C. glabrata*; E- pneumonia: E1- *C.albicans*; F- doenças bacterianas: F1- *C. albicans* e

F2- *C. glabrata*; G- meningite pneumocócica: G1- *C. albicans*; H- quadro respiratório grave: H1- *C. albicans*; I- colite: I1- *C. albicans* (Gráfico 11)(Tabela 17).

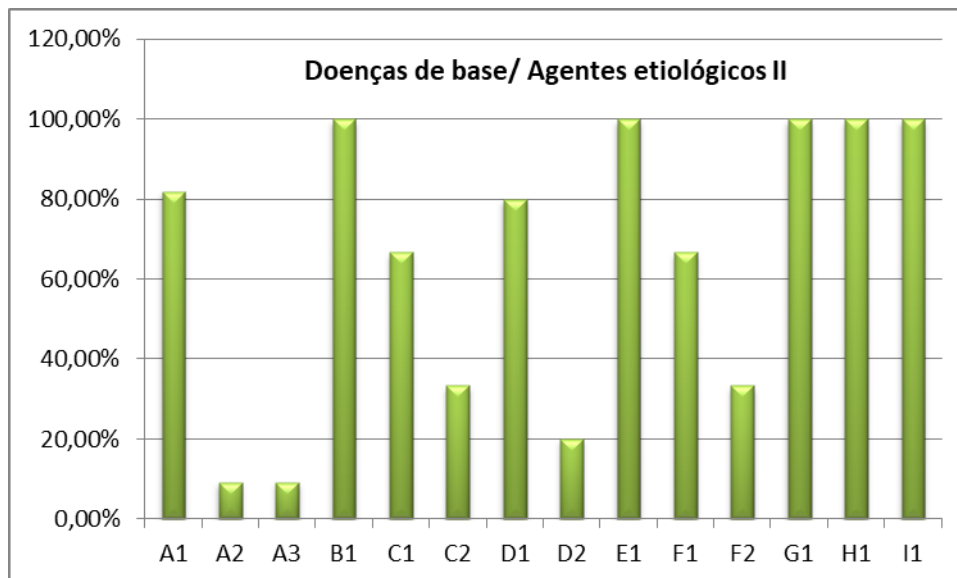


Gráfico 11: Doenças de base correlacionadas com agentes etiológicos conforme resultado por métodos moleculares no laboratório Taxonomia Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos, ICB – UFMG.

Pacientes soropositivos para HIV correlacionados com pacientes que evoluíram para óbito e/ou pacientes vivos. Pacientes que não possuem o vírus HIV correlacionados com pacientes que evoluíram para óbito e pacientes vivos (Gráfico 12) (Tabela 17)

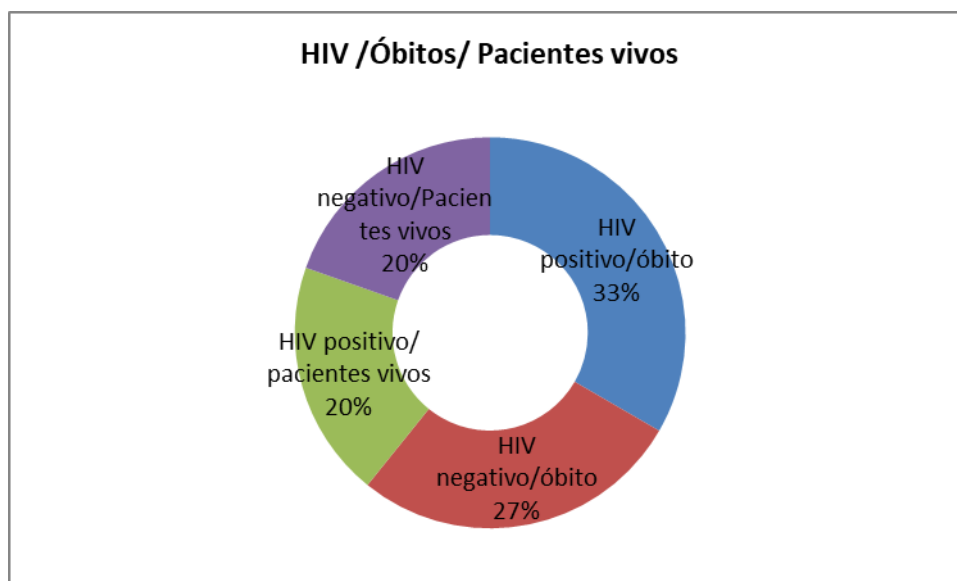


Gráfico 12: Correlação entre pacientes soropositivos para HIV com pacientes que evoluíram para óbito e/ou pacientes vivos e correlação entre pacientes que não possuem o vírus HIV com pacientes que evoluíram para óbito e pacientes vivos.

Demonstramos no (Gráfico 13) espécimes clínicos coletas nos hospitais Eduardo de Menezes e Júlia Kubitschek correlacionadas com agentes etiológicos identificados por biologia molecular. A- escarro/ *C. albicans*; B- aspirado traqueal/ *C. albicans*; C- urina/ *C. albicans*; D- urina/ *C. glabrata*; E sem informação/ *C. albicans*; F- lavado brônquio alveolar/ *C. albicans*; G- swab oral/ *C. albicans*; H- ponta de cateter/ *C.albicans*; I- urina/ *K.marxianus*; J- fezes/*C.tropicalis*; K- swab retal/ *C. glabrata*; L- apirado traqueal/ *C.dublinsiensis* M- aspirado de medula óssea/ *C. albicans* (Tabela 17).

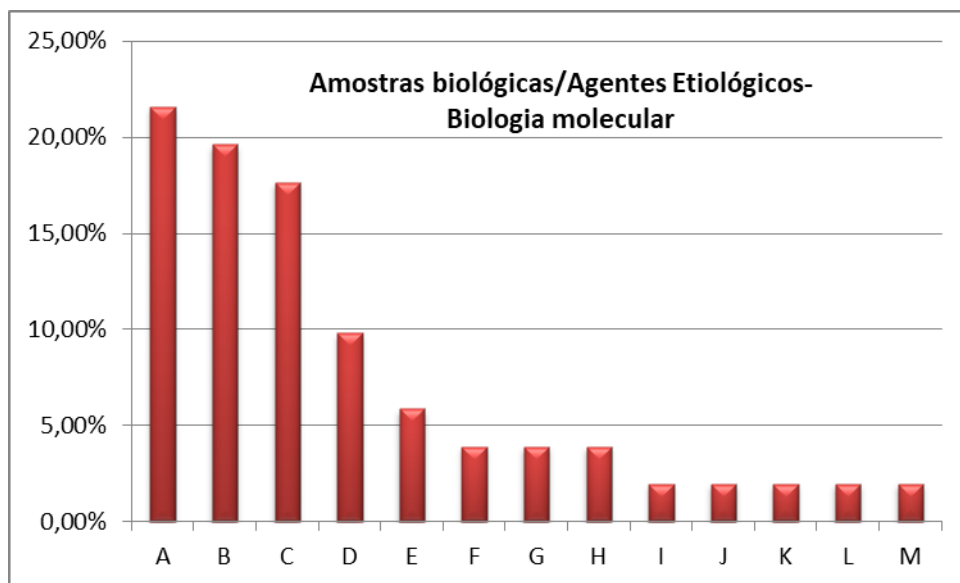


Gráfico 13: Espécimes clínicos coletadas nos hospitais participantes correlacionadas com agentes etiológicos identificados por biologia molecular.

Demonstramos no (Gráfico 14) espécimes clínicos coletas nos hospitais Eduardo de Menezes e Júlia Kubitschek correlacionadas com agentes etiológicos identificados por CHROMagar Candida®. A- escarro/ *C.albicans*; B- urina/ *C. albicans*; C- aspirado traqueal/ *C. albicans*; D- sem informação/ *C. albicans*; E- urina/ *C. krusei*; F- lavado brônquio alveolar; G- aspirado traqueal/ *Candida* spp.; H- urina/ *Candida* spp.; I- aspirado de medula óssea/ *C. albicans*; J- ponta de cateter/ *C.albicans*; K- swab oral/ *C. albicans*; L- escarro/ provável *C. albicans*; M- fezes/

Candida spp.; N- swab retal/ provável *C. krusei*; O- escarro/ não identificado (Tabela 17).

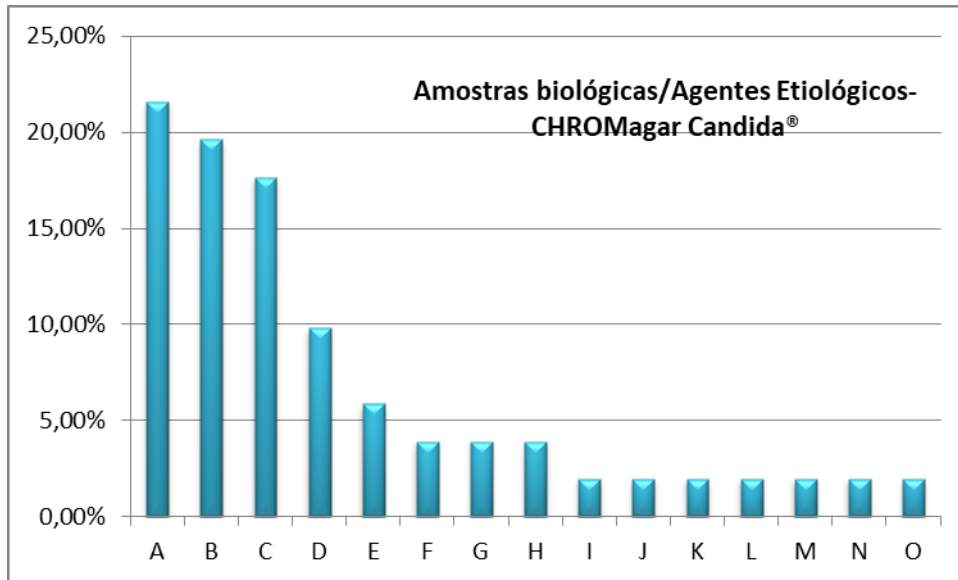


Gráfico 14: Espécimes clínicos coletadas nos hospitais participantes correlacionadas com agentes etiológicos identificados por CHROMagar Candida®.

Dados de prontuários de pacientes internados no HEM e HJK											
Código UFMGCB	Sexo	Idade	Cidade	Profissão	Amostra biológica	Doença de base	Tratamento	HIV	óbito	Microrganismo HEM	Microrganismo biol. Molecular
UFMGCB 8 LFG 28158 HEM	M	48	BH	Sem infor.	AMO (aspirado da medula óssea)	SIDA	meropenem, vancomicina, Polimixina E, Anfotericina B	S	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 10 LFG 30286	M	49	BH	Borra cheiro	escarro	SIDA + IRA	azitromicina + lamivudina+ Efavirenz	S	N	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>

HEM												
UFMGCB 16 LFG 31126 HEM	F	54	BH	Sem infor.	Urina	Meningite pneumocócica	meropenem e vancomicina	N	S	<i>Candida</i> spp.	<i>Candida glabrata</i>	
UFMGCB 21 LFG 32846 HEM	F	29	Sabará	Sem infor.	Aspirado traqueal	Infecções associadas ao HIV, tuberculose	ceftriaxone + claritro + Bactrim + RHZE (rifampicina+ isoniazida+ pirazinamida + etambutol)	S	S	<i>Candida</i> spp.	<i>Candida dubliniensis</i>	
UFMGCB 30 LFG 36544 HEM	M	58	Itaúna	Sem infor.	Urina	Síndrome respiratória	oseltamivir, ceftriaxona, claritromicina meropenem	N	N	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	
UFMGCB 33 LFG 40711 HEM	F	55	BH	Costureira	urina	Infecções associadas ao HIV, DM, hiponatremia, IRA, ITU, pneumonia, meningite	Insulina, metroclopramida, lamivudina+ tenofovir+Efavirenz	S	N	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida glabrata</i>	
UFMGCB 35 LFG 39278 HEM	F	68	Contagem	Aposentado	urina	ITU	piperacilina + tazobactam	N	N	<i>Candida</i> spp.	K. marxianus	
UFMGCB 38 LFG 36907/1 HEM	M	75	BH	Aposentado	aspirado traqueal	fibrose pulmonar avançada+ pneumonia avançada	polimixina+ vancomicina + meropenem	N	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	
UFMGCB 39 LFG 37257/1 HEM	M	48	BH	sem infor.	Aspirado traqueal	SIDA e TB disseminada	lamivudina+ tenofovir+Efavirenz, RHZE	S	N	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	
UFMGCB 43 LFG 36708/1	M	38	Ribeirão das Neves	Sem infor.		Infecções associadas ao	metroclopramida, meropenem, midazolam, norepinefrina	S	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	

HEM					escarro	HIV					
UFMGCB 43 LFG 36708/3 HEM	M	38	Ribeirão das Neves	Sem Infor.	escarro	Infecções associadas ao HIV	metroclopramida, meropenem, midazolam, norepinefrina	S	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 46 LFG 39608/1 HEM	M	49	Serra da Saudade	Trabalhador rural	Lavado brônquio alveolar	tuberculose e derrame pleural	claritromicina, ceftriaxona, RHZE	N	N	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 46 LFG 39608/2 HEM	M	49	Serra da Saudade	Trabalhador rural	Lavado brônquio alveolar	tuberculose e derrame pleural	claritromicina, ceftriaxona, RHZE	N	N	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 47 LFG 49113/2 HEM	F	70	BH	aposentada	urina	hepatites virais, DM	Meropenem, insulina, metronidazol, norfloxacin, insulina	N	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 49 LFG 45637/1 HEM	F	54	BH	representante	aspirado traqueal	Meningite pneumocócica	meropenem e vancomicina	N	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 51 LFG 45543/3 HEM	M	48	Vespasiano	pintor	Fezes	Infecções associadas ao HIV	RHZE, bactrim, clindamicina	S	S	<i>Candida spp.</i>	<i>Candida tropicalis</i>
UFMGCB 57 LFG 51064/1 HEM	M	43	Contagem	servente	aspirado traqueal	Linfadenopatia	amitriptilina, atazanavir, lamivudina	S	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 60 LFG 51621/1 HEM	M	61	BH	sem. Infor	urina	Infecções associadas ao HIV	RHZE, 3TC(lamivudina), EFV(Efavirenz)	S	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 61 LFG 50803/1 HEM	F	36	BH	serviço gerais	urina	encefalopatia, SIDA	RHZE, bactrim	S	N	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 66 LFG 54050/1 HEM	F	69	BH	Aposentado	aspirado traqueal	pneumonia, DM	sabutamol, diazepam, insulina	N	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>

