



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS- UFAM
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

VANESSA DE SÁ PINHEIRO

PREVALÊNCIA, IDENTIFICAÇÃO E PERFIS DE RESISTÊNCIA DE *Candida* spp. EM
UNIDADES DE TERAPIA INTENSIVA DE MANAUS: IMPLICAÇÕES PARA O
CONTROLE DE INFECÇÕES HOSPITALARES

MANAUS-AM
2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS- UFAM
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

VANESSA DE SÁ PINHEIRO

PREVALÊNCIA, IDENTIFICAÇÃO E PERFIL DE RESISTÊNCIA DE *Candida* spp. EM
UNIDADES DE TERAPIA INTENSIVA DE MANAUS: IMPLICAÇÕES PARA O
CONTROLE DE INFECÇÕES HOSPITALARES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. João Vicente Braga de Souza
Coorientador: Dr. Walter Oliva Pinto Filho Segundo

MANAUS-AM
2025

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

- P654p Pinheiro, Vanessa de Sá
Prevalência, Identificação e Perfis de Resistência de *Candida* spp. em Unidades de Terapia Intensiva de Manaus: Implicações para o Controle de Infecções Hospitalares / Vanessa de Sá Pinheiro. - 2025.
62 f. : il., color. ; 31 cm.
- Orientador(a): João Vicente Braga de Souza.
Coorientador(a): Walter Oliva Pinto Filho Segundo.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Amazonas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Manaus, 2025.
1. Leveduras. 2. Unidade Terapia Intensiva. 3. *Candida*. 4. Ambiente Hospitalar. I. Souza, João Vicente Braga de. II. Segundo, Walter Oliva Pinto Filho. III. Universidade Federal do Amazonas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. IV. Título
-

**"PREVALÊNCIA, IDENTIFICAÇÃO E PERFIS DE RESISTÊNCIA DE
CANDIDA SPP. EM UNIDADES DE TERAPIA INTENSIVA DE MANAUS:
IMPLICAÇÕES PARA O CONTROLE DE INFECÇÕES HOSPITALARES"**

DISCENTE: VANESSA DE SÁ PINHEIRO

PARECER:

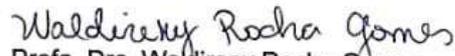
Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas em sua forma final e definitiva pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas.

Manaus, AM, 27/06/2025.

Prof. Dr. Emerson Silva Lima
Coordenador do PPGCF

**A mesma foi apresentada perante a banca composta pelos seguintes
professores:**


Prof. Dr. João Vicente Braga de Souza
Presidente e Orientador


Profa. Dra. Waldireny Rocha Gomes
Membro Interno


Profa. Dra. Ani Beatriz Jackisch Matsuura
Membro Externo

AGRADECIMENTOS

Ao Deus que sempre será digno de honra e glória. Sem ele eu não teria chegado até aqui. Aos meus pais Ailton e Aparecida meus exemplos de um bom caráter, força e trabalho.

Às minhas irmãs Karen, Gabriela e Patrícia, todas elas sempre me inspiraram a ser uma pessoa melhor também. Às minhas sobrinhas Maria Hellena e Scarlett também não podem ficar de fora porque a tia ama muito elas, e todas ficavam muito admiradas quando eu falava deste projeto de pesquisa e sempre me incentivaram.

Aos meus cachorrinhos Estrela, Kripto, Júpiter, Poes, Preta, Menina e Kriptinho (que brilha como estrelinha no céu), obrigado por me amarem e me abraçarem nos momentos difíceis, amo vocês.

Ao meu orientador professor João Vicente que sempre orientou com maestria seus alunos de mestrado e doutorado. Muito obrigada, professor por todos os ensinamentos e paciência. Tenha certeza de que levarei comigo todos os seus ensinamentos e os colocarei em prática.

À Profa. Dra. Michele Sanches pela orientação do estágio à docência. Foram maravilhosos os dias de aprendizado.

À Dra. Ana Cortez por todo apoio, ensinamento e puxão de orelha. Ao pessoal da minha segunda casa, o laboratório de micologia do INPA, em especial a Patrícia (PAIC-FVS-RCP), Juan, Nayara, Danielle e Walter, que me acompanharam durante esses dois anos. Vocês são incríveis e são um espelho de dedicação no que vocês fazem sem perder a humildade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) pela oportunidade, a todos os professores pelos ensinamentos. E ao órgão de fomento FAPEAM pelo auxílio financeiro e incentivo à pesquisa no Estado do Amazonas.

RESUMO

A presença de leveduras do gênero *Candida* em superfícies de Unidades de Terapia Intensiva (UTI's) representa um risco potencial para infecções hospitalares, especialmente em regiões com escassez sobre contaminação fúngica ambiental. Este estudo teve como objetivo quantificar a carga fúngica, identificar as espécies de *Candida*, avaliar a susceptibilidade ao fluconazol e validar a identificação convencional por meio da técnica de MALDI-TOF MS a partir de isolados obtidos de superfícies inertes em UTIs de três hospitais públicos da cidade de Manaus, Brasil. Entre novembro de 2024 e janeiro de 2025, foram coletadas 117 amostras ambientais em superfícies críticas, como colchões, bancadas de medicamentos, torneiras e sanitários, com posterior isolamento em ágar Sabouraud. A identificação foi realizada por métodos fenotípicos (CHROMagar *Candida*, micromorfologia em ágar fubá e auxanograma) e moleculares (MALDI-TOF MS). A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente ao fluconazol, itraconazol e anfotericina B seguiu os critérios da norma CLSI M27-A4. Das 117 amostras foram obtidos um total de 72 isolados com maior carga fúngica no Hospital C (25), seguido pelos hospitais A (24) e B (23). As espécies mais prevalentes foram *Candida parapsilosis* e *Candida glabrata*, enquanto *Candida tropicalis* apresentou a maior CIM média (8,00 µg/mL), sugerindo maior resistência ao fluconazol. Foi observado 100% de concordância entre identificação convencional e MALDI-TOF para as espécies *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*, enquanto os isolados previamente classificados como não-*albicans* foram identificados como *C. parapsilosis* e outras espécies por MALDI-TOF. Esses achados destacam a variabilidade na carga fúngica e na composição de espécies entre as UTI's analisadas, reforçando a relevância da vigilância microbiológica e da identificação precisa de *Candida* para o controle da resistência antifúngica em ambientes hospitalares da região Amazônica.