UFMGCB 69 LFG 57203/1 HEM	F	69	sem infor.	Aposentada	urina	choque séptico	insulina, diltiazem, noradrenalina	N	S	Provável <i>C. krusei</i>	<i>Candida glabrata</i>
UFMGCB 73 LFG 50570/1 HEM	M	28	BH	sem infor.	aspirado traqueal	SIDA, encefalopatia	RHZE, bactrim	S	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 74 LFG 50886/1 HEM	F	36	BH	Serviço gerais	aspirado traqueal	encefalopatia, SIDA	RHZE, bactrim	S	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 75 LFG 50684/1 HEM	F	34	BH	Autônoma	escarro	candidíase disseminada, SIDA	tenoflur+ lamivudina, anidulafungina, micafungina	S	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 75 LFG 50684/2 HEM	F	34	BH	Autônoma	escarro	candidíase disseminada, SIDA	tenoflur+ lamivudina, anidulafungina, micafungina	S	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 78 LFG 126/1 HEM	F	64	Vespasiano	Doméstica	swab retal	pneumonia	Ceftriaxona + claritromicina	N	S	Provável <i>C. krusei</i>	<i>Candida glabrata</i>
UFMGCB 80 LFG 827/1 HEM	F	53	São José da Lapa	Do lar	urina	doenças bacterianas	ceftriaxona, ampicilina	N	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida glabrata</i>
UFMGCB 81 LFG 920/3 HEM	M	51	BH	Aposentado	ponta de cateter	doenças bacterianas	vancomicina, merpenem	N	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 82 LFG 918/1 HEM	M	51	BH	Aposentado	urina	doenças bacterianas	vancomicina, merpenem	N	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 84 LFG 4245/2 HEM	M	69	Ipane Ma	Aposentado	aspirado traqueal	arboviroses, febres hemorrágicas	metroclopramida, norepinefrina, meropenem	N	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 85 LFG 4478/1 HEM	M	34	BH	Cabeleleiro	aspirado traqueal	Pneumonia, infecções associadas ao HIV	midazolam, ranitidina, enoxaparina	S	N	<i>Candida</i> spp.	<i>Candida albicans</i>

UFMGCB 86 LFG 6896/1 HEM	M	51	BH	Sem infor.	aspirado traqueal	Pneumonia, DM	insulina, ranitidina, fentalina, osentamivir	N	N	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 89 LFG 12150/1 HEM	F	21	BH	estudante	escarro	Pneumonia, infecções associadas ao HIV	ritonavir, sulfametazol e trimetoprina	S	N	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 97 LFG 6054/1 HEM	M	41	BH	Desempregado	escarro	Cefaleia	levofloxacino, tenofovir, lamivudina	S	N	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 98 LFG 7000/1 HEM	M	67	BH	Aposentado	escarro	doenças associadas ao HIV	insulina, carvedilol, fluconazol, sulfametoxazolo + trimetoprina	S	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 99 LFG 9787/1 HEM	M	49	BH	sem infor.	escarro	infecções associadas ao HIV	azitromicina, lamivudina, Efavirenz	S	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 101 LFG 19875/1 HEM	M	62	BH	Taxista	urina	infecções associadas ao HIV	noradrenalina, ceftriaxona, bactrim	S	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 109 LFG 12482 HEM	F	35	Sarzedo	Sem infor.	escarro	HIV com infecções múltiplas	amitriptilina, TNF(tenofovir)+ LAM(lamivudina)+ EFV(efavirenz)	S	N	não identificado	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 110 LFG 12842 HEM	M	37	BH	Sem infor.	escarro	HIV com complicações bacterianas	TNF+LAM, Atazanavir	S	N	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 111 LFG 31216 HEM	M	34	Contagem	autônomo	urina	choque séptico, colite e quadro respiratório grave	Dormonid, atracurio	S	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 112 LFG 17677 HEM	F	53	Contagem	sapateira	escarro	infecções associadas ao HIV	tenofovir+lami vudina, ritonavir, metoclopramida	S	N	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>

UFMGCB 117 LFG 31928 HEM	M	37	BH	sem Infor.	Swab oral	HIV com complicaçõe sde doenças bacterianas a	sulfametazol+t rime toprina, fenitina, nortriptilina, ritonavir	S	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 120 LFG 2454 HEM	F	26	BH	Desem pregada	escarro	doenças infecto contagiosas e parasitária	sulfametazol+ trimetoprina, azitromicina , ceftriaxona, metrocloprami da	N	N	<i>Provável/ Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 123 LFG 31848 HEM	M	34	Conta gem	Autôno mo	urina	choque séptico, colite e quadro respiratório grave	dormonid atracurio	S	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
HJK											
Cód. Amostra	S e x o	Id ad e	Cidade	Profissão	Amostra biológica	Doença de base	Tratamento	H I V	Ó b i t o	Microrga nismo HJK	Microrganis mo biol. Molecular
UFMGCB 1 LFG 11112/2 HJK	M	62	BH	Aposenta do	urina	Infecção de pele, tecido subcutâneo faceíte, <i>gangrena</i> ,	losartan, enoxaparina, amoxicilina, metoclopramid a, escolopamida	N	N	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida glabrata</i>
UFMGCB 1 LFG 11112/3 HJK	M	62	BH	Aposenta do	urina	Infecção de pele, tecido subcutâneo faceíte, gangrena	losartan, enoxaparina, amoxicilina, metoclopramid a, escolopamida	N	N	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida glabrata</i>
UFMGCB 4 LFG 10599/2 HJK	F	76	Ibirité	Aposenta do	sem infor.	Doença crônica pulmonar obstrutiva	vancomicina, izoniazida, rifampicina, amitriptilina	N	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 15 LFG 1252/1 HJK	M	44	BH	Porteiro	sem infor.	Tuberculoso e etilista, DM	Ceftriaxona metocloropra mida, insulina, norepinefrina,	N	N	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 17 LFG 1650/1 HJK	M	50	BH	sem infor.	sem infor.	Choque hipovolêmic o, cirrose, etilismo	aciclovir, insulina, ranitidina, salmترول	N	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>

UFMGCB 18 LFG 1755/1 HJK	M		São Joa quim de Bicas	Sem infor.	sem infor.	Síndrome de angústia respiratória	Carvedilol , insulina, amoxicilina, metrocloprami da	N	N	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 20 LFG 1381/1 HJK	M	72	BH	Aposenta do	sem infor.	H1N1, septicemia, insuficiência cardíaca Hipertensão	meticona, metroclopra mida, escopolamina, ondansetrona, meropenem, atenolol	N	S	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>

Tabela 17: Dados dos prontuários dos pacientes que estiveram internados nos hospitais Eduardo de Menezes e Júlia Kubitschek.

Os pacientes internados tiveram como doença de base SIDA (AIDS), doenças associadas ao HIV, IRA (insuficiência respiratória aguda), ITU (infecção do trato urinário), fibrose pulmonar avançada, candidíase, pneumonia, diabetes, tuberculose, meningite bacteriana, meningite, derrame pleural, hepatite viral, doença parasitária, faceíte, doença pulmonar obstrutiva crônica, febre hemorrágica, cefaleia, gangrena, choque hipovolêmico, linfadenopatia, cirrose, choque séptico, encefalopatia, colite, síndrome respiratória, arbovirose, hiponatremia, H1N1.

Ademais para os tratamentos das doenças citadas acima foram utilizados os seguintes fármacos: meropenem, vancomicina, clindamicina, claritromicina, amicacina, ceftriaxona, polimixina, bactrim, sulfametazol, trimetropina, piperacilina, anfotericina B, primaquina; (rifampicina+isoniazida+pirazinamida e etambutol) RHZE; Oseltamivir, (tenofovir + lamivudina + efavirenz,) TDF + 3TC + EFZ ; amitriptilina; metocloropramida, diazepam, salmetrol, norepinefrina, insulina, midazolam. Uso de, carvedilol, aciclovir, ranitidina, noradrenalina, tazobactam e atenolol. Sendo os mais utilizados meropenem e lamivudina com 6,93%; insulina 5,78%; metaclopramida, RHZE e ceftriaxona 5,2%; tenofovir 4,62%; vancomicina 4,04%; efavirenz e bactrim 3,46% e claritromicina 2,89%.

Os resultados de identificação dos hospitais colaboradores Hospital Eduardo de Menezes e Hospital Júlia Kubitschek, correlacionados com os resultados de identificação por biologia molecular (Tabela 18).

Identificação presuntiva/ identificação molecular		
Identificação CHROMágar Candida®	Identificação molecular	Comparativo (%)
<i>C. albicans</i>	↔ <i>C. albicans</i>	74,52
<i>C. albicans</i>	↔ <i>C. glabrata</i>	3,92
Provável <i>Krusei</i>	↔ <i>C. glabrata</i>	3,92
<i>C. Krusei</i>	↔ <i>C. glabrata</i>	3,92
Provável <i>albicans</i>	↔ <i>C. albicans</i>	1,96
Não identificado	↔ <i>C. albicans</i>	1,96
<i>Candida</i> spp.	↔ <i>C. albicans</i>	1,96
<i>Candida</i> spp.	↔ <i>C. glabrata</i>	1,96
<i>Candida</i> spp.	↔ <i>C. dubliniensis</i>	1,96
<i>Candida</i> spp.	↔ <i>C. tropicalis</i>	1,96
<i>Candida</i> spp.	↔ <i>K. marxianus</i>	1,96

Tabela 18: Correlação entre as identificações dos hospitais colaboradores e de biologia molecular.

7 DISCUSSÃO

No presente estudo verificamos a importância do uso do CHROMagar Candida® para, principalmente, o correto isolamento das amostras, pois das amostras recebidas dos hospitais colaboradores observamos em algumas amostras a presença mais de uma espécie de levedura. O meio CHROMagar Candida® mostrou também ser um importante método diferencial no auxílio para a identificação de leveduras isoladas. Este meio facilita o reconhecimento de culturas mistas de leveduras em uma única placa de isolamento, mas fornece também indicação para identificação subsequente, através da cultura pura (ODDS e BERNAERTS, 1994).

Utilizando o CHROMagar Candida®, também verificamos que houve um percentual de 80,40%, dos resultados de *Candida albicans* que foram compatíveis aos resultados de biologia molecular, assim como outros estudos que usaram métodos para identificar leveduras, incluindo testes fenotípicos, como cultura e

exame microscópico, e as características da cultura com base no aspecto da colônia. O CHROMagar Candida® pode ser usado para auxiliar na identificação de algumas espécies do gênero *Candida*, baseado em cores fortemente contrastadas, no entanto os métodos moleculares permitem resultados mais precisos, em comparação com as técnicas convencionais (AL-TEKREETI et al., 2018).

No presente trabalho observamos que a utilização de métodos moleculares são de extrema importância para identificação entre as espécies *C. dubliniensis* e *C. albicans*, pois segundo vários autores foi relatado as dificuldades na diferenciação de ambas, devido à similaridade fenotípica das duas espécies (MAHELOVÁ e RŮŽIČKA, 2017). Por exemplo, ambos isolados foram identificados presuntivamente como *C. albicans* utilizando o meio cromogênico, no entanto, após a identificação molecular observamos que o isolado UFMGCB 21 LFG 32846 HEM, identificado como *C. albicans* pelo CHROMagar Candida®, tratava-se de *C. dubliniensis*. Outros autores já observaram que tanto *C. albicans* e *C. dubliniensis* produzem o tubo germinativo, clamidósporos e crescem em CHROMagar Candida®, como colônias verdes (STEFANIUK et al., 2017). Dudiuk e colaboradores (2017) sugeriram as sequências da região ITS como principal ferramenta na identificação das duas espécies. No presente trabalho utilizamos o sequenciamento da região D1/D2 da subunidade maior do DNA.

As amostras clínicas analisadas no presente estudo foram variadas, como 41 amostras de urina, 26 amostras de escarro, 26 de amostra aspirado traqueal, 9 amostras de sangue, 3 amostras de lavado brônquio alveolar, 2 amostras de biópsia, 2 de aspirado de medula óssea, 2 amostras de líquido peritoneal, 1 amostra de swab oral, 1 amostra de swab retal, 1 amostra de fezes, 1 amostra de líquido pleural, 1 amostra ponta de cateter, 1 amostra de swab de orofaringe e 1 amostra de swab de narina direita. As leveduras foram provenientes de 129 pacientes, com 151 isolados, com 51 isolados identificados. O estudo teve como base pacientes imunocomprometidos, com idade entre 1 mês a 85 anos, de idade média 46,80 anos. Um dos isolados foi identificado como *C. dubliniensis* com percentual de 1,96%. Um estudo nos Estados Unidos em 2002, houve um total de 205 isolados de amostras, incluindo, 52 amostras de urina, 16 espécimes vaginais, 42 amostras de sangue, 44 do trato respiratório espécimes, 16 espécimes de feridas superficiais, 14 amostras de líquido do ouvido e timpânico, 15 amostras de feridas profundas, 2 amostras de líquido pleural, 1 amostra de fezes, 2 amostras de ponta de cateter

venoso central e 1 amostra de olho. Estes as amostras representaram 183 pacientes com idades entre 6 semanas a 19 anos (média, 6,6 anos). Esses pacientes representavam tanto imunocomprometidos quanto imunocompetentes. Foram identificados como *C. dubliniensis* um total de 14 isolados (6,8%). Esses isolados foram obtidos de 14 diferentes pacientes com culturas de vários locais anatômico (KIM et al., 2003). Contudo, observamos que o estudo nos Estados Unidos em relação aos dados do presente estudo apresentam variedades de espécimes clínicos, quantidade significativa de isolados. No entanto, o presente estudo se baseou em pacientes imunocomprometidos e teve também uma variante com relação a idade do público estudado.