Palavras-chave: Leveduras; Unidade Terapia Intensiva; *Candida*; Ambiente hospitalar.

ABSTRACT

The presence of yeasts of the genus *Candida* on surfaces in Intensive Care Units (ICUs) represents a potential risk for hospital infections, especially in regions with little data on environmental fungal contamination. This study aimed to quantify the fungal load, identify *Candida* species, evaluate susceptibility to fluconazole, and validate conventional identification with MALDI-TOF MS of isolates from inert surfaces in ICUs of three public hospitals in the city of Manaus, Brazil. Environmental samples were collected between November 2024 and January 2025, with isolation on Sabouraud agar, followed by morphological and biochemical identification, minimum inhibitory concentration (MIC) test for fluconazole, and confirmation by MALDI-TOF MS. Of the 117 samples, a total of 72 isolates with the highest fungal load were obtained in Hospital C (25 isolates), followed by hospitals A (24) and B (23). The most prevalent species were *Candida parapsilosis* and *Candida glabrata*, while *Candida tropicalis* had the highest mean MIC (8.00 µg/mL), suggesting greater resistance to fluconazole. There was 100% concordance between conventional identification and MALDI-TOF for the species *C. krusei*, *C. tropicalis*, and *C. glabrata*, while isolates previously classified as non-*albicans* were identified as *C. parapsilosis* by MALDI-TOF. These findings highlight the variability in fungal burden and species profile among hospitals, the importance of monitoring antifungal resistance, and the role of MALDI-TOF in the accurate identification of *Candida* in hospital settings in the Amazon region.

Keywords: Yeasts; Intensive Care Unit; *Candida*; Hospital environment.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Micromorfologia de *Candida albicans* sob célula epitelial humana durante um quadro infeccioso, apresentando clamidósporo, pseudohifas e blastoconídios..... 13
- Figura 2:** Aspectos macromorfológicos das colônias de *Candida* spp. (A) cultura em ágar sabouraud dextrose: *C.tropicalis* e (B) CHROMagar *Candida: C.tropicalis*..... 17
- Figura 3:** Microcultivo de *C.albicans* em ágar fubá 18
- Figura 4:** Mecanismo de colonização de *Candida* spp. na corrente sanguínea (A) infecção via mucosa gastrointestinal; (B) colonização epitelial; (C) disseminação na corrente sanguínea .. 19
- Figura 5:** Fluxograma representativo das etapas metodológicas realizadas no presente estudo para isolamento, identificação e avaliação da sensibilidade de isolados de *Candida* spp. provenientes de superfícies de UTI's de hospitais públicos de Manaus 26
- Figura 6:** Montagem para análise microscópica do microcultivo. Microscópio equipado com objetiva de 40x, sob a qual está posicionada uma placa de Petri contendo meio sólido de ágar fubá. Sobre o meio, encontram-se lâminas com amostras a serem observadas 29
- Figura 7:** Coleta de amostras nas Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) avaliadas. As áreas foram definidas com base no grau de manipulação e no potencial de disseminação de microrganismos: (A) Bancadas de preparo de medicamentos; (B) Torneiras de uso comum dos profissionais de saúde; (C) Colchões de pacientes internados e (D) Botão de acionamento do sanitário dos profissionais 42
- Figura 8:** Quantificação de leveduras isoladas de superfícies inertes em Unidades de Terapia Intensiva de três hospitais públicos de Manaus por meio de contagem de colônias em meio ágar Sabouraud, após coletas com swab estéril realizadas entre novembro de 2024 e janeiro de 2025..... 46
- Figura 9:** Frequência de espécies de leveduras isoladas de superfícies inertes em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) de três hospitais públicos de Manaus, identificadas por técnicas microbiológicas clássicas (n = 70 isolados) 47
- Figura 10:** Caracterização morfológica e bioquímica de espécies do gênero *Candida*. (A) Micromorfologia de *Candida parapsilosis*, evidenciando células gigantes e a estrutura "shaggy star". (B) Estrutura celular de *Candida glabrata*, apresentando apenas blastoconídios. (C) Formação de hifas finas em *Candida krusei*. (D) Morfologia celular de *Candida tropicalis*. (E) Teste bioquímico de assimilação de açúcares em meio ágar nitrogênio, demonstrando variação metabólica entre espécies. (F) Diagnóstico diferencial em Chromagar para identificação específica das espécies 49

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Estudos que identificaram espécies de <i>Candida</i> em superfícies inanimadas nas Unidades de Terapia Intensiva	22
Quadro 2: Cepas de referências depositadas nas coleções de interesse médico do INPA	27
Quadro 3: Características micromorfológicas de espécies de <i>Candida</i> em àgar fubá	29
Quadro 4: Aspectos morfológicos e cromáticos de colônias de <i>Candida</i> spp. cultivadas em meio CHROmagar	30
Quadro 5: Perfil de assimilação de carboidratos por <i>Candida</i> spp.	31
Quadro 6: Quantificação de leveduras isoladas de superfícies inertes em Unidades de Terapia Intensiva de Três Hospitais por Meio de Coletas com Swab Estéril	49
Quadro 7: Análise fenotípica e perfil de sensibilidade ao fluconazol de isolados clínicos de <i>Candida</i> spp. de 3 UTI's da Cidade de Manaus-Amazonas	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Concentração Inibitória Mínima (CIM) ao Fluconazol de diferentes espécies de <i>Candida</i> isoladas de superfícies inertes em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) de três hospitais públicos de Manaus	50
Tabela 2: Identificação de espécies de <i>Candida</i> isoladas de superfícies inertes em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) de três hospitais públicos de Manaus: Comparação utilizando métodos convencionais e MALDI-TOF	51
Tabela 3: Identificação de espécies de <i>Candida</i> que apresentaram CIM 8 µg/mL no MALD TOF	51

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AIDS: *Human Immunodeficiency Virus* (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida)

ALS: (*Agglutinin-like sequence*)

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CFU: *Colony Forming Unit* (Unidade Formadora de Colônia)

CHROMagar: *Cromogenic Agar*

EUA: Estados Unidos da América

FVS: Fundação de Vigilância em Saúde

HCCA: Ácido α -ciano-4-hidroxicinâmico

IFI: Infecção Fúngica Invasiva

ITS: *Internal Transcribed Spacer* (Espaçador Interno Transcrito)

MALDI-TOF: *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight*

RDC: Resolução da Diretoria Colegiada

UFC: Unidade Formadora de Colônias

UTI: Unidade de Terapia Intensiva

spp: Abreviatura para espécies

sp: Abreviatura para espécie

%: Porcentagem

°C: Graus Celsius (temperatura)

$\mu\text{g/mL}$: Microgramas por mililitro (concentração)

\pm : Mais ou menos (desvio padrão)

N: Número de amostras ou isolados

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	13
2.1 Gênero <i>Candida</i>	13
2.1.1 Epidemiologia.....	14
2.1.2 Fisiopatogenia de <i>Candida</i> spp.	15
2.1.3 Características fenotípicas	16
2.2 Candidemia.....	18
2.2.1 Distribuição dos agentes causadores de candidemia em superfícies de UTI's	21
2.2.2 Contaminação em mãos de profissionais.....	22
2.2.3 Manejo clínico com medicamentos antifúngicos	23
3 OBJETIVOS.....	25
3.1 Geral.....	25
3.2 Específicos.....	25
4 MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1. Modelo de estudo	26
4.2 Local de Estudo.....	27
4.3 Cepas padrão	27
4.4 Procedimentos de Coleta	27
4.5 Identificação Convencional ao nível de espécie	28
4.5.1 Microcultivo em Àgar Fubá	28
4.5.2 Identificação por CHROMagar <i>Candida</i>	30
4.5.3 Auxanograma: Assimilação de açúcares	30
4.6 Sensibilidade CIM dos isolados do gênero <i>Candida</i> frente ao Fluconazol.....	31
4.7 Identificação por Espectrometria de Massa: MALDI-TOF.....	32
4.8 Análise estatística.....	32
5 ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	32
6 DISCUSSÃO.....	52
7 CONCLUSÃO	54
APÊNDICE	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

1 INTRODUÇÃO

As infecções invasivas causadas por leveduras do gênero *Candida* (Langenbeck, 1839) representam um desafio clínico relevante em unidades de terapia intensiva (UTI), especialmente em regiões com características ambientais e epidemiológicas peculiares, como a Amazônia. A alta prevalência dessas infecções está relacionada a fatores como o uso prolongado de dispositivos invasivos, antimicrobianos de amplo espectro e a condição imunológica dos pacientes internados (Deberaldini *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2021; Melo *et al.*, 2023).

Nos Estados Unidos da América, estima-se a ocorrência de aproximadamente 2.800 casos anuais de candidemia, com taxa de mortalidade próxima de 40%. (Antunes *et al.*, 2020). No Brasil, a taxa de incidência é de 2,49 casos por 1.000 admissões hospitalares (Brasil, 2020). No Estado do Amazonas, dados locais indicam incidência de 2,31 casos por 1.000 internações e 0,61 casos por 1.000 pacientes/dia (Silva, 2018), evidenciando a relevância regional do problema.

Dentre os principais agentes causadores, estão as espécies do gênero *Candida*: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* e *Candida auris* (Bassetti, 2019; Toda *et al.*, 2019). A distribuição dessas espécies é ampla e reflete a complexidade das interações entre o hospedeiro e microrganismos oportunistas.

Embora *C. albicans* seja o agente mais frequentemente associado à candidemia, observa-se um aumento na prevalência de outras espécies patogênicas de *Candida* em infecções sistêmicas nosocomiais (Soares *et al.*, 2019; Poissy *et al.*, 2020; Córtes *et al.*, 2020; Sano *et al.*, 2021; Thomáz *et al.*, 2022; Hadano *et al.*, 2022; Blanckeheim *et al.*, 2022; Gunner *et al.*, 2023; Chen *et al.*, 2023; Duarte *et al.*, 2023).

Estudos identificaram a presença de espécies como *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. guilliermondii* em superfícies hospitalares (Nascimento, 2011; Silva *et al.*, 2012; Silveira, 2021). No estado do Amazonas as investigações ainda se concentram em casos clínicos de candidemia, com escassez de dados sobre a presença dessas leveduras em ambientes hospitalares (Soares, 2013; Correa, 2014; Pereira, 2015; Siqueira, 2021).

A ausência de monitoramento fúngico ambiental nas UTI's compromete a identificação precoce de agentes patogênicos e favorece a disseminação cruzada entre pacientes. A compreensão da ecologia e da dinâmica de transmissão de espécies de *Candida* em ambientes hospitalares é fundamental para implementar medidas eficazes de controle de infecção e

promover a segurança dos pacientes. Diante desse cenário, o presente estudo teve como objetivo investigar a presença de leveduras do gênero *Candida* em superfícies frequentemente manipuladas de UTI's de hospitais públicos de Manaus, identificando as espécies isoladas, avaliando seus perfis de resistência a antifúngicos e verificando a ocorrência de *Candida auris*.

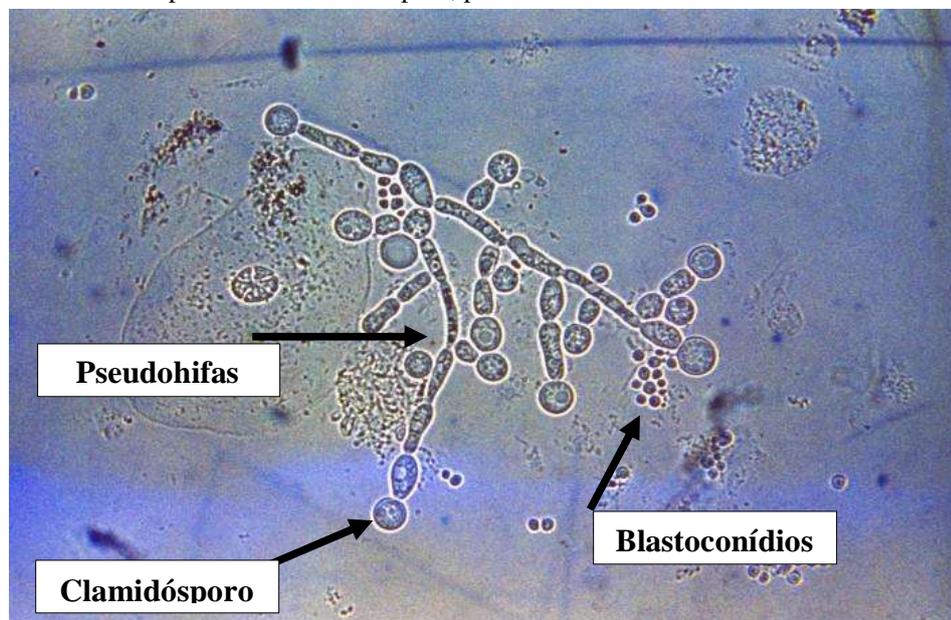
2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Gênero *Candida*