No presente estudo verificamos a importância de usar metodologias de Biologia molecular para identificar os isolados cedidos pelos hospitais co-participantes pela limitação em identificar utilizando apenas a metodologia no caso uso de CHROMagar Candida®. Assim podemos demonstrar o quanto é importante a utilização de uma metodologia eficaz para auxiliar nas identificações dos isolados como os não identificados, *Candida* spp., como também por exemplo, provável *Candida krusei*, etc. Em estudo realizado por Javari et al. (2017), foram analisadas amostras de leveduras de uma universidade no Japão. Neste estudo os autores compararam o método de CHROMagar Candida® com método de biologia molecular PCR-FRLP e PCR-FSP, onde verificou que CHROMagar Candida® identificou as seguintes espécies: *C. albicans* 27,6%, *C. tropicalis* 4,6%, *C. krusei* 1,1% e *Candida* spp. 66,7%. No entanto, utilizando a metodologia de PCR foi possível identificar melhor as espécies, sendo que em apenas 4,6% (método PCR FRLP) e 8,0% (método de PCR FSP) das leveduras não foi possível chegar em nível de espécie. Em paralelo com o presente trabalho, verificamos assim, a importância do uso metodologias de biologia molecular para identificar corretamente as leveduras. Sendo que, para as leveduras em que não for possível encontrar a espécie utilizando somente o PCR, muitas vezes é necessário utilizar o sequenciamento molecular (KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, 2011; FILIPPIS et al., 2017; FURLAN, STEHLING E PITONDO-SILVA, 2017).

No estudo realizado por Neufel e colaboradores, 2015 revela os espécimes clínicos colhidos dos pacientes em relação ao agente etiológico identificado pelo método de CHROMagar Candida®. Esses dados correspondem a ponta de cateter/ *C. albicans* 62,5%; urina/ *C. albicans* 56,6%; trato respiratório/*C. albicans* 48%.

Contudo observamos no presente estudo os isolados identificados por CHROMagar Candida®, nos quais os espécimes clínicos do trato respiratório (escarro, aspirado traqueal e lavado brônquio alveolar) somam percentual de 43,15%, espécimes clínicos de urina tem percentual de 19,61% e ponta de cateter com 1,96%, tendo como agente etiológico identificado *C. albicans* nos três espécimes. Logo, observamos índices de espécimes clínicos do trato respiratório são pouco divergentes, entretanto há maior divergência com relação aos espécimes clínicos urina e ponta de cateter comparando ambos os estudos. No entanto, no presente estudo, os isolados são identificados por biologia molecular, nas quais prevalecem espécimes clínicos do trato respiratório como (lavado brônquio alveolar, escarro e aspirado traqueal) tendo como agente etiológico identificado *C. albicans* somando um total de 49%. Este índice corrobora estudo realizado por Neufel e colaboradores, 2015, embora o meio de identificação não seja os mesmos. No entanto, os dados dos espécimes clínicos de ponta de cateter e urina também divergem com o presente estudo.

A identificação de espécies de *Candida* com métodos convencionais são muitas vezes demorados e difíceis de executar, desta forma observa-se também a importância do uso de métodos automatizados, avançados e moleculares, importantes no desenvolvimento de novas intervenções terapêuticas e auxiliando assim, na melhor conduta no tratamento do paciente (SUDHAN et al., 2016). O diagnóstico preciso de infecções por *Candida* é uma tarefa difícil e facilitar a identificação é beneficiar intervenções precoces, que favorecem o pacientes (DELALOYE e CALANDRA, 2014).

Este trabalho demonstrou que, na maioria dos isolados identificados pelo método de biologia molecular, houve prevalência da espécie *C. albicans*, corroborando com estudos citados anteriormente (DE PAULA et al., 2015; JUNQUEIRA et al., 2012; MAURYA et al., 2013). Neste trabalho a *C. albicans* demonstrou ser a mais prevalente, seguida por *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. dubliniensis* e *Kluyveromyces marxianus*. Em um estudo realizado em um hospital no QATAR foram isolados de 289 pacientes, as seguintes leveduras: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *Clavispora (Candida) lusitaniae*, *C. orthopsilosis*, *C. dubliniensis*, *Pichia kudriavzevii (C. krusei)*, *C. pararugosa*, *C. famata*, *C. bracarensis*, *Yarrowia (Candida) lipolytica*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia ohmeri*, *Kluyveromyces marxianus*, *C. guilliermondii* (TAJ-ALDEEN et al.,

2018). Este estudo no Qatar demonstra a prevalência de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* e a presença também de *C. dubliniensis*, além da presença de *Kluyveromyces marxianus* como agente infeccioso em humanos, corroborando com o recente estudo realizado segundo (FARMAKIOTIS e KONTOYIANNIS, 2017), em uma avaliação hospitalar envolvendo pacientes com 116 doenças hematológicas na Universidade do Texas, *C. kefir* (teleomorfo: *Kluyveromyces marxianus*), foi 117 vezes relatada recentemente como um patógeno emergente, com proeminente sazonalidade de verão.

Esta espécie *Kluyveromyces marxianus*, foi descoberta por volta dos anos de 1971 por Van der Walt (1971), pertencente ao Gênero *Kluyveromyces*. Esta espécie de levedura é utilizada na agricultura e alimentos, como exemplo, o uso freqüentemente da espécie usada pela indústria de laticínios para devido à sua capacidade de fermentar lactose, etanol de proteína e combustível do soro de queijo. A endo-poligacturonase de *Kluyveromyces marxianus* é utilizada de forma experimental para eliminar a neblina de pectina de suco de maçã (Gomez-Ruiz et al. 1988). Por outro lado, a espécie foi identificada como o agente de uma putrefação na cebola (KURTZMAN, FELL, BOEKHOUT, 2011). Importância clínica: Parece que é raramente isolado em material clínico, e humano, além disso, *kluyveromyces marxianus* tem seu genoma inteiro sequenciado. (KURTZMAN, FELL, BOEKHOUT, 2011).

O que se sabe que a levedura *kluyveromyces marxianus* está presente na produção de determinados alimentos, como Kefir que difere de outros iogurtes por conter mais de 20 espécies de levedura, entre elas *Kluyveromyces marxianus*, incluindo fermentação de lactose. Vários estudos recentes tem investigado, além dos inúmeros benefícios para a saúde, á falta de conhecimento sobre sua segurança para o hospedeiro. O uso de probióticos podem ser especialmente perigosos em populações com alto risco de infecção, como pacientes imunocomprometidos e idosos (LIM et al., 2019).

ISHITANI e colaboradores, 2017, se baseiam no código Garbage para seu estudo realizado em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, cujo são classificadas neste código, doenças de causas mal definidas, e diagnósticos incompletos, no qual os indivíduos evoluíram para óbito. Exemplos de causas de óbitos como: septicemias, doenças hipertensivas, hemorrágicas ou isquêmicas, doenças cerebrovasculares não especificadas, insuficiência cardíaca, pneumonias, demais

causas perinatais, causas externas como eventos de intenção indeterminada, causas mal definidas, anomalias congênitas, acidentes de trânsito não especificados. Foram considerados todas as faixas etárias e o total de indivíduos que evoluíram para o óbito. Neste estudo a cidade de Belo Horizonte comparada a outras cidades, notificou maior número de óbitos com 40% de mortes. No presente estudo, 25% dos indivíduos evoluíram para óbitos e considerando as doenças compatíveis com as do código Garbage, encontramos septicemia, pneumonia, febre hemorrágica, choque hipovolêmico, hipertensão. Tanto o estudo de ISHITANI e colaboradores, 2017 e o presente estudo, corroboram de certa forma por demonstrarem índices percentuais de óbitos muito divergentes.

Os pacientes internados tiveram como doença de base SIDA (AIDS), IRA (insuficiência respiratória aguda), ITU (infecção do trato urinário), fibrose pulmonar avançada, pneumonia, tuberculose, síndrome de angústia respiratória, doença crônica pulmonar, etilista crônico, choque hipovolêmico, cirrose hepática, septicemia, epigastralgia, ressecção da próstata, esofagite, disfagia.

No comparativo cidade/profissão foi verificado que em Belo Horizonte teve maior índice de profissão sem informação, isso se deve ao fato de muitos pacientes não declararem sua profissão no ato da inscrição no processo de internação, segundo informação dos funcionários do setor de internação dos hospitais colaboradores. Observou-se também um grande índice de aposentados em Belo Horizonte, fato esse, que pode ser um indicativo que pessoas idosas estão sendo mais acometidas por doenças infecciosas (CORREA et al., 2019; HORDONHO, DOS SANTOS e POWELL, 2019).

Há prevalência de pacientes de adultos de 31 a 50 anos com 45,11%, com pacientes adultos, seguidos de adultos/idosos com faixa etária de 51 a 70 anos, percentual de 39,21%, corroborando com estudo em João Pessoa, Paraíba, Brasil, 2015, no qual demonstrou a prevalência de adultos e idosos com faixa etária de 41 a 60 anos, representando 41% dos pacientes; e o percentual de 24% eram 61 a 80 anos, demonstrando a prevalência de adultos e idosos. (ARRUA et al, 2015). A média de idade das pessoas acima de 60 anos é de 67,57 anos, com porcentagem de 27,45% de idosos no presente estudo.

Foi diversificado o público estudado nos hospitais co-participantes, com maior abrangência nas doenças de base, como doenças associadas ao HIV, entre outras. Houve maior número dos pacientes com HIV, exceto no hospital Júlia Kubitschek,

onde nenhum dos pacientes possuíam o vírus. A maioria dos pacientes no geral, evoluíram para óbito e a maioria dos pacientes residem em Belo Horizonte e região metropolitana, assim como houve relativa variação com relação as profissões.

8 CONCLUSÃO

No presente estudo, verificamos a prevalência da espécie *Candida albicans*, seguida da *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida dubliniensis* e *Kluyveromyces marxianus* na infecções por leveduras.

Verificou-se também pouca diferença nos resultados dos isolados do método presuntivo pelo meio CHROMagar Candida® entre os resultados dos hospitais co-participantes, Hospital Eduardo de Menezes e Júlia Kubitschek com relação ao resultado pelo método presuntivo através do meio CHROMagar Candida®, obtido no Laboratório de Taxonomia, Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos, ICB, UFMG, entretanto, houve maior diferença entre os resultados presuntivos em relação aos resultados por biologia molecular.

Confirma-se o quão importante é o uso de métodos mais avançados e atuais na identificação de isolados, como no caso do achado incomum de *Kluyveromyces marxianus*, isolados não identificados, de prováveis microrganismos. Por estes exemplos, confirmou-se mais uma vez ser a melhor escolha para identificação de isolados clínicos, embora não se encontra disponível em laboratório de Análises Clínicas em geral. Contudo, a biologia molecular permite melhor direcionamento e conduta no tratamento do paciente pela precisão na identificação do isolados.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABI-SAID, Dima et al. The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida* species. **Clinical Infectious Diseases**, v. 24, n. 6, p. 1122-1128, 1997.

ACHKAR, Jacqueline M.; FRIES, Bettina C. *Candida* infections of the genitourinary tract. **Clinical microbiology reviews**, v. 23, n. 2, p. 253-273, 2010.

ANDREWS, Jennifer M. Determination of minimum inhibitory concentrations. **Journal of antimicrobial Chemotherapy**, v. 48, n. suppl 1, p. 5-16, 2001.

ANGULO-MONTOYA, C. et al. Growth of *Candida norvegensis* (strain Levazoot 15) with different energy, nitrogen, vitamin, and micromineral sources. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 2, p. 533-537, 2019.

AHMED, Armin et al. Risk prediction for invasive candidiasis. **Indian journal of critical care medicine: peer-reviewed, official publication of Indian Society of Critical Care Medicine**, v. 18, n. 10, p. 682, 2014.

AL-ABEID, Hanan M. et al. Isolation and characterization of *Candida* spp. in Jordanian cancer patients: prevalence, pathogenic determinants, and antifungal sensitivity. **Jpn J Infect Dis**, v. 57, n. 6, p. 279-84, 2004.

ALCOBA-FLÓREZ, Julia et al. Phenotypic and molecular characterization of *Candida nivariensis* sp. nov., a possible new opportunistic fungus. **Journal of clinical microbiology**, v. 43, n. 8, p. 4107-4111, 2005

ALEXANDER, Barbara D. et al. Increasing echinocandin resistance in *Candida glabrata*: clinical failure correlates with presence of FKS mutations and elevated minimum inhibitory concentrations. **Clinical infectious diseases**, v. 56, n. 12, p. 1724-1732, 2013.

ALFOUZAN, W. A.; DHAR, R. Candiduria: Evidence-based approach to management, are we there yet?. **Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology**, 2017.

ALMEIDA, Nilsa Maria Galvão; LOPES, T. J.; CHAUD, Marco Vinícius. Desenvolvimento de uma formulação de cloridrato de metoclopramida sob a forma de filme hidrogelatinoso. **Rev Bras Farm**, v. 93, n. 1, p. 114-119, 2012.

ALMIRANTE, Benito et al. Epidemiology and predictors of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 4, p. 1829-1835, 2005.

AL-TAWFIQ, Jaffar A. Distribution and epidemiology of *Candida* species causing fungemia at a Saudi Arabian hospital, 1996–2004. **International journal of infectious diseases**, v. 11, n. 3, p. 239-244, 2007.

AL-TEKREETI, Afnan RA et al. Molecular identification of clinical *Candida* isolates by simple and randomly amplified polymorphic DNA-PCR. **Arabian Journal for Science and Engineering**, v. 43, n. 1, p. 163-170, 2018.

ANAISSIE, Elias J.; MCGINNIS, Michael R.; PFALLER, Michael A. **Clinical mycology**. Elsevier Health Sciences, 2009.

ANAISSIE, Elias J.; MCGINNIS, Michael R.; PFALLER, Michael A. Clinical mycology. **Annals of Internal Medicine**, v. 138, n. 9, p. 776, 2003.

ANDERSON, Matthew R.; KLINK, Kathleen; COHRSEN, Andreas. Evaluation of vaginal complaints. **Jama**, v. 291, n. 11, p. 1368-1379, 2004.

ARAÚJO, Adauto José Gonçalves de et al. Occurrence of onychomycosis among patients attended in dermatology offices in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 78, n. 3, p. 299-308, 2003.

ARAÚJO, Crystiane Rodrigues de et al. Identificação das leveduras do gênero *Candida* por métodos manuais convencionais e pelo método cromógeno CHROMagar *Candida*. 2005.

ARAÚJO, Daniela; HENRIQUES, Mariana; SILVA, Sônia. Portrait of *Candida* species biofilm regulatory network genes. *Trends in microbiology*, 2017, 25.1: 62-75.

ARENDRUP, M.; HORN, T.; FRIMODT-MØLLER, N. In vivo pathogenicity of eight medically relevant *Candida* species in an animal model. **Infection**, v. 30, n. 5, p. 286-291, 2002.

ARENDRUP, Maiken Cavling et al. National surveillance of fungemia in Denmark (2004 to 2009). **Journal of clinical microbiology**, v. 49, n. 1, p. 325-334, 2011

ARRUA, Juliana MM et al. Prevalence of *Candida tropicalis* and *Candida krusei* in onychomycosis in João Pessoa, Paraíba, Brazil from 1999 to 2010. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 3, p. 1819-1822, 2015.