O primeiro relato da presença de leveduras do gênero *Candida* em seres humanos foi feito em 1839 por Bernhard von Langenbeck, ao observar e isolar microrganismos da cavidade oral de um paciente com aftas (Elisei, 2009). Em 1846, Berg estudou detalhadamente o microrganismo, estabelecendo sua relação com a candidíase oral. Alguns anos mais tarde, em 1853, Charles Robin denominou esse microrganismo de *Oidium albicans*, tendo sido redenominado por Zopf, em 1890, de *Monilia albicans* (Pereira *et al.*, 2015; Moura, 2023).

Posteriormente, em 1923, a micologista Christine Marie Berkhout descreveu o gênero *Candida* em sua tese de doutorado na Universidade de Utrecht, nos Países Baixos. Elisei (2009), explica que este evento marcou o início da sistemática racional das leveduras anascosporógenas. Nins (2023) descreve que essa levedura foi descrita no decorrer da história com número superior a 111 diferentes denominações, as quais se encontram descritas no livro *The yeast*, editado por Krieger van Rij em 1984.

Figura 1: Micromorfologia de *Candida albicans* sob célula epitelial humana durante um quadro infeccioso, apresentando clamidósporo, pseudohifas e blastoconídios



Fonte: <https://naturdata.com/especie/Candida-albicans/12421/0/>

Atualmente, o gênero *Candida* compreende cerca de 150 espécies, embora apenas algumas sejam conhecidas por causar infecções em humanos. *C. albicans* por exemplo (figura 1), é a espécie patogênica mais significativa, mas outras, como *C. auris*, *C. tropicalis*, *C.*

parapsilosis, *C. dubliniensis* e *C. lusitaniae*, também podem ser patogênicas (Pereira *et al.*, 2015; Moura, 2023).

Rocha *et al.* (2021) descreve que as leveduras deste gênero são classificadas taxonomicamente no reino fungi na divisão Eumycota, subdivisão Deuteromycotina, classe Blastomycetes e família Cryptococcaceae. Estas apresentam uma estrutura celular típica desse grupo de organismos, caracterizada por uma parede celular composta por quitina e uma membrana citoplasmática formada por fosfolipídios, proteínas enzimáticas e ergosterol. Sob condições favoráveis, como disponibilidade de nutrientes e temperatura adequada, essas leveduras se multiplicam rapidamente por brotamento, formando blastoconídios (Schaefer *et al.*, 2022; Nins, 2023). Os microrganismos deste gênero fazem parte da microbiota normal das mucosas do trato gastrointestinal e do sistema reprodutivo, estando presentes em aproximadamente 50 a 70% das pessoas saudáveis (Nins, 2023). No entanto, eles podem se tornar patogênicos em situações específicas, especialmente em indivíduos com o sistema imunológico comprometido ou que estejam sob tratamento com antimicrobianos de amplo espectro.

2.1.1 Epidemiologia

As infecções por espécies do gênero *Candida* são relatadas como a terceira causa das septicemias no mundo (Pappas *et al.*, 2019). No Brasil, este foi relatado como o sétimo agente etiológico causador das infecções sistêmicas, sendo *C. albicans* (34,3%) a espécie mais prevalente dessas infecções, seguida pela *C. parapsilosis* (24,1 %), *C. tropicalis* (15,3 %) e *C. glabrata* (10,2 %), com uma taxa de mortalidade de 72,2 % (Doi *et al.*, 2019; Brasil, 2020).

A incidência da candidemia varia entre diferentes regiões e populações hospitalares, sendo influenciada por fatores como idade, presença de comorbidades e uso de dispositivos invasivos (Ahmad; Alfouzan, 2021). Dados epidemiológicos apontam que a taxa de infecção pode chegar a 2,49 casos por 1.000 admissões hospitalares, com uma mortalidade associada que varia entre 40% e 60% (Brasil, 2020).

Brandt *et al.* (2022) cita que as espécies não-*albicans* tem sido cada vez mais identificada, especialmente em pacientes submetidos a terapias antifúngicas prolongadas, sugerindo um possível impacto na resistência antifúngica. A distribuição das espécies de *Candida* apresenta variações geográficas e epidemiológicas.

Enquanto *C. albicans* continua sendo a espécie mais prevalente globalmente, *C. parapsilosis* é frequentemente isolada em infecções neonatais, e *C. glabrata* tem sido observada com maior frequência em idosos e pacientes imunossuprimidos (Elisei, 2009). No Brasil,

estudos multicêntricos indicam que aproximadamente 65% das infecções fúngicas invasivas são causadas por espécies não-*albicans*, refletindo uma mudança no perfil epidemiológico da candidemia ao longo dos anos (Paz *et al.*, 2021; Contaldo *et al.*, 2023).

Um dos estudos é o de Colombo *et al.* (2006), que realizou uma pesquisa em 11 centros médicos do Brasil, no período de março de 2003 a dezembro de 2004, detectaram um total de 712 casos de candidemia, para uma incidência global de 2,49 casos por 1.000 admissões e 0,37 casos por 1.000 pacientes-dia. O sexo masculino compreendeu 56% dos pacientes, e a idade média foi de 41 anos (variação de 0 a 96 anos). *C. albicans* foi a espécie mais comum (291; 41%), seguido de *C. tropicalis* (149; 21%) e *C. parapsilosis* (146; 21%), *C. glabrata* apareceu em apenas 5% dos casos.

Outra pesquisa realizada por Marra *et al.* (2011), durante 2 anos e 8 meses, em 16 hospitais das Regiões Norte, Nordeste, Centro Oeste, Sudeste e Sul, incluiu 2.688 pacientes, totalizando 2.563 infecções. Das infecções diagnosticadas, 148 (6,1%) foram causadas por fungos, e 137 (92,6%) eram isolados de *Candida*, as espécies não-*albicans* eram mais comuns do que *C. albicans*, correspondendo a 65,7%.

A classificação dos principais isolados foram: *C. albicans* (34,3%), *C. parapsilosis* (24,1%), *C. tropicalis* (15,3%), *Candida* spp. (10,9%), *C. glabrata* (10,2%), *C. krusei* (1,5%), *C. pelliculosa* (1,5%), *C. lusitaniae* (0,7%), *C. famata* (0,7%), e *C. guilliermondii* (0,7%) (Marra *et al.*, 2011). No Brasil, as espécies mais comumente isoladas em pacientes pediátricos e adultos são *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* (Oliveira *et al.*, 2014).

2.1.2 Fisiopatogenia de *Candida* spp.

De Carmargo *et al.* (2024) explica que a fisiopatogenia dessas infecções envolve uma complexa interação entre fatores de virulência do patógeno e a resposta imune do hospedeiro, resultando na colonização, invasão tecidual e disseminação hematogênica. Entre as espécies mais frequentemente associadas à candidemia hospitalar estão *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. krusei*, cada uma apresentando características distintas que influenciam sua patogenicidade (Vannini *et al.*, 2022; Phongkhun *et al.*, 2023; Chastain *et al.*, 2023).

A *C. albicans* é a espécie mais prevalente e considerada a mais virulenta do gênero. Seu principal fator de virulência é a capacidade de transição fenotípica entre as formas leveduriforme e filamentosa (hifas e pseudohifas), conferindo-lhe maior capacidade de invasão tecidual e evasão da resposta imune. Além disso, *C. albicans* expressa adesinas, como as proteínas ALS (*Agglutinin-like sequence*), que facilitam a aderência a células epiteliais e

endotélio vascular, e secreta enzimas hidrolíticas, como proteases e fosfolipases, que degradam barreiras teciduais e favorecem a invasão (Vieira e Santos, 2016; Mendes *et al.*, 2021).

Já a *C. parapsilosis* possui menor capacidade de transição morfológica, mas se destaca pela alta afinidade por superfícies abióticas, como cateteres e próteses médicas. Esse comportamento é impulsionado por uma elevada produção de biofilme, que protege a levedura da ação do sistema imune e dificulta a erradicação pelo tratamento antifúngico (Daneshnia *et al.*, 2023; Branco *et al.*, 2023).

C. tropicalis se destaca pela sua elevada capacidade de formação de pseudohifas e biofilme. Sua virulência é reforçada por sua resistência ao estresse oxidativo, permitindo que sobreviva em ambientes inflamatórios ricos em radicais livres, como a corrente sanguínea de pacientes imunocomprometidos (Wang *et al.*, 2021; Lima *et al.*, 2022).

C. glabrata difere das demais espécies patogênicas por sua menor capacidade de transição morfológica, mantendo-se predominantemente na forma leveduriformes, no entanto, seu principal fator de virulência é a notável resistência a antifúngicos, especialmente aos azóis, o que frequentemente complica o tratamento. Sua resistência ao estresse oxidativo e habilidade de sobreviver dentro de macrófagos fazem dela uma espécie altamente adaptada à persistência no hospedeiro, sendo frequentemente isolada de pacientes submetidos a terapias antifúngicas prolongadas (Hassan *et al.*, 2021; Sachivkina *et al.*, 2021).

C. krusei apresenta capacidade moderada de formação de biofilme e resistência a estresses ambientais, tornando-se um desafio terapêutico em infecções nosocomiais. Além disso, essa espécie tem sido associada a pacientes com câncer hematológico e imunossupressão prolongada, sugerindo um nicho específico de infecção (Jamiu *et al.*, 2021; Fritsch *et al.*, 2021).

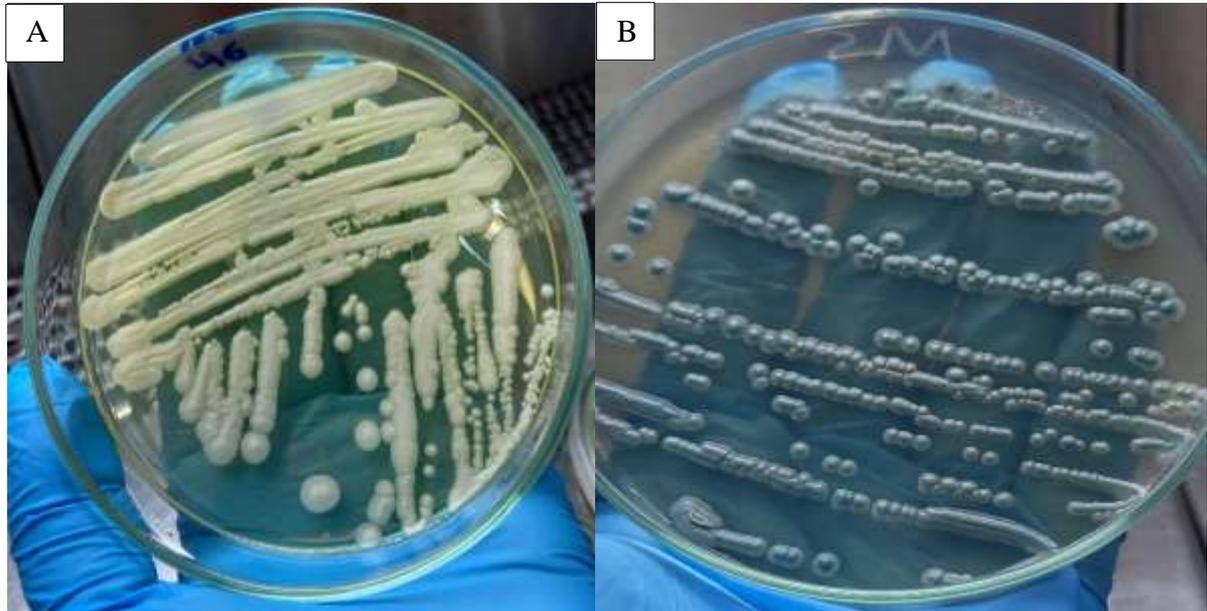
Por último, *C. auris*, esta se adere facilmente à pele e pode permanecer viável no ambiente hospitalar por longos períodos. Sua adesão a cateteres e outros dispositivos invasivos facilita sua entrada na corrente sanguínea, levando à candidemia (Chowdary *et al.*, 2023; Lyman *et al.*, 2023). Sanyaolo *et al.* (2022) descreve que o fungo resiste à fagocitose por macrófagos e pode modular a resposta inflamatória do hospedeiro, reduzindo sua detecção e eliminação.