ASADZADEH, Mohammad et al. Lack of detection of *Candida nivariensis* and *Candida bracarensis* among 440 clinical *Candida glabrata sensu lato* isolates in Kuwait. **PloS one**, v. 14, n. 10, 2019.

ANVISA, BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada-RDC Nº 166. 2017.

BACK-BRITO, Graziella Nuernberg. Presença de *Candida*, staphylococcus, enterobacteriaceae e pseudomonadaceae na cavidade bucal de pacientes HIV positivos. 2006.

BACK-BRITO, Graziella Nuernberg et al. Frequency of *Candida* spp. in the oral cavity of Brazilian HIV-positive patients and correlation with CD4 cell counts and viral load. **Mycopathologia**, v. 167, n. 2, p. 81-87, 2009.

BAGHERI, Farshad et al. *Candida parapsilosis* meningitis associated with shunt infection in an adult male. **Clinical neurology and neurosurgery**, v. 112, n. 3, p. 248-251, 2010.

BALLESTÉ, Raquel; MOUSQUÉS, Nélide; GEZUELE, Elbio. Onicomicosis: Revisión del tema. **Revista Médica del Uruguay**, v. 19, n. 2, p. 93-106, 2003.

BARBOSA, Fabiano Timbó et al. Uso do sulfato de magnésio por via venosa e nebulização para o tratamento da asma aguda na emergência. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 19, n. 3, p. 369-373, 2007

BARBOSA, SEVERINO et al. Comparação da eficácia da aroeira oral (*Schinus terebinthifolius* Raddi) com omeprazol em pacientes com gastrite e sintomas dispépticos: estudo randomizado e duplo-cego. **GED gastroenterol. endosc. dig**, v. 29, n. 4, p. 118-125, 2010.

BARBOSA, Pablio Adelino Estevam et al. Avaliação da funcionalidade dos excipientes de cápsulas de furosemida manipuladas nas farmácias de Manaus/AM. 2017.

BARD, Martin et al. Sterol uptake in *Candida glabrata*: rescue of sterol auxotrophic strains. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 52, n. 4, p. 285-293, 2005.

BD CHROMagar Orientation Medium, **Becton Dickinson GmbH**. INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO – MEIOS EM PLACAS PRONTOS A USAR - PA-257481.04,2019. <http://www.bd.com>,8pgs

BEEKMANN, S. E. et al. Effects of rapid detection of bloodstream infections on length of hospitalization and hospital charges. **Journal of clinical microbiology**, v. 41, n. 7, p. 3119-3125, 2003.

BECKER, Tânia Alves Canata; TEIXEIRA, Carla Regina de Souza; ZANETTI, Maria Lúcia. Diagnósticos de enfermagem em pacientes diabéticos em uso de insulina. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 61, n. 6, p. 847-852, 2008

BEN-AMI, Ronen et al. Antibiotic exposure as a risk factor for fluconazole-resistant *Candida* bloodstream infection. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 56, n. 5, p. 2518-2523, 2012.

BEYER, Reinhard, et al. Competition of *Candida glabrata* against *Lactobacillus* is Hog1 dependent. **Cellular microbiology**, 2018, 20.12: e12943..

BORMAN, Andrew M. et al. *Candida nivariensis*, an emerging pathogenic fungus with multidrug resistance to antifungal agents. **Journal of clinical microbiology**, v. 46, n. 3, p. 933-938, 2008..

BOVERS, Marjan; HAGEN, Ferry; BOEKHOUT, Teun. Diversity of the *Cryptococcus neoformans*-*Cryptococcus gattii* species complex. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 25, n. 1, p. S4, 2008

BRAND, Alexandra. Hyphal growth in human fungal pathogens and its role in virulence. **International journal of microbiology**, v. 2012.

BRILHANTE, R. S. N. et al. Onychomycosis in Ceará (Northeast Brazil): epidemiological and laboratory aspects. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 2, p. 131-135, 2005.

BROWN, Gordon D. et al. Hidden killers: human fungal infections. **Science translational medicine**, v. 4, n. 165, p. 165rv13-165rv13, 2012.

CAFARCHIA, C. et al. Occurrence of yeasts in cloacae of migratory birds. **Mycopathologia**, v. 161, n. 4, p. 229-234, 2006.

CAIRA, Morena et al. Uncommon yeast infections in hematological patients: from diagnosis to treatment. **Expert review of anti-infective therapy**, v. 9, n. 11, p. 1067-1075, 2011.

CALADO, Nicácia Barbosa et al. A 7-year survey of superficial and cutaneous mycoses in a public hospital in Natal, Northeast Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, n. 4, p. 1296-1299, 2011.

CAMPISI, Giuseppina et al. Candidal carriage in the oral cavity of human immunodeficiency virus–infected subjects. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 93, n. 3, p. 281-286, 2002.

CAMPOS, Gabrielle Christine de Souza et al. Avaliação da dor e do potencial analgésico do tramadol pós-injeção intraovariana de cloreto de cálcio em ratas. 2019.

CARROLL, Carthage J.; HURLEY, Rosalinde; STANLEY, Valerie C. Criteria for diagnosis of candida vulvovaginitis in pregnant women. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, v. 80, n. 3, p. 258-263, 1973.

CASTRO, Sybelle de Souza et al. Temporal trend of HIV/AIDS cases in the state of Minas Gerais, Brazil, 2007-2016. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 29, p. e2018387, 2020.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Global emergence of invasive infections caused by the multidrug-resistant yeast *Candida auris*. CDC; 2016 [updated June 24, 2016]. Available from: <http://www.cdc.gov/fungal/diseases/candidiasis/candida-auris-alert.html>.

CHANG, Ya-Lin et al. New facets of antifungal therapy. **Virulence**, v. 8, n. 2, p. 222-236, 2017.

CHAPELAND-LECLERC, Florence et al. Acquisition of flucytosine, azole, and caspofungin resistance in *Candida glabrata* bloodstream isolates serially obtained from a hematopoietic stem cell transplant recipient. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 54, n. 3, p. 1360-1362, 2010.

CHEN. et al. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections at a teaching hospital in Taiwan, 1981 to 1993. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 18, n. 5, p. 369-375, 1997.

CHEN, Y. C. et al. Identification of medically important yeasts using PCR-based detection of DNA sequence polymorphisms in the internal transcribed spacer 2 region of the rRNA genes. **Journal of clinical microbiology**, v. 38, n. 6, p. 2302-2310, 2000.

CHEN, Yi-Ching et al. Polymorphic internal transcribed spacer region 1 DNA sequences identify medically important yeasts. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 11, p. 4042-4051, 2001.

CHENG, Ming-Fang et al. Distribution and antifungal susceptibility of *Candida* species causing candidemia from 1996 to 1999. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 48, n. 1, p. 33-37, 2004.

CHIZZOLA, Paulo Roberto et al. Efeitos do carvedilol na insuficiência cardíaca por cardiomiopatia dilatada. Resultado do estudo duplo-cego, randômico, com grupo placebo-controle (Estudo CARIBE). **Arq Bras Cardiol**, v. 74, n. 3, p. 233-237, 2000

CLANCY, Cornelius J.; NGUYEN, M. Hong. Finding the “missing 50%” of invasive candidiasis: how nonculture diagnostics will improve understanding of disease spectrum and transform patient care. **Clinical infectious diseases**, v. 56, n. 9, p. 1284-1292, 2013

CLARK, Thomas A. et al. Epidemiologic and molecular characterization of an outbreak of *Candida parapsilosis* bloodstream infections in a community hospital. **Journal of clinical microbiology**, v. 42, n. 10, p. 4468-4472, 2004.

CLEFF, Marlete Brum et al. Isolation of *Candida* spp from vaginal microbiota of healthy canine females during estrous cycle. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 36, n. 2, p. 201-204, 2005.

COLEMAN, David C. et al. Candidiasis: the emergence of a novel species, *Candida dubliniensis*. **Aids**, v. 11, n. 5, p. 557-567, 1997.

COLOMBO, Arnaldo L. et al. Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. **Journal of clinical microbiology**, v. 44, n. 8, p. 2816-2823, 2006.

COLOMBO, Arnaldo L. et al. Prognostic factors and historical trends in the epidemiology of candidemia in critically ill patients: an analysis of five multicenter studies sequentially conducted over a 9-year period. **Intensive care medicine**, v. 40, n. 10, p. 1489-1498, 2014.

COLOMBO, Arnaldo L.; JÚNIOR, João N.; GUINEA, Jesus. Emerging multidrug-resistant *Candida* species. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 30, n. 6, p. 528-538, 2017.

CORZO-LEON, Dora E. et al. Surveillance of *Candida* spp bloodstream infections: epidemiological trends and risk factors of death in two Mexican tertiary care hospitals. **PloS one**, v. 9, n. 5, p. e97325, 2014.

CORRÊA, Paulo Roberto Lopes et al. Change in the profile of causes of death after investigation of hospital deaths in Belo Horizonte, Brazil, 2017. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 22, p. e19009. supl. 3, 2019

CORREIA, Alexandra et al. *Candida bracarensis* sp. nov., a novel anamorphic yeast species phenotypically similar to *Candida glabrata*. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 56, n. 1, p. 313-317, 2006.

COSTA, Carolina Rodrigues et al. Species distribution and antifungal susceptibility profile of oral *Candida* isolates from HIV-infected patients in the antiretroviral therapy era. **Mycopathologia**, v. 162, n. 1, p. 45, 2006

DA SILVA, Ocorrência de candidemia em pacientes internados em um Hospital Público Terciário em Goiânia- GO, pg 14, 2018

DA SILVA FERNANDES, Bárbara. FARMACOLOGIA E TOXICOLOGIA DA MORFINA. **ESCOLA POLITÉCNICA DE SAÚDE JOAQUIM VENÂNCIO** Diretora Anakeila de Barros Stauffer Vice-diretor de Ensino e Informação, p. 129.2018,

DE DEUS, Pablo Oliveira et al. Avaliação do uso de clonazepam pela população vinculada a uma unidade do Programa Saúde da Família em Teófilo Otoni–MG. 2011.

DE FILIPPIS, Francesca et al. Different amplicon targets for sequencing-based studies of fungal diversity. **Applied and environmental microbiology**, v. 83, n. 17, 2017.

DE FREITAS SOUZA, Eliane Alves et al. Frequência de onicomicoses por leveduras em Maringá, Paraná, Brasil. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 82, n. 2, p. 151-156, 2007.

D'EÇA JÚNIOR, Aurean et al. In vitro differential activity of phospholipases and acid proteinases of clinical isolates of *Candida*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 3, p. 334-338, 2011.

DELALOYE, Julie; CALANDRA, Thierry. Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient. **Virulence**, v. 5, n. 1, p. 161-169, 2014.

DE PAULA, Suelen Balero et al. Oral *Candida* colonization in HIV-infected patients in Londrina-PR, Brazil: antifungal susceptibility and virulence factors. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 9, n. 12, p. 1350-1359, 2015

DEORUKHKAR, Sachin C.; SAINI, Santosh; MATHEW, Stephen. Virulence factors contributing to pathogenicity of *Candida tropicalis* and its antifungal susceptibility profile. **International journal of microbiology**, v. 2014, 2014.

DESAI, Chirayu; MAVRIANOS, John; CHAUHAN, Neeraj. *Candida glabrata* Pwp7p and Aed1p are required for adherence to human endothelial cells. **FEMS yeast research**, v. 11, n. 7, p. 595-601, 2011.

DISMUKES, William E.; PAPPAS, Peter G.; SOBEL, Jack D. (Ed.). **Clinical mycology**. Oxford University press, USA, 2003.

DOI, André Mario et al. Epidemiology and microbiologic characterization of nosocomial candidemia from a Brazilian national surveillance program. **PLoS one**, v. 11, n. 1, p. e0146909, 2016.

DONK, M. A. Proposals for Conservation of Some Names of Fungi: *Monilia*'Bon.'(Deuteromycetes). I. **Taxon**, v. 12, n. 7, p. 266-271, 1963.

DOVIGO, Livia Nordi et al. Curcumin-mediated photodynamic inactivation of *Candida albicans* in a murine model of oral candidiasis. **Sabouraudia**, v. 51, n. 3, p. 243-251, 2013.

DUDIUK, Catiana et al. Detection of cryptic *Candida* species recognized as human pathogens through molecular biology techniques. **Current Fungal Infection Reports**, v. 11, n. 4, p. 176-183, 2017.

ECKERT, Linda O et al. Vulvovaginal candidiasis: clinical manifestations, risk factors, management algorithm. **Obstetrics & Gynecology**, v. 92, n. 5, p. 757-765, 1998.

ECKERT, Linda O. Acute vulvovaginitis. **New England Journal of Medicine**, v. 355, n. 12, p. 1244-1252, 2006.

EGGIMANN, Philippe; GARBINO, Jorge; PITTET, Didier. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. **The Lancet infectious diseases**, v. 3, n. 11, p. 685-702, 2003.

ELIAKIM-RAZ, Noa et al. Epidemiology, microbiology, clinical characteristics, and outcomes of candidemia in internal medicine wards—a retrospective study. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 52, p. 49-54, 2016.

ELISEI, R. M. T., **Infecções por leveduras do gênero *Candida* em pacientes imunossuprimidos**, 2009, f 17. Monografia do Curso de Especialização. Instituto de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Minas. Belo Horizonte, 2009.

EMARA, Maha et al. *Candida auris* candidemia in Kuwait, 2014. **Emerging infectious diseases**, v. 21, n. 6, p. 1091, 2015.

ENOCH, D. A.; LUDLAM, H. A.; BROWN, N. M. Invasive fungal infections: a review of epidemiology and management options. **Journal of medical microbiology**, v. 55, n. 7, p. 809-818, 2006.

ENOCH, David A. et al. The changing epidemiology of invasive fungal infections. In: **Human Fungal Pathogen Identification**. Humana Press, New York, NY, 2017. p. 17-65.

EPELBAUM, Oleg; CHASAN, Rachel. Candidemia in the intensive care unit. **Clinics in chest medicine**, v. 38, n. 3, p. 493-509, 2017.

ERKÖSE, Gonca; ERTURAN, Zayre. Oral Candida colonization of human immunodeficiency virus infected subjects in Turkey and its relation with viral load and CD4+ T-lymphocyte count. **Mycoses**, v. 50, n. 6, p. 485-490, 2007.

ESCRIBANO, Pilar et al. Endemic genotypes of Candida albicans causing fungemia are frequent in the hospital. **Journal of clinical microbiology**, v. 51, n. 7, p. 2118-2123, 2013

ESSENDUBI, Mohammed et al. Rapid identification of Candida species by FT-IR microspectroscopy. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1724, n. 3, p. 239-247, 2005.

FAERGEMANN, J.; BARAN, R. Epidemiology, clinical presentation and diagnosis of onychomycosis. **British Journal of Dermatology**, v. 149, n. s65, p. 1-4, 2003.

FARMAKIOTIS, Dimitrios; KONTOYIANNIS, Dimitrios P. Epidemiology of antifungal resistance in human pathogenic yeasts: current viewpoint and practical recommendations for management. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 50, n. 3, p. 318-324, 2017.

FERNÁNDEZ-RUIZ, Mario et al. Candida tropicalis bloodstream infection: incidence, risk factors and outcome in a population-based surveillance. **Journal of Infection**, v. 71, n. 3, p. 385-394, 2015.

FERREIRA, A.W.; AVILA, S.L.M. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e autoimunes. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1996. 302 p

FERRER, Consuelo et al. Detection and identification of fungal pathogens by PCR and by ITS2 and 5.8 S ribosomal DNA typing in ocular infections. **Journal of clinical microbiology**, v. 39, n. 8, p. 2873-2879, 2001.

FIDEL, Paul L.; VAZQUEZ, Jose A.; SOBEL, Jack D. Candida glabrata: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to C. albicans. **Clinical microbiology reviews**, v. 12, n. 1, p. 80-96, 1999.

FIGUEIREDO-CARVALHO, Maria Helena Galdino et al. First description of Candida nivariensis in Brazil: antifungal susceptibility profile and potential virulence attributes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 111, n. 1, p. 51-58, 2016.

FISCHER, Gayle; BRADFORD, Jennifer. Vulvovaginal candidiasis in postmenopausal women: the role of hormone replacement therapy. **Journal of lower genital tract disease**, v. 15, n. 4, p. 263-267, 2011

FLEISCHMANN, J., Broeckling, C. D., & Lyons, S. (2017). Candida krusei form mycelia along agar surfaces towards each other and other Candida species. *BMC microbiology*, 17(1), 60..

FONSECA, Francisco Antônio Helfenstein; FOLLADOR, Wilson. Farmacoeconomia e as vastatinas na doença cardiovascular. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 60, n. 6, p. 357-363, 2003.

FRANÇA, Denise de Brito et al. Sistemas baseados em magadeíta/diaminas alifáticas e magadeítas/ranitidina e suas aplicações. 2017.

FUENTES, Aline Schröter et al. Uso da Noradrenalina no Choque Séptico em Pediatria. 2004.

FURLAN, João Pedro Rueda; STEHLING, Eliana Guedes; PITONDO-SILVA, André. Importance of sequencing to determine functional blaTEM variants. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, n. 5, 2017.

GABLERI, Ilanna G. et al. Incidence and anatomic localization of oral candidiasis in patients with AIDS hospitalized in a public hospital in Belo Horizonte, MG, Brazil. **Journal of Applied Oral Science**, v. 16, n. 4, p. 247-250, 2008.

GANEM, Eliana M.; REIS, José MV; CASTIGLIA, Yara MM. Hiperpotassemia após Transfusão de Sangue. Relato de Caso. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 45, n. 5, p. 321-324, 1995.

GAJDÁCS, Márió et al. Epidemiology of candiduria and Candida urinary tract infections in inpatients and outpatients: Results from a 10-year retrospective survey. **Central European Journal of Urology**, v. 72, n. 2, p. 209, 2019.

GARCIA, Caio Pundek et al. Ressecção cirúrgica de calcinose sintomática em paciente com esclerose sistêmica. **Rev. bras. cir. plást**, p. 134-137, 2019.

GARCIA-EFFRON, Guillermo et al. Assessment of two new molecular methods for identification of Candida parapsilosis sensu lato species. **Journal of clinical microbiology**, v. 49, n. 9, p. 3257-3261, 2011.

GEIGER, Ann M.; FOXMAN, Betsy; GILLESPIE, Brenda W. The epidemiology of vulvovaginal candidiasis among university students. **American Journal of Public Health**, v. 85, n. 8_Pt_1, p. 1146-1148, 1995.

GILL, Christian M. et al. T2 Candida versus beta-D-glucan to facilitate antifungal discontinuation in the intensive care unit. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 95, n. 2, p. 162-165, 2019.

GIRMENIA, Corrado et al. *Candida guilliermondii* fungemia in patients with hematologic malignancies. **Journal of clinical microbiology**, v. 44, n. 7, p. 2458-2464, 2006.

GONÇALVES, Bruna et al. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology, microbiology and risk factors. **Critical reviews in microbiology**, v. 42, n. 6, p. 905-927, 2016.

GOULART, Letícia Silveira et al. Oral colonization by *Candida* species in HIV-positive patients: association and antifungal susceptibility study. **Einstein (Sao Paulo)**, v. 16, n. 3, 2018.

GOW, Neil AR et al. *Candida albicans* morphogenesis and host defence: discriminating invasion from colonization. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, n. 2, p. 112-122, 2012..

GOW, Neil AR; YADAV, Bhawna. Microbe Profile: *Candida albicans*: a shape-changing, opportunistic pathogenic fungus of humans. **Microbiology**, 2017.

GREGORY, R. K. et al. Systemic candidiasis with *Candida* vasculitis due to *Candida kruzei* in a patient with acute myeloid leukaemia. **Bone marrow transplantation**, v. 23, n. 1, 1999

GUERREIRO, Marilisa M. et al. Profilaxia intermitente na convulsão febril com diazepam via oral. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 50, n. 2, p. 163-167, 1992.

GUITARD, Juliette et al. Invasive infections due to *Candida norvegensis* and *Candida inconspicua*: report of 12 cases and review of the literature. **Medical mycology**, v. 51, n. 8, p. 795-799, 2013.

GUITARD, J. et al. *Candida inconspicua* and *Candida norvegensis*: New Insights into Identification in Relation to Sexual Reproduction and Genome Organization. **Journal of clinical microbiology**, v. 53, n. 5, p. 1655-1661, 2015.

GUPTA, R. K. Opportunistic infections in renal allograft recipients. In: **Transplantation proceedings**. Elsevier, 2007. p. 731-733.

GURGEL, José Alves. Avaliação dos efeitos antiinflamatórios dos antidepressivos clomipramina, amitriptilina e maprotilina. 2002

GUTIERREZ, J. et al. *Candida dubliniensis*, a new fungal pathogen. **Journal of basic microbiology**, v. 42, n. 3, p. 207-227, 2002.

GUZEL, Ahmet Barış et al. Evaluation of risk factors in patients with vulvovaginal candidiasis and the value of chromID *Candida* agar versus CHROMagar *Candida* for recovery and presumptive identification of vaginal yeast species. **Medical Mycology**, v. 49, n. 1, p. 16-25, 2011.

HACHEM, Ray et al. The changing epidemiology of invasive candidiasis. **Cancer**, v. 112, n. 11, p. 2493-2499, 2008.

HALAH, Fernanda PB et al. A utilização da octreotida subcutânea ou LAR como teste preditivo e no tratamento da acromegalia. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 48, n. 2, p. 245-252, 2004

HAMZA, Omar JM et al. Species distribution and in vitro antifungal susceptibility of oral yeast isolates from Tanzanian HIV-infected patients with primary and recurrent oropharyngeal candidiasis. **BMC microbiology**, v. 8, n. 1, p. 135, 2008.

HAZEN, Kevin C. New and emerging yeast pathogens. **Clinical microbiology reviews**, v. 8, n. 4, p. 462-478, 1995.

HAZEN, Kevin C. et al. Isolation of cholesterol-dependent *Candida glabrata* from clinical specimens. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 52, n. 1, p. 35-37, 2005.

HAWKINS, Jimmy L.; BADDOUR, Larry M. *Candida lusitanae* infections in the era of fluconazole availability. **Clinical Infectious Diseases**, v. 36, n. 2, p. e14-e18, 2003.

HIRAYAMA, Tatsuro et al. Clinical and Microbiological Characteristics of *Candida guilliermondii* and *Candida fermentati*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 62, n. 6, 2018.

HORDONHO, Ana Adélia Cavalcante; DOS SANTOS, Deborah Cristo; POWELL, Jessica Rêgo Ferreira. Perfil antropométrico e força muscular em adultos e idosos de um hospital público de referência em doenças infectocontagiosas em Maceió-AL (dados preliminares)/Anthropometric profile and muscular strength in adults and the elderly of a public reference hospital in infectious diseases in Maceió-AL (preliminary data). **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 2, p. 1245-1274, 2019.

HUF, Gisele; COUTINHO, Evandro Silva Freire; ADAMS, Clive Elliot. Haloperidol plus promethazine for agitated patients-a systematic review. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 31, n. 3, p. 265-270, 2009.

IBRAHIM, Ashraf S. et al. Evidence implicating phospholipase as a virulence factor of *Candida albicans*. **Infection and Immunity**, v. 63, n. 5, p. 1993-1998, 1995.

ILKIT, Macit; GUZEL, Ahmet Baris. The epidemiology, pathogenesis, and diagnosis of vulvovaginal candidosis: a mycological perspective. **Critical reviews in microbiology**, v. 37, n. 3, p. 250-261, 2011.

ISHIKANE, Masahiro et al. The impact of infectious disease consultation in candidemia in a tertiary care hospital in Japan over 12 years. **PloS one**, v. 14, n. 4, p. e0215996, 2019.

ISHITANI, Lenice Harumi et al. Quality of mortality statistics' information: garbage codes as causes of death in Belo Horizonte, 2011-2013. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 20, p. 34-45, 2017.

JACKSON, Andrew P. et al. Comparative genomics of the fungal pathogens *Candida dubliniensis* and *Candida albicans*. **Genome research**, v. 19, n. 12, p. 2231-2244, 2009.

JAFARI, Zahra et al. Comparison of CHROMagar, polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, and polymerase chain reaction-fragment size for the identification of *Candida* species. **Current medical mycology**, v. 3, n. 3, p. 10, 2017.

JÄRV, H. et al. Toenail onychomycosis in Estonia. **Mycoses**, v. 47, n. 1-2, p. 57-61, 2004.

JARVIS, William R. Epidemiology of nosocomial fungal infections, with emphasis on *Candida* species. **Clinical Infectious Diseases**, v. 20, n. 6, p. 1526-1530, 1995.

JIMENEZ-MEJIAS, M. E. et al. External cerebrospinal fluid diversion and *Candida parapsilosis* meningitis. Treatment with fluconazole. **Medicina clínica**, v. 100, n. 4, p. 156, 1993.

JUNQUEIRA, Juliana C. et al. Oral colonization by yeasts in HIV-positive patients in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 54, n. 1, p. 17-24, 2012.

KARIMI, Ladan et al. Molecular identification of uncommon clinical yeast species in Iran. **Current medical mycology**, v. 1, n. 2, p. 1, 2015

KATHURIA, Shallu et al. Multidrug-resistant *Candida auris* misidentified as *Candida haemulonii*: characterization by matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry and DNA sequencing and its antifungal susceptibility profile variability by Vitek 2, CLSI broth microdilution, and Etest method. **Journal of clinical microbiology**, v. 53, n. 6, p. 1823-1830, 2015.

KAUFFMAN, Carol A. et al. Prospective multicenter surveillance study of funguria in hospitalized patients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 30, n. 1, p. 14-18, 2000.

KAUFFMAN, Carol A.; Candiduria, *Clinical Infectious Diseases*, Volume 41, Issue Supplement_6, 15 September 2005, Pages S371–S376, <https://doi.org/10.1086/430918>.

KENNEDY, Melissa A.; SOBEL, Jack D. Vulvovaginal candidiasis caused by non-*albicans* *Candida* species: new insights. **Current infectious disease reports**, v. 12, n. 6, p. 465-470, 2010.

KHAN, Ziauddin et al. *Candida dubliniensis*: an appraisal of its clinical significance as a bloodstream pathogen. **PLoS One**, v. 7, n. 3, p. e32952, 2012.

KIBBLER, C. C. et al. Management and outcome of bloodstream infections due to *Candida* species in England and Wales. **Journal of Hospital Infection**, v. 54, n. 1, p. 18-24, 2003.

KIM, Jean O. et al. *Candida dubliniensis* infections in a pediatric population: retrospective identification from clinical laboratory isolates of *Candida albicans*. **Journal of clinical microbiology**, v. 41, n. 7, p. 3354-3357, 2003.

KIM, Mi-Na et al. *Candida haemulonii* and closely related species at 5 university hospitals in Korea: identification, antifungal susceptibility, and clinical features. **Clinical Infectious Diseases**, v. 48, n. 6, p. e57-e61, 2009.

KLEVAY, Michael J. et al. Therapy and outcome of *Candida glabrata* versus *Candida albicans* bloodstream infection. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 60, n. 3, p. 273-277, 2008.

KONEMAN, E. W. et al. Diagnóstico Microbiológico, Editora Médica e Científica Ltda. **RJ. 1465p**, 2001.

KRCMERY, V. et al. Nosocomial *Candida krusei* fungemia in cancer patients: report of 10 cases and review. **Journal of chemotherapy**, v. 11, n. 2, p. 131-136, 1999.

KUMAR, Anand et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. **Critical care medicine**, v. 34, n. 6, p. 1589-1596, 2006.

KURTZMAN C.P., FELL J.W, BOEKHOUT T. **Volume 2k. n 35. The Yeasts, a Taxonomic Study**., Oxford, Ed., Elsevier, 2011. pg 473 -474 www.elsevierdirect.com

KURTZMAN, Cletus P.; ROBNETT, Christie J. Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 73, n. 4, p. 331-371, 1998.

KURTZMAN, FELL e BOEKHOUT, **The Yeasts, a Taxonomic Study**, Fifth edition. Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo. Elsevier, ISBN: 978-0-123-84708-9 (Volume 1), 2011M

KWON-CHUNG, K. June; BENNETT, John Eugene. Medical mycology. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 34, n. 6, p. 504-504, 1992.

LACHANCE, Marc-André et al. Biogeography of the yeasts of ephemeral flowers and their insects. **FEMS yeast research**, v. 1, n. 1, p. 1-8, 2001.