2.1.3 Características fenotípicas

Chandra *et al.* (2015) descreve que as colônias de *Candida spp.* apresentam crescimento rápido, geralmente em 24 a 48 horas, quando incubadas a 35-37°C em meios como ágar Sabouraud dextrose. As colônias costumam ser cremosas, lisas e brilhantes, com variações na textura e na pigmentação dependendo da espécie e do meio de cultura. Em meios cromogênicos, como o CHROMagar *Candida*, diferentes espécies exibem colorações distintas devido à

metabolização diferencial de substratos específicos, sendo um método rápido para triagem (figura 2).

Figura 2: Aspectos macromorfológicos das colônias de *Candida* spp. (A) cultura em ágar sabouraud dextrose: *C.tropicalis* e (B) CHROmagar *Candida: C.tropicalis*



Fonte: Autor, 2025

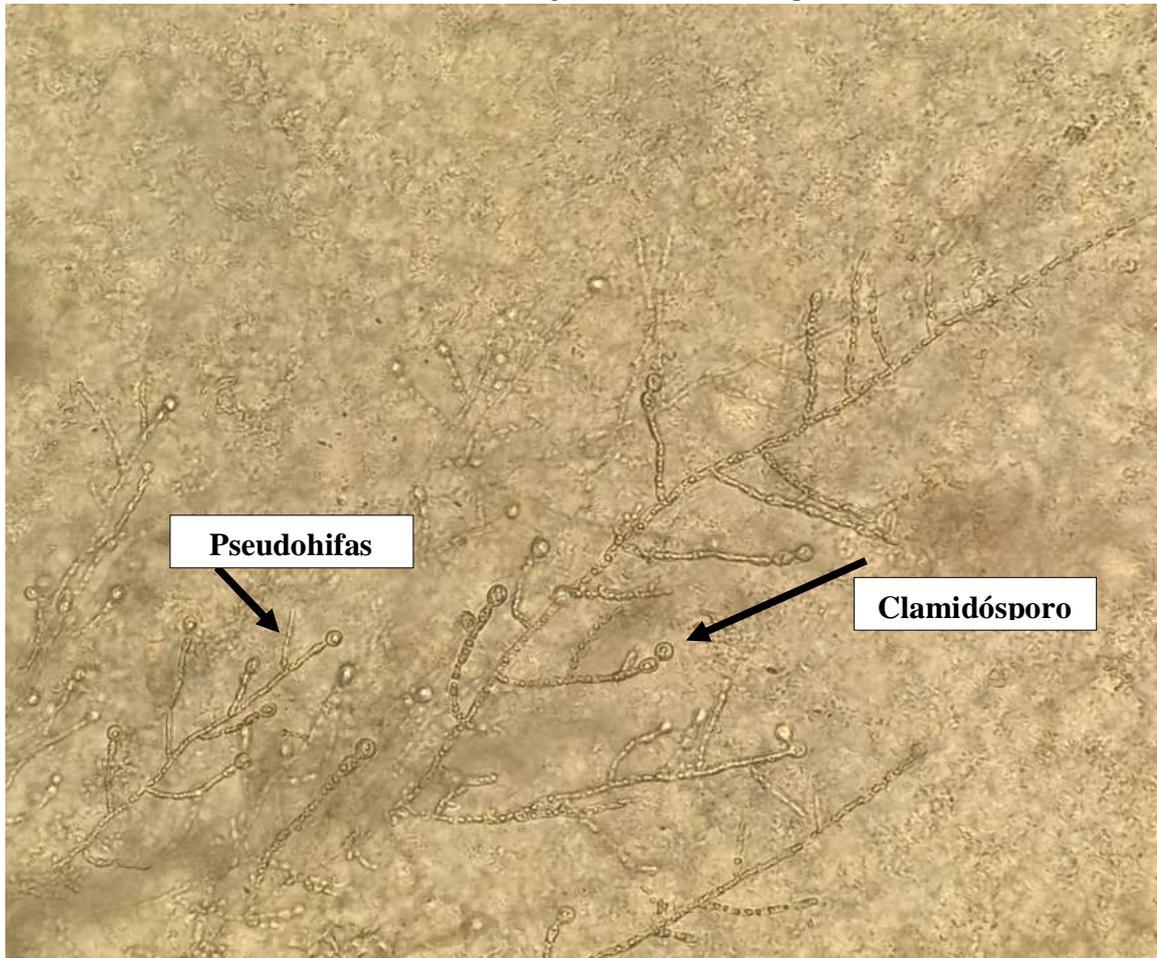
As características micromorfológicas das espécies de *Candida* incluem a presença de células leveduriformes ovais ou esféricas, com reprodução assexuada por gemulação. Algumas espécies, como *C.albicans* e *C.dubliniensis*, apresentam a capacidade de formar pseudohifas, enquanto outras, como *C.glabrata*, se desenvolvem predominantemente na forma de células isoladas, sem formação de hifas (De Almeida *et al.*, 2012; Brito *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2016).

No microcultivo em ágar fubá, as espécies do gênero *Candida* apresentam características morfológicas importantes para sua diferenciação, sendo a *C. albicans* a mais distintiva, por formar clamidósporos, estruturas arredondadas e espessas geralmente dispostas isoladamente ou em pares interligados, além de pseudohifas, conforme **figura 3** (Andrioli *et al.*, 2009; Lima *et al.*, 2023). Rodriguez *et al.* (2013) descreve que outras espécies, como *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*, também formam pseudohifas e hifas, mas não produzem clamidósporos, o que auxilia na sua identificação. Outras como a *C.glabrata* não apresentam filamentos, somente blastoconídios.

Do ponto de vista bioquímico as espécies do gênero *Candida* apresentam perfis distintos de assimilação e fermentação de carboidratos, além de variações na produção de enzimas extracelulares. O teste de assimilação de açúcares, permite a diferenciação entre espécies com

base na capacidade de metabolizar diferentes substratos (Anila *et al.*, 2011; Lourencetti *et al.*, 2018).