LAFLEUR, Michael D.; KUMAMOTO, Carol A.; LEWIS, Kim. *Candida albicans* biofilms produce antifungal-tolerant persister cells. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 50, n. 11, p. 3839-3846, 2006

LAGE, Silvia G. et al. Estudo de segurança e eficácia da enoxaparina sódica na profilaxia e terapêutica antitrombótica. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 19, n. 1, p. 67-73, 2007

LATOUCHE, G. Nicolas et al. Comparison of use of phenotypic and genotypic characteristics for identification of species of the anamorph genus *Candida* and

related teleomorph yeast species. **Journal of clinical microbiology**, v. 35, n. 12, p. 3171-3180, 1997.

LEAW, Shiang Ning et al. Identification of medically important yeast species by sequence analysis of the internal transcribed spacer regions. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 3, p. 693-699, 2006.

LELEU, Ghislaine; AEGERTER, Philippe; GUIDET, Bertrand. Systemic candidiasis in intensive care units: a multicenter, matched-cohort study. **Journal of critical care**, v. 17, n. 3, p. 168-175, 2002.

LEVENTAKOS, Konstantinos; LEWIS, Russell E.; KONTOYIANNIS, Dimitrios P. Fungal infections in leukemia patients: how do we prevent and treat them?. **Clinical Infectious Diseases**, v. 50, n. 3, p. 405-415, 2010.

LI, Yu-Ye et al. Asymptomatic oral yeast carriage and antifungal susceptibility profile of HIV-infected patients in Kunming, Yunnan Province of China. **BMC infectious diseases**, v. 13, n. 1, p. 46, 2013.

LIM, Hyun-Woo et al. Biochemical characteristics, virulence traits and antifungal resistance of two major yeast species isolated from kefir: *Kluyveromyces marxianus* and *Saccharomyces unisporus*. **International Journal of Dairy Technology**, v. 72, n. 2, p. 275-281, 2019.

LIMA-NETO, Reginaldo et al. Application of MALDI-TOF MS for requalification of a *Candida* clinical isolates culture collection. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 2, p. 515-522, 2014.

LINDER, Nehama et al. Treatment of candidaemia in premature infants: comparison of three amphotericin B preparations. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 52, n. 4, p. 663-667, 2003.

LIN, Michael Y. et al. Prior antimicrobial therapy and risk for hospital-acquired *Candida glabrata* and *Candida krusei* fungemia: a case-case-control study. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 49, n. 11, p. 4555-4560, 2005.

LOCKHART, Shawn R. et al. *Lodderomyces elongisporus* masquerading as *Candida parapsilosis* as a cause of bloodstream infections. **Journal of clinical microbiology**, v. 46, n. 1, p. 374-376, 2008.

LONE, Shabir A.; AHMAD, Aijaz. *Candida auris*—the growing menace to global health. **Mycoses**, v. 62, n. 8, p. 620-637, 2019.

LUQUE, A. G. et al. Oral yeast carriage in HIV-infected and non-infected populations in Rosario, Argentina. **Mycoses**, v. 52, n. 1, p. 53-59, 2009..

MAGILL, Shelley S. et al. Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections. **New England Journal of Medicine**, v. 370, n. 13, p. 1198-1208, 2014.

MAGOBO, Rindidzani E. et al. Candida auris–associated candidemia, South Africa. **Emerging infectious diseases**, v. 20, n. 7, p. 1250, 2014.

MAHELOVÁ, Martina; RŮŽIČKA, Filip. Methods of Candida dubliniensis identification and its occurrence in human clinical material. *Folia microbiologica*, 2017, 62.5: 401-408.

MAJOROS, L. et al. Restriction enzyme analysis of ribosomal DNA shows that Candida inconspicua clinical isolates can be misidentified as Candida norvegensis with traditional diagnostic procedures. **Journal of clinical microbiology**, v. 41, n. 11, p. 5250-5253, 2003.

MÅRDH, Per-Anders et al. Facts and myths on recurrent vulvovaginal candidosis—a review on epidemiology, clinical manifestations, diagnosis, pathogenesis and therapy. 2002.

MARGIOTTA, V.; CAMPISI, G.; MANCUSO, S. Plasma HIV-1 RNA and route of transmission in oral candidiasis and oral hairy leukoplakia. **Oral diseases**, v. 6, n. 3, p. 194-195, 2000.

MARKLEIN, G. et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for fast and reliable identification of clinical yeast isolates. **Journal of clinical microbiology**, v. 47, n. 9, p. 2912-2917, 2009.

MARTIN, Greg S. et al. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. **New England Journal of Medicine**, v. 348, n. 16, p. 1546-1554, 2003.

MASALA, L. et al. Nosocomial cluster of Candida guilliermondii fungemia in surgical patients. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 22, n. 11, p. 686-688, 2003.

MAURYA, Vijeta et al. Oropharyngeal candidiasis and Candida colonization in HIV positive patients in northern India. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 7, n. 08, p. 608-613, 2013.

MAYER, François L.; WILSON, Duncan; HUBE, Bernhard. Candida albicans pathogenicity mechanisms. **Virulence**, v. 4, n. 2, p. 119-128, 2013.

MCCARTY, Todd P.; PAPPAS, Peter G. Invasive candidiasis. **Infectious Disease Clinics**, v. 30, n. 1, p. 103-124, 2016.

MELO, N. R. et al. Oral Candida flora from Brazilian human immunodeficiency virus-infected patients in the highly active antiretroviral therapy era. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 4, p. 425-431, 2004.

MELO, Viviane Vieira; DUARTE, Izabel de Paula; SOARES, Amanda Queiroz. Guia de antimicrobianos. **Guia–Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás. Goiânia**, 2012.

MENDES, Carlos Alberto Caldeira; BURDMANN, Emmanuel A. Polimixinas: revisão com ênfase na sua nefrotoxicidade. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 55, n. 6, p. 752-759, 2009

MENEZES, Ralciane de Paula et al. Related factors for colonization by *Candida* species in the oral cavity of HIV-infected individuals. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, n. 5, p. 413-419, 2015.

MENESES, Matheus da Silva. Estudo da performance na degradação fotocatalítica e fotolítica do fármaco Aciclovir utilizando semicondutores de TiO₂. 2019.

MERCANTINI, Rinaldo; MARSELLA, Renato; MORETTO, Domenico. Onychomycosis in Rome, Italy. **Mycopathologia**, v. 136, n. 1, p. 25-32, 1996.

MIXÃO, Verónica et al. Whole-genome sequencing of the opportunistic yeast pathogen *Candida inconspicua* uncovers its hybrid origin. **Frontiers in genetics**, v. 10, p. 383, 2019.

MOKADDAS, E. M. et al. Candidemia in pediatric surgery patients. **Journal of chemotherapy**, v. 12, n. 4, p. 332-338, 2000.

MORALEZ, Alane TP et al. Phenotypic switching in *Candida tropicalis*: association with modification of putative virulence attributes and antifungal drug sensitivity. **Medical mycology**, v. 52, n. 1, p. 106-114, 2013.

MORGAN, Juliette. Global trends in candidemia: review of reports from 1995–2005. **Current infectious disease reports**, v. 7, n. 6, p. 429-439, 2005.

MOTA, Letícia M. et al. Uso racional de antimicrobianos. **Medicina (Ribeirao Preto. Online)**, v. 43, n. 2, p. 164-172, 2010

MUTUA, F.; REVATHI, G.; MACHOKI, J. M. Species distribution and antifungal sensitivity patterns of vaginal yeasts. **East African medical journal**, v. 87, n. 4, p. 156-162, 2010.

NAVARRO, E. E. et al. Detection of *Candida* casts in experimental renal candidiasis: implications for the diagnosis and pathogenesis of upper urinary tract infection. **Journal of medical and veterinary mycology**, v. 32, n. 6, p. 415-426, 1994.

NEGRI, M. et al. Insights into *Candida tropicalis* nosocomial infections and virulence factors. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases**, v. 31, n. 7, p. 1399-1412, 2012.

NEELY, Lori A. et al. T2 magnetic resonance enables nanoparticle-mediated rapid detection of candidemia in whole blood. **Science translational medicine**, v. 5, n. 182, p. 182ra54-182ra54, 2013.

NETA, Naiayde Monte Almeida et al. Análise do índice de amplificação sistólico em pacientes acima de 55 anos utilizando atenolol associado ou não a diurético. **Rev Bras Cardiol**, v. 25, n. 1, p. 35-40, 2012.

NEUFELD, Paulo Murillo et al. Nosocomial candidiasis in Rio de Janeiro State: distribution and fluconazole susceptibility profile. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 2, p. 477-484, 2015.

NEVES-JUNIOR, Athayde et al. Prevalence and fluconazole susceptibility profile of *Candida* spp. clinical isolates in a Brazilian tertiary hospital in Minas Gerais, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 2, p. 1349-1359, 2015.

NOBILE, Clarissa J.; JOHNSON, Alexander D. *Candida albicans* biofilms and human disease. **Annual review of microbiology**, v. 69, p. 71-92, 2015.

NYIRJESY, Paul et al. Chronic fungal vaginitis: the value of cultures. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 173, n. 3, p. 820-823, 1995.

OCHOA, Martha Azucena Delgado. Uso de Midazolam en unidades de terapia intensiva pediátrica. **Investigación en salud**, v. 9, n. 1, p. 8-9, 2007

ODDS, Frank C.; BERNAERTS, R. I. A. CHROMagar *Candida*, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. **Journal of clinical microbiology**, v. 32, n. 8, p. 1923-1929, 1994.

ODDS, Frank C. et al. One year prospective survey of *Candida* bloodstream infections in Scotland. **Journal of medical microbiology**, v. 56, n. 8, p. 1066-1075, 2007.

OKUNGBOWA, Francisca I.; ISIKHUEMEN, O. S.; DEDE, Alice PO. The distribution frequency of *Candida* species in the genitourinary tract among symptomatic individuals in Nigerian cities. **Revista iberoamericana de micología**, v. 20, n. 2, p. 60-63, 2003.

OTAŠEVIĆ, Suzana et al. The prevalence of *Candida* onychomycosis in Southeastern Serbia from 2011 to 2015. **Mycoses**, v. 59, n. 3, p. 167-172, 2016.

OXMAN, David A. et al. *Candidaemia* associated with decreased in vitro fluconazole susceptibility: is *Candida* speciation predictive of the susceptibility pattern?. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 65, n. 7, p. 1460-1465, 2010.

OZCAN, Kadri et al. Performance of Chromogenic *Candida* agar and CHROMagar *Candida* in recovery and presumptive identification of monofungal and polyfungal vaginal isolates. **Medical mycology**, v. 48, n. 1, p. 29-34, 2010.

PAPPAS, Peter G. et al. Clinical practice guidelines for the management candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical infectious diseases**, v. 48, n. 5, p. 503-535, 2009.

PAPPAS, Peter G. et al. Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 62, n. 4, p. e1-e50, 2015.

PAPPAS, Peter G. et al. Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 62, n. 4, p. e1-e50, 2016.

PASTERNAK, Jacyr. Novas metodologias de identificação de micro-organismos: MALDITOF. **Einstein (16794508)**, v. 10, n. 1, 2012

PATTON, Lauren L. et al. Oral hairy leukoplakia and oral candidiasis as predictors of HIV viral load. **Aids**, v. 13, n. 15, p. 2174, 1999.

PELEGRINI, Andreia et al. Incidence of dermatophytosis in a public hospital of São Bernardo do Campo, São Paulo State, Brazil. **Revista iberoamericana de micologia**, v. 26, n. 2, p. 118-120, 2009.

PELLETIER, René et al. Emergence of disseminated candidiasis caused by *Candida krusei* during treatment with caspofungin: case report and review of literature. **Medical mycology**, v. 43, n. 6, p. 559-564, 2005.

PEMÁN, Javier et al. Epidemiology, species distribution and in vitro antifungal susceptibility of fungaemia in a Spanish multicentre prospective survey. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 67, n. 5, p. 1181-1187, 2012.

PEMAN, Javier; ZARAGOZA, Rafael; SALAVERT, Miguel. Prevention and control of nosocomial and health-care facilities associated infections caused by species of *Candida* and other yeasts. **Revista española de quimioterapia: publicación oficial de la Sociedad Española de Quimioterapia**, v. 26, n. 4, p. 298-311, 2013.

PFALLER, M. A. et al. *Candida guilliermondii*, an opportunistic fungal pathogen with decreased susceptibility to fluconazole: geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK antifungal surveillance program. **Journal of clinical microbiology**, v. 44, n. 10, p. 3551-3556, 2006.

PFALLER, M. A. et al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997-2005: An 8.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* and other yeast species to fluconazole and voriconazole by CLSI standardized disk diffusion testing. **Journal of clinical microbiology**, 2007.

PFALLER, M. A. et al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. **Journal of clinical microbiology**, v. 48, n. 4, p. 1366-1377, 2010.

PFALLER, Michael A. et al. Variation in *Candida* spp. distribution and antifungal resistance rates among bloodstream infection isolates by patient age: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2008–2009). **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 68, n. 3, p. 278-283, 2010a

PFALLER, Michael A. et al. Triazole and echinocandin MIC distributions with epidemiological cutoff values for differentiation of wild-type strains from non-wild-type strains of six uncommon species of *Candida*. **Journal of clinical microbiology**, v. 49, n. 11, p. 3800-3804, 2011.

PFALLER, Michael A. et al. Clinical breakpoints for voriconazole and *Candida* spp. revisited: review of microbiologic, molecular, pharmacodynamic, and clinical data as they pertain to the development of species-specific interpretive criteria. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 70, n. 3, p. 330-343, 2011a.

PFALLER, M. A. et al. Clinical breakpoints for the echinocandins and *Candida* revisited: integration of molecular, clinical, and microbiological data to arrive at species-specific interpretive criteria. **Drug Resistance Updates**, v. 14, n. 3, p. 164-176, 2011b.

PFALLER, M. A. et al. Frequency of decreased susceptibility and resistance to echinocandins among fluconazole-resistant bloodstream isolates of *Candida glabrata*. **Journal of clinical microbiology**, v. 50, n. 4, p. 1199-1203, 2012.

PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J. Twelve years of fluconazole in clinical practice: global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of bloodstream isolates of *Candida*. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 10, n. s1, p. 11-23, 2004.

PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J.; SHEEHAN, D. J. Interpretive breakpoints for fluconazole and *Candida* revisited: a blueprint for the future of antifungal susceptibility testing. **Clinical microbiology reviews**, v. 19, n. 2, p. 435-447, 2006

PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. **Clinical microbiology reviews**, v. 20, n. 1, p. 133-163, 2007.

PFALLER, Michael A.; DIEKEMA, Daniel J. Epidemiology of invasive mycoses in North America. **Critical reviews in microbiology**, v. 36, n. 1, p. 1-53, 2010.