Figura 3: Microcultivo de *C. albicans* em ágar fubá, evidenciando estruturas miceliais típicas da espécie após 48 horas de incubação. Observam-se pseudohifas e clamidósporos esféricos, alguns dispostos em pares interligados, característica morfológica distintiva dessa espécie



Fonte: Autor, 2025

A termotolerância e a capacidade de crescimento em diferentes condições ambientais também são características fenotípicas relevantes. Enquanto a maioria das espécies cresce entre 25 e 37°C, algumas, como *C. auris*, podem tolerar temperaturas mais elevadas, contribuindo para sua persistência em ambientes hospitalares (Rhoder; Fisher, 2019; Rutala *et al.*, 2019).

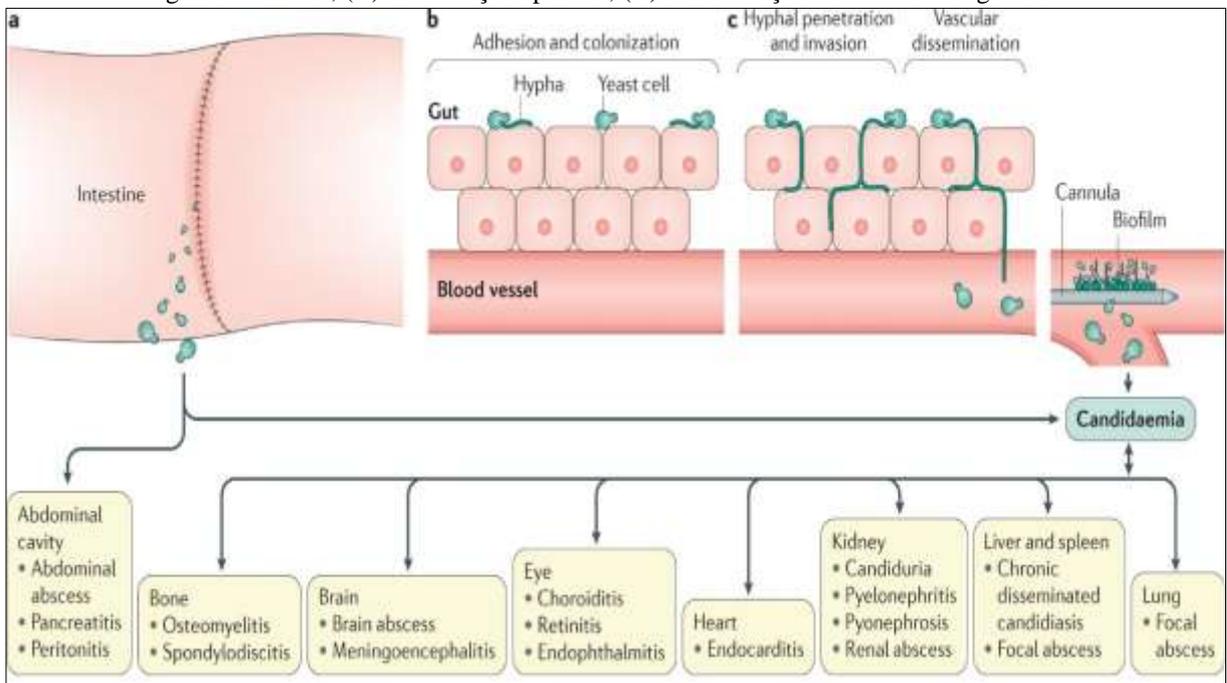
2.2 Candidemia

Candidemia é uma infecção fúngica que acomete a corrente sanguínea e afeta pacientes imunodeprimidos e imunossuprimidos (Macarty *et al.*, 2021). Os fatores de riscos incluem, a presença de cateteres venosos centrais, nutrição parenteral, uso de antimicrobianos de amplo

espectro, cirurgias prévias e contaminação cruzada, a exemplo das mãos dos profissionais de saúde (Bonato *et al.*, 2022).

Quanto aos mecanismos de ação (**figura 4**), estes incluem o uso de cateteres venosos centrais, que são associados ao desenvolvimento de biofilmes ao redor do acesso, mãos de profissionais de saúde, que podem ser colonizadas o que influencia a transmissão nosocomial e a infecção via mucosa gastrointestinal, que é a via mais comum deste tipo de infecção, isto porque, pacientes em nutrição parenteral total, em particular uso de emulsões lipídicas têm descrição de formação de biofilme com fungos e infecção de corrente sanguínea (Medeiros, 2019; Neto, 2021; Da Rocha *et al.*, 2021).

Figura 4: Mecanismo de colonização de *Candida* spp. na corrente sanguínea (A) infecção via mucosa gastrointestinal; (B) colonização epitelial; (C) disseminação na corrente sanguínea.



Fonte: <https://www.nature.com/articles/nrdp201826/figures/1>

Bassetti *et al.* (2019) cita que este é um gênero de fungos que normalmente habita a pele, a boca, trato gastrointestinal e a vagina em pequenas quantidades sem causar problemas, todavia, estes microrganismos, quando em ambientes susceptíveis à sua proliferação desordenada ocasionam infecções sistêmicas no ser humano.

Sobre a infecção sistêmica, Bonato *et al.* (2022) explicam que em determinadas circunstâncias, como a imunidade comprometida, esses fungos podem se multiplicar de maneira excessiva e levar a infecções, incluindo aquelas que afetam a corrente sanguínea, conhecidas como candidemia.

Macarty *et al.* (2021) descreve que este processo ocorre quando as leveduras de *Candida* entram na circulação sanguínea e se disseminam por todo o corpo e isso pode acontecer em indivíduos com sistema imunológico enfraquecido, pacientes com câncer, transplantados, em tratamento com corticosteróides, ou aqueles com doenças crônicas graves, como a AIDS.

Além disso, procedimentos invasivos, cateteres intravenosos, antimicrobianos de amplo espectro e internações hospitalares prolongadas também aumentam o risco de o paciente internado vir a desenvolver uma candidemia (Marçon, 2023).

Como resultado de suas pesquisas, Rocha (2019) descreve que diversas cepas de *Aspergillus* e *Candida* figuram entre os principais agentes etiológicos comumente identificados, o autor supracitado ainda afirma que *Candida* spp., em particular, é responsável por uma proporção significativa, chegando a estar relacionada em até 78% das infecções fúngicas. Desta forma, é notável que este microrganismo se destaque como o sexto patógeno mais frequentemente isolado em infecções adquiridas em ambientes hospitalares e ocupa a quarta posição entre as principais causas de sepse, de acordo com Rocha, 2019.