PINEDA, Norma I. Soza et al. Quimioprofilaxia na prevenção da tuberculose. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 30, n. 4, p. 395-405, 2004

PINHO RESENDE, J. C.; DE RESENDE, M. A.; SALIBA, J. L. Prevalence of *Candida* spp. in hospitalized patients and their risk factors. **Mycoses**, v. 45, n. 7-8, p. 306-312, 2002.

PITARCH, Aida; NOMBELA, César; GIL, Concha. Diagnosis of invasive candidiasis: from gold standard methods to promising leading-edge technologies. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 18, n. 16, p. 1375-1392, 2018.

PONTES, Z. B. et al. Onychomycosis in Joao Pessoa City, Brazil. **Revista Argentina de microbiologia**, v. 34, n. 2, p. 95-99, 2002.

PUBLIC HEALTH ENGLAND. *Candida auris* identified in England. 2016 [cited 2016 Jul 1]. <https://www.gov.uk/government/publications/candida-auris-emergence-in-england/candida-auris-identified-in-england>

PUTIGNANI, Lorenza et al. MALDI-TOF mass spectrometry proteomic phenotyping of clinically relevant fungi. **Molecular BioSystems**, v. 7, n. 3, p. 620-629, 2011.

QIAN, Jiang et al. MALDI-TOF mass signatures for differentiation of yeast species, strain grouping and monitoring of morphogenesis markers. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 392, n. 3, p. 439-449, 2008.

QUINTEROS, Roxanna et al. Uso de anfotericina B deoxicolato y sus reacciones adversas en un hospital universitario en Chile. **Revista chilena de infectología**, v. 27, n. 1, p. 25-33, 2010

RAHMATI, Elham; CORREA, Adrian J.; SHE, Rosemary C. A budding case of infectious endocarditis: *Candida lusitanae*. *IDCases*, 2020, 19.

REDONDO, Enrique; NOCEA, Gonzalo. Análisis coste-efectividad de ertapenem (Invanz®) en infecciones intraabdominales frente a piperacilina/tazobactam. **Rev Esp Econ Salud**, v. 2, n. 6, p. 306-310, 2003

REICHART, P. A.; SAMARANAYAKE, L. P.; PHILIPSEN, H. P. Pathology and clinical correlates in oral candidiasis and its variants: a review. **Oral diseases**, v. 6, n. 2, p. 85-91, 2000.

REINHARDT, Leandro Calcagno et al. A single-center 18-year experience with oral candidiasis in Brazil: a retrospective study of 1,534 cases. **Brazilian oral research**, v. 32, 2018.

REZUSTA, Antonio et al. Cholesterol dependent and Amphotericin B resistant isolates of a *Candida glabrata* strain from an Intensive Care Unit patient. **Medical mycology**, v. 46, n. 3, p. 265-268, 2008.

RICHTER, Sandra S. et al. Antifungal susceptibilities of *Candida* species causing vulvovaginitis and epidemiology of recurrent cases. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 5, p. 2155-2162, 2005/

RODRIGUES, Acácio Gonçalves et al. Expression of plasma coagulase among pathogenic *Candida* species. **Journal of clinical microbiology**, v. 41, n. 12, p. 5792-5793, 2003.

ROMANO, Clara; GIANNI, Claudia; DIFONZO, Elisa M. Retrospective study of onychomycosis in Italy: 1985–2000. **Mycoses**, v. 48, n. 1, p. 42-44, 2005.

RÖRIG, Kelly Cristina Ortolan; COLACITE, Jean; ABEGG, Maxwel Adriano. Production of virulence factors in vitro by pathogenic species of the genus *Candida*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 2, p. 225-227, 2009

- SAMARANAYAKE, Lakshman P.; HOLMSTRUP, Palle. Oral candidiasis and human immunodeficiency virus infection. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 18, n. 10, p. 554-564, 1989.
- SAMARANAYAKE, Yuthika H.; SAMARANAYAKE, L. P. *Candida krusei*: biology, epidemiology, pathogenicity and clinical manifestations of an emerging pathogen. **Journal of medical microbiology**, v. 41, n. 5, p. 295-310, 1994.
- SARAVU, Kavitha et al. Therapeutic assessment of chloroquine-primaquine combined regimen in adult cohort of Plasmodium vivax malaria from primary care centres in southwestern India. **PLoS One**, v. 11, n. 6, 2016
- SARDI, J. C. O. et al. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. **Journal of medical microbiology**, v. 62, n. 1, p. 10-24, 2013.
- SARMA, Smita; UPADHYAY, Shalini. Current perspective on emergence, diagnosis and drug resistance in *Candida auris*. **Infection and Drug Resistance**, v. 10, p. 155, 2017.
- SATOH, Kazuo et al. *Candida auris* sp. nov., a novel ascomycetous yeast isolated from the external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital. **Microbiology and immunology**, v. 53, n. 1, p. 41-44, 2009.
- SAV, Hafize et al. The frequency, antifungal susceptibility and enzymatic profiles of *Candida* species in cases of onychomycosis infection. **Microbial pathogenesis**, v. 116, p. 257-262, 2018.
- SAVILLE, Stephen P. et al. Use of a genetically engineered strain to evaluate the pathogenic potential of yeast cell and filamentous forms during *Candida albicans* systemic infection in immunodeficient mice. **Infection and immunity**, v. 76, n. 1, p. 97-102, 2008.
- SAVINI, Vincenzo et al. What do we know about *Candida guilliermondii*? A voyage throughout past and current literature about this emerging yeast. **Mycoses**, v. 54, n. 5, p. 434-441, 2011.
- SCHABERG, Dennis R.; CULVER, David H.; GAYNES, Robert P. Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. **The American journal of medicine**, v. 91, n. 3, p. S72-S75, 1991.
- SCHIAFFINO, Santiago et al. Uso de oseltamivir durante la pandemia de gripe A (H1N1): análisis de las reacciones adversas reportadas al sistema nacional de farmacovigilancia de ANMAT. **Rev Argent Salud Púb**, v. 1, n. 4, p. 20-5, 2010
- SELVARANGAN, Rangaraj et al. Rapid identification of commonly encountered *Candida* species directly from blood culture bottles. **Journal of clinical microbiology**, v. 41, n. 12, p. 5660-5664, 2003.

SENDID, Boualem et al. Prospective evaluation of the new chromogenic medium CandiSelect 4 for differentiation and presumptive identification of the major pathogenic *Candida* species. **Journal of medical microbiology**, v. 56, n. 4, p. 495-499, 2007.

SHIN, Jong Hee et al. 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

SHETTY, N. et al. Guidance for the laboratory investigation, management and infection prevention and control for cases of *Candida auris*. **Public Health England**, 2016.

SIDRIM, José Júlio Costa; ROCHA, Marcos Fábio Gadelha. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**. Guanabara Koogan, 2004.

SINGH, Shivani et al. Vaginitis due to *Candida krusei*: epidemiology, clinical aspects, and therapy. **Clinical infectious diseases**, v. 35, n. 9, p. 1066-1070, 2002

SILVA, Sónia et al. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. **FEMS microbiology reviews**, v. 36, n. 2, p. 288-305, 2012.

SILVA-BEDOYA, L. M.; RAMÍREZ-CASTRILLÓN, M.; OSORIO-CADAVID, E. Yeast diversity associated to sediments and water from two Colombian artificial lakes. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 1, p. 135-142, 2014.

SOBEL, Jack D. Epidemiology and pathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 152, n. 7, p. 924-935, 1985.

SOBEL, Jack D. et al. Vulvovaginal candidiasis: epidemiologic, diagnostic, and therapeutic considerations. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 178, n. 2, p. 203-211, 1998.

SOBEL, Jack D. Vulvovaginal candidosis. **The Lancet**, v. 369, n. 9577, p. 1961-1971, 2007.

SPINILLO, Arsenio et al. Prevalence of and risk factors for fungal vaginitis caused by non-albicans species. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 176, n. 1, p. 138-141, 1997.

STAIB, P.; MORSCHHÄUSER, J. Chlamyospore formation on Staib agar as a species-specific characteristic of *Candida dubliniensis*. **Mycoses**, v. 42, n. 9-10, p. 521-524, 1999.

STAIB, Peter; MORSCHHÄUSER, Joachim. Chlamyospore formation in *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*—an enigmatic developmental programme. **Mycoses**, v. 50, n. 1, p. 1-12, 2007.

STENDER, Henrik. PNA FISH: an intelligent stain for rapid diagnosis of infectious diseases. **Expert review of molecular diagnostics**, v. 3, n. 5, p. 649-655, 2003.

STEIN, Cinara et al. Amiodarone for arrhythmia in patients with Chagas disease: A systematic review and individual patient data meta-analysis. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 12, n. 8, p. e0006742, 2018

STORFER, Stephen P. et al. Candiduria: Retrospective Review in Hospitalized Patients. **Infectious Diseases in Clinical Practice**, v. 3, n. 1, p. 23-29, 1994.

SUDHAN, Shashi S. et al. Identification of Candida Species in the Clinical Laboratory: A review of conventional, commercial and molecular techniques. **International Journal of Medical Research Professionals**, v. 2, n. 6, p. 1-8, 2016.

SULLIVAN, Derek J. et al. Candida dubliniensis sp. nov.: phenotypic and molecular characterization of a novel species associated with oral candidosis in HIV-infected individuals. **Microbiology**, v. 141, n. 7, p. 1507-1521, 1995.

SULLIVAN, Derek; COLEMAN, David. Candida dubliniensis: characteristics and identification. **Journal of clinical microbiology**, v. 36, n. 2, p. 329-334, 1998.

SULLIVAN, Derek J.; MORAN, Gary P.; COLEMAN, David C. Candida dubliniensis: ten years on. **FEMS microbiology letters**, v. 253, n. 1, p. 9-17, 2005.

ŠVEC, Pavel et al. Identification of Staphylococcus spp. using (GTG) 5-PCR fingerprinting. **Systematic and applied microbiology**, v. 33, n. 8, p. 451-456, 2010

TADIMETY, Amogha et al. Design of peptide nucleic acid probes on plasmonic gold nanorods for detection of circulating tumor DNA point mutations. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 130, p. 236-244, 2019.

TAJ-ALDEEN, Saad J. et al. Molecular analysis of resistance and detection of non-wild-type strains using etest epidemiological cutoff values for amphotericin B and echinocandins for bloodstream candida infections from a tertiary hospital in Qatar. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 62, n. 9, 2018.

TAVANTI, Arianna et al. Candida orthopsilosis and Candida metapsilosis spp. nov. to replace Candida parapsilosis groups II and III. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 1, p. 284-292, 2005.

TERAPÊUTICAS, ATUAL E. IMPLICAÇÕES. INSUFICIÊNCIA CARDÍACA-FISIOPATOLOGIA. **Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo**, v. 28, n. 1, p. 33-41, 2018.

THEEL, Elitza S.; DOERN, Christopher D. Point-counterpoint: β -d-Glucan testing is important for diagnosis of invasive fungal infections. **Journal of clinical microbiology**, v. 51, n. 11, p. 3478-3483, 2013.

TORTORANO, A. M. et al. Candidosis in the intensive care unit: a 20-year survey. **Journal of Hospital Infection**, v. 57, n. 1, p. 8-13, 2004.

TOSTI, A.; HAY, R.; ARENAS-GUZMÁN, R. Patients at risk of onychomycosis—risk factor identification and active prevention. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 19, n. s1, p. 13-16, 2005.

TÓTH, Renáta et al. Candida parapsilosis: from genes to the bedside. **Clinical microbiology reviews**, v. 32, n. 2, p. e00111-18, 2019.

TRICK, W. E. et al. Secular trend of hospital-acquired candidemia among intensive care unit patients in the United States during 1989–1999. **Clinical infectious diseases**, v. 35, n. 5, p. 627-630, 2002.

TROFA, David; GÁCSEK, Attila; NOSANCHUK, Joshua D. Candida parapsilosis, an emerging fungal pathogen. **Clinical microbiology reviews**, v. 21, n. 4, p. 606-625, 2008.

TSANG, Paul Wai-Kei et al. Purpurin triggers caspase-independent apoptosis in Candida dubliniensis biofilms. **PloS one**, v. 8, n. 12, p. e86032, 2013.

VARIABILITY by Vitek 2, CLSI broth microdilution, and Etest method. **Journal of clinical microbiology**, v. 53, n. 6, p. 1823-1830, 2015.

VAZ, Aline BM et al. Antimicrobial activity of endophytic fungi associated with Orchidaceae in Brazil. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 55, n. 12, p. 1381-1391, 2009.

VECCHIONE, Alessandra et al. Comparative evaluation of six chromogenic media for presumptive yeast identification. **Journal of clinical pathology**, v. 70, n. 12, p. 1074-1078, 2017.

VERSALOVIC, James et al. Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence-based polymerase chain reaction. **Methods in molecular and cellular biology**, v. 5, n. 1, p. 25-40, 1994.

WAYNE, P. Clinical and Laboratory Standards Institute: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard-; CLSI document M27-A3. **CLSI 2008a**, v. 28, p. 6-12, 2008

WEEMS JR, J. John. Candida parapsilosis: epidemiology, pathogenicity, clinical manifestations, and antimicrobial susceptibility. **Clinical infectious diseases**, v. 14, n. 3, p. 756-766, 1992.

WEINBERGER, M. et al. Correlation between candiduria and departmental antibiotic use. **Journal of Hospital Infection**, v. 53, n. 3, p. 183-186, 2003.

WIID, I. J. et al. Oligonucleotide (GTG)₅ as a marker for Mycobacterium tuberculosis strain identification. **Journal of clinical microbiology**, v. 32, n. 5, p. 1318-1321, 1994.

WISPLINGHOFF, Hilmar et al. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. **Clinical infectious diseases**, v. 39, n. 3, p. 309-317, 2004.

XESS, I. et al. Epidemiology of candidemia in a tertiary care centre of north India: 5-year study. **Infection**, v. 35, n. 4, p. 256, 2007.

YANG, Peizhou et al. Cell regeneration and cyclic catalysis of engineered *Kluyveromyces marxianus* of a d-psicose-3-epimerase gene from *Agrobacterium tumefaciens* for d-allulose production. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 34, n. 5, p. 65, 2018.

YAZDANI, M. R.; FOROUGHIFAR, E.; MOHAMMADI, R. Identification of *Candida* species isolated from renal transplant recipients with candiduria. **International journal of organ transplantation medicine**, v. 7, n. 4, p. 206, 2016.

ZANARDI, Daniela et al. Avaliação dos métodos diagnósticos para onicomicose Evaluation of the diagnostic methods of onychomycosis. **An Bras Dermatol**, v. 83, n. 2, p. 119-24, 2008.

ZHAO, Liang et al. Prospective evaluation of the chromogenic medium CandiSelect 4 for differentiation and presumptive identification of non-*Candida albicans* *Candida* species. **Fungal biology**, v. 120, n. 2, p. 173-178, 2016.

ZUBARAN, Carlos et al. Aspectos clínicos e neuropatológicos da síndrome de Wernicke-Korsakoff. **Revista de Saúde Pública**, v. 30, p. 602-608, 1996.

APÊNDICE

Código do isolado UFMGCB	Amostra clínica	Identificação prévia realizada pelas análises das identificações presuntivas de CHROMágar Candida® HEM	Identificação prévia realizada pelas análises das identificações presuntivas de CHROMágar Candida® HJK	Identificação presuntiva usando CRHOMágar- (UFMG)	Identificação final por biologia molecular
UFMGCB 1 LFG 24166 HE M	escarro	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 2 LFG 24389 HEM	líquor	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 3 LFG 26192 HEM	Urina	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 6 LFG 27463 HEM	Urina	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Candida tropicalis</i>	-
UFMGCB 8 LFG 28158 HEM	aspirado medulla óssea	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 9 LFG 30304 HEM	escarro	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 10 LFG 30286	escarro	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>

HEM					
UFMGCB 11 LFG 30701 HEM	escarro	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Não identificado</i>	-
UFMGCB 14 LFG 30951 HEM	escarro	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 16 LFG 31126 HEM	urina	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Não identificado</i>	<i>Candida glabrata</i>
UFMGCB 18 LFG 31558 HEM	escarro	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 19 LFG 32092 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 21 LFG 32846 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida dubliniensis</i>
UFMGCB 22 LFG 32899 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 24 LFG 34671 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 25 LFG 34887 HEM	urina	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-

UFMGCB 26 LFG 34689 HEM	escarro	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 27 LFG 34989 HEM	urina	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 28 LFG 35168 HEM	urina	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 29 LFG 35168 HEM	escarro	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB UFMGCB 30 LFG 36544 HEM	urina	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 31 LFG 39429 HEM	sangue	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 32 LFG 40785 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 33 LFG 40711 HEM	urina	<i>Candida</i> spp.	-	Não identificado	<i>Candida glabrata</i>
UFMGCB 34 LFG 40830 HEM	Urina	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-

UFMGCB 35 LFG 39278/1 HEM	urina	<i>Candida</i> spp.	-	Não identificado	<i>Kluyveromyces</i> <i>marxianus</i>
UFMGCB 36 LFG 42241/1 HEM	sangue	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Candida</i> <i>tropicalis</i>	-
UFMGCB 38 LFG 36907/1 HEM	minibal	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	-	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 39 LFG 37257/1 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	-	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 40 LFG 38532/1 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	-	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	-
UFMGCB 40 LFG 38532/3 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	-	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	-
UFMGCB 43 LFG 37608/1 HEM	escarro	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	-	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 43 LFG 37608/3 HEM	escarro	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	-	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 45 LFG 30135/1 HEM	minibal	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	-	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	-
UFMGCB 46 LFG	lavado brônquio	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	-	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	<i>Candida albicans</i>

39608/1 HEM	alveolar				
UFMGCB 46 LFG 39608/2 HEM	lavado brônquio alveolar	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 46 LFG 39608/3 HEM	lavado brônquio alveolar	<i>Candida albicans</i>		<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 47 LFG 49113/2 HEM	urina	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 48 LFG 44548/1 HEM	escarro	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 49 LFG 45637/1 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 50 LFG 47347/1 HEM	urina	<i>Candida spp.</i>	-	<i>Candida tropicalis</i>	-
UFMGCB 51 LFG 45543/1 HEM	fezes	<i>Candida spp.</i>	-	<i>Candida tropicalis</i>	-
UFMGCB 51 LFG 45543/3 HEM	fezes	<i>Candida spp.</i>	-	<i>Não identificado</i>	<i>Candida tropicalis</i>
UFMGCB 51 LFG 45543/4 HEM	fezes	<i>Candida spp.</i>	-	<i>Candida tropicalis</i>	-

UFMGCB 52 LFG 48135/1 HEM	escarro	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Não identificado</i>	-
UFMGCB 57 LFG 51064/1 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 58 LFG 42609/1 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 59 LFG 52705/1 HEM	Swab orofaringe	<i>Candida krusei</i>	-	<i>Candida krusei</i>	-
UFMGCB 60 LFG 51621/1 HEM	urina	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 61 LFG 50803/1 HEM	urina	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 66 LFG 54050/1 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 67 LFG 53122/1 HEM	urina	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Candida tropicalis</i>	-
UFMGCB 68 LFG 56653/2 HEM	urina	Provável <i>C.krusei</i>	-	<i>Não identificado</i>	-
UFMGCB 69 LFG	urina	Provável <i>C.krusei</i>	-	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida glabrata</i>

57203/1 HEM					
UFMGCB 69 LFG 57203/2 HEM	urina	Provável <i>C.krusei</i>	-	<i>Candida tropicalis</i>	-
UFMGCB 70 LFG 53249/1 HEM	biopsia lesão MID	<i>Candida</i> spp.	-	Não identificado	-
UFMGCB 71 LFG 51841/2 HEM	aspirado traqueal	Provável <i>C.krusei</i>	-	<i>Candida tropicalis</i>	-
UFMGCB 73 LFG 50570/1 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 74 LFG 50886/1 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 75 LFG 50684/1 HEM	escarro	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 75 LFG 50684/2 HEM	escarro	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 76 LFG 53721/1 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 77 LFG 52/2 HEM	urina	<i>Candida</i> spp.	-	Não identificado	-

UFMGCB 78 LFG 126/1 HEM	swab retal	Provável <i>C.krusei</i>	-	Não identificado	<i>Candida glabrata</i>
UFMGCB 79 LFG 124/1 HEM	swab narina direita	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Candida tropicalis</i>	-
UFMGCB 80 LFG 827/1 HEM	urina	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida glabrata</i>
UFMGCB 80 LFG 827/3 HEM	urina	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 80 LFG 827/4 HEM	urina	<i>Candida albicans</i>	-	Não identificado	-
UFMGCB 81 LFG 920/3 HEM	ponta de cateter	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 82 LFG 918/1 HEM	urina	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 83 LFG 4241/1 HEM	sangue	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	
UFMGCB 84 LFG 4245/2 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 85 LFG 4478/1 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 86 LFG 6896/1	aspirado traqueal	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>

HEM					
UFMGCB 87 LFG 9877/1 HEM	escarro	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 88 LFG 10778/1 HEM	líquido pleural	<i>Candida</i> spp.	-	Não identificado	-
UFMGCB 89 LFG 12150/1 HEM	escarro	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 90 LFG 14355/1 HEM	urina	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 90 LFG 14355/2 HEM	urina	<i>Candida</i> spp.	-	Não identificado	-
UFMGCB 91 LFG 15706/2 HEM	urina	<i>Candida</i> spp.	-	Não identificado	-
UFMGCB 92 LFG 15706/1 HEM	urina	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Candida tropicalis</i>	-
UFMGCB 93 LFG 14058/1 HEM	sangue	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 94 LFG 16154/1 HEM	urina	<i>Candida</i> spp.	-	Não identificado	-

UFMGCB 95 LFG 14303/1 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	-
UFMGCB 95 LFG 14303/2 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida</i> spp.	-	Não <i>identificado</i>	-
UFMGCB 96 LFG 14059/1 HEM	lavado brônquio alveolar	<i>Candida</i> spp.	-	Não <i>identificado</i>	-
UFMGCB 96 LFG 14059/2 HEM	lavado brônquio alveolar	<i>Candida</i> spp.	-	Não <i>identificado</i>	-
UFMGCB 97 LFG 6054/1 HEM	escarro	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	-	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 98 LFG 7000/1 HEM	escarro	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	-	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 99 LFG 9787/1 HEM	escarro	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	-	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 100 LFG 19874/1 HEM	sangue	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Candida</i> <i>tropicalis</i>	
UFMGCB 101 LFG 19875/1 HEM	urina	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	-	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 102 LFG	aspirado traqueal	Provável <i>C</i> <i>.krusei</i>	-	Não <i>identificado</i>	-

19902/1 HEM					
UFMGCB 102 LFG 19902/2 HEM	aspirado traqueal	Provável <i>C. krusei</i>	-	<i>Não identificado</i>	-
UFMGCB 103 LFG 30645/1 HEM	urina	Não identificado	-	<i>Candida tropicalis</i>	-
UFMGCB 104 LFG 19849 HEM	lavado brônquio alveolar	Provável <i>C. krusei</i>	-	<i>Não identificado</i>	-
UFMGCB 105 LFG 22399/2 HEM	urina	<i>Candida spp.</i>	-	<i>Candida tropicalis</i>	-
UFMGCB 106 LFG 25820/1 HEM	urina	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 106 LFG 25820/2 HEM	urina	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Não identificado</i>	-
UFMGCB 107 LFG 26062/1 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida spp.</i>	-	<i>Não identificado</i>	-
UFMGCB 107 LFG 26062/2 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida spp.</i>	-	<i>Candida tropicalis</i>	-
UFMGCB 108 LFG 26377 HEM	urina	<i>Candida spp.</i>	-	<i>Candida tropicalis</i>	-

UFMGCB 109 LFG 12482 HEM	escarro	Não identificado	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 110 LFG 12842 HEM	escarro	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 111 LFG 31216 HEM	urina	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 112 LFG 17677 HEM	escarro	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 113 LFG 17715 HEM	aspirado traqueal	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida tropicalis</i>	-
UFMGCB 114 LFG 18097 HEM	escarro	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 115 LFG 21061 HEM	escarro	Não identificado	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 116 LFG 23416 HEM	escarro	Não identificado	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 117 LFG 31928 HEM	swab oral	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 118 LFG	aspirado traqueal	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-

23832 HEM					
UFMGCB 119 LFG 29579 HEM	urina	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 120 LFG 24454 HEM	escarro	Provável <i>C. albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB LFG 24829 HEM	aspirado traqueal	Provável <i>C. albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 122 LFG 26022 HEM	biópsia de úlcera	Provável <i>C. albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 123 LFG 31848 HEM	urina	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 124 LFG 27134 HEM	escarro	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Candida tropicalis</i>	-
UFMGCB 125 LFG 31905 HEM	urina	<i>Candida</i> spp.	-	<i>Candida tropicalis</i>	-
UFMGCB 1 LFG 11112/2 HJK	urina	-	Provável <i>C. krusei</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>
UFMGCB 1 LFG 11112/3 HJK	urina	-	Provável <i>C. krusei</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>

UFMGCB 2 LFG 11640/1	sangue	-	<i>Candida</i> spp.	<i>Candida albicans</i>	
UFMGCB 3 LFG 10221/1 HJK	líquido peritoneal	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 3 LFG 10221/3 HJK	líquido peritoneal	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 4 LFG 10599/1 HJK	urina	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 4 LFG 10599/2 HJK	urina	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 4 LFG 10599/3 HJK	urina	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 5 LFG 10157/1 HJK	urina	-	<i>Candida</i> spp.	<i>Candida tropicalis</i>	-
UFMGCB 6 LFG 13247/1 HJK	urina	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 7 LFG 10518/1 HJK	sangue	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 7 LFG 10518/3	sangue	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-

HJK					
UFMGCB 8 LFG 10096/2 HJK	aspirado traqueal	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 8 LFG 10096/4 HJK	aspirado traqueal	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 8 LFG 10096/8 HJK	aspirado traqueal	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 8 LFG 10096/9 HJK	aspirado traqueal	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 8 LFG 10096/10 HJK	aspirado traqueal	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 8 LFG 10096/11 HJK	aspirado traqueal	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 10 LFG 10114/1 HJK	líquido peritoneal	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Não identificado</i>	-
UFMGCB 10 LFG 10114/3 HJK	líquido peritoneal	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 11 LFG 15171/1 HJK	sangue	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Não identificado</i>	-

UFMGCB 11 LFG 15171/2 HJK	sangue	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Não identificado</i>	-
UFMGCB 12 LFG 14352/2 HJK	aspirado traqueal	-	<i>Candida spp.</i>	<i>Candida tropicalis</i>	-
UFMGCB 13 LFG 15505/1 HJK	sangue	-	<i>Candida spp.</i>	<i>Não identificado</i>	-
UFMGCB 14 LFG 14238/2 HJK	urina	-	<i>Candida spp.</i>	<i>Candida tropicalis</i>	-
UFMGCB 15 LFG 1252/1 HJK	Não informado	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 16 LFG 1252 HJK	Não informado	-	Provável <i>C. krusei</i>	<i>Não identificado</i>	
UFMGCB 17 LFG 1650/1 HJK	Não informado	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 18 LFG 1755/1 HJK	Não informado	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
UFMGCB 19 LFG 1337/1 HJK	Não informado	-	<i>Candida spp.</i>	<i>Candida tropicalis</i>	-
UFMGCB 20 LFG 1381/1	Não informado	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>

HJK					
UFMGCB 21 LFG 1413/1 HJK	Não informado	-	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	-
UFMGCB 23 LFG 3408/1 HJK	Não informado	-	<i>Candida</i> spp.	<i>Candida tropicalis</i>	-
UFMGCB 24 LFG 4138/1 HJK	Não informado	-	<i>Candida</i> spp.	<i>Candida tropicalis</i>	-
UFMGCB 25 LFG 4154/1 HJK	Não informado	-	<i>Candida</i> spp.	<i>Candida tropicalis</i>	-

Identificação das leveduras realizada pelos laboratórios de microbiologia dos hospitais colaboradores Eduardo de Menezes (HEM) e Julia Kubitschek (HJK) e as identificações moleculares realizadas no presente trabalho



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP**

Projeto: CAAE – 80166617.2.0000.5149

**Interessado(a): Profa. Susana Johann
Depto. Microbiologia
Instituto de Ciências Biológicas- UFMG**

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 14 de março de 2018, o projeto de pesquisa intitulado “ **Leveduras causadoras de micoses sistêmicas oportunistas em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil: identificação em nível de espécie e perfil de susceptibilidade a antifúngicos comerciais**” bem como:

- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.
- Termo de Assentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto através da Plataforma Brasil.

A handwritten signature in blue ink, reading "Vivian Resende".

Profa. Dra. Vivian Resende

Coordenadora do COEP-UFMG