Thompson *et al.* (2021) explicam que a frequência de infecções por espécies de *Candida* tem aumentado nas últimas décadas, tornando a candidemia uma infecção presente nos hospitais, principalmente em UTI's. Nos Estados Unidos, por exemplo, a taxa de fungemia entre 1980 e 1990 aumentou em torno de quatro vezes, cerca de 10% de todas as infecções sanguíneas foram relacionadas a *Candida* sp. (Siqueira, 2021).

Quanto à sua patogenia, Da Silveira (2021) descreve que a transformação da levedura, de comensal a importante agente de infecções, ocorre em ambiente hospitalar e resulta do próprio progresso da medicina, como por exemplo, o grande número de procedimentos invasivos, uso intensivo de antimicrobianos sem prescrição médica e a capacidade de sustentar a vida de pessoas muito debilitadas e susceptíveis a microrganismos oportunistas.

Ribeiro *et al.* (2019) cita que a razão para emergência de espécies não-*albicans* não está ainda completamente elucidada, mas algumas condições médicas podem produzir impacto no risco de desenvolvimento de candidemia por essas espécies. Os autores ainda afirmam que, o complexo *C. parapsilosis* é responsável por candidemias a partir do uso de cateteres e nutrição parenteral, já *C. tropicalis* está mais associada a neoplasias e neutropenias, e *C. krusei* e *C. glabrata* estão mais associadas a candidemias de correntes de prévia exposição a azólicos (Ribeiro *et al.*, 2019).

2.2.1 Distribuição dos agentes causadores de candidemia em superfícies de UTI's

Um estudo realizado por Fernando *et al.* (2013) teve como objetivo, verificar se existia contaminação por fungos antes e após limpeza e desinfecção terminal de colchões hospitalares utilizados por portadores de candidemia. A pesquisa investigou 25 colchões de diferentes unidades hospitalares que eram utilizados por pacientes com candidemia, confirmados por hemocultura. Os resultados mostraram que 15 (60%) colchões estavam contaminados por *Candida spp.*

Desse total, 10 (66,7%) e cinco (33,3%) corresponderam respectivamente à coleta antes e após a desinfecção dos colchões, sendo que a espécie mais frequentemente isolada foi *C. parapsilosis*. Ao fim, os autores concluíram que, a metade dos colchões permaneceram contaminados após o processo de limpeza e desinfecção, e que isso, poderia inferir sobre o risco destes atuarem como reservatórios secundários na cadeia de infecção por este fungo (Fernando *et al.*, 2013).

Neste âmbito, a contaminação de superfícies de UTIs representa um desafio significativo na prevenção de infecções hospitalares, uma vez que, estudos científicos revelaram a presença de diversas espécies de *Candida* no ambiente hospitalar. Onishi *et al.* (2022) descreve que a transmissão desses microrganismos pode ocorrer por meio de contato direto com pacientes ou por meio de objetos contaminados, aumentando o risco de infecções fúngicas em pacientes internados. Quanto à disseminação de espécies de *Candida* em UTIs, estudos científicos têm documentado consistentemente a presença e disseminação em superfícies destas em hospitais.

Assim, foi elaborado o (**quadro 1**) que descreve os estudos que identificaram espécies de *Candida* em superfícies inanimadas nas Unidades de Terapia Intensiva.

Quadro 1: Estudos que identificaram espécies de *Candida* em superfícies inanimadas nas Unidades de Terapia Intensiva

Autor	Superfícies inanimadas	Espécies isoladas
Araújo <i>et al.</i> , 2015	Superfícies de redes de suprimento de oxigênio medicinal	<i>Candida albicans</i> ; <i>Candida parapsilosis</i>
Calumby <i>et al.</i> , 2022	Filtros de condicionadores de ar	<i>C.tropicalis</i> ; <i>C.parapsilosis</i>
Corcione <i>et al.</i> , 2022	Zonas equipadas com máquinas	<i>C. krusei</i> ; <i>C.glabrata</i> ; <i>C.parapsilosis</i>
Prigitano <i>et al.</i> , 2022	Bombas de infusão, mesas de paciente, computadores, pisos	<i>C. parapsilosis</i> , <i>C. glabrata</i>
Smith; Miller, 2024	Cortinas hospitalares, superfícies plásticas e metálicas	<i>C. auris</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. tropicalis</i>
Cadnum <i>et al.</i> , 2019	Pias, pisos, superfícies de alto contato	<i>C. auris</i> , outras espécies de <i>Candida</i>

Fonte: Autor, 2025

Nesta perspectiva, observa-se que os modos de contaminação no ambiente podem ocorrer de diversas maneiras, desde um contaminante interno como o estudo de Calumby *et al.* (2022) até um contaminante externo como a rede de suprimento de oxigênio (Araújo *et al.*, 2015). Dessa forma, tais evidências científicas destacam a importância de entender os padrões de disseminação das espécies de *Candida* nas UTI's, bem como os fatores de risco associados a sua colonização e infecção.

2.2.2 Contaminação em mãos de profissionais

Silva *et al.* (2021) analisaram em suas pesquisas, a frequência de *C. parapsilosis* nas mãos de trabalhadores e em superfícies da unidade de terapia intensiva adulto de um hospital terciário do Paraná-Brasil. Os resultados mostraram a presença de 223 leveduras, das quais 101 (45,29%) foram identificadas como *C. parapsilosis*. Destes, 46,66% foram encontradas em superfícies e 44,59% nas mãos dos funcionários.

Tavares *et al.* (2021), analisou a prevalência de microrganismos responsáveis por infecções relacionadas ao atendimento em saúde através de objetos de uso pessoal, como as mãos. O microrganismo mais prevalente nos profissionais foi *Candida* spp. em 54,6% (IC 47,2% - 62,1%) das amostras. Há correlação de contaminação cruzada entre mãos e celulares em 54,5%. As mãos, portanto, apresentam alto percentual de contaminação, e, ainda que a

prevalência dos outros seja menor, as mãos podem ser apontadas como o principal meio de contaminação cruzada em ambiente hospitalar.

Isto porque, as mãos entram em contato com os objetos e superfícies analisados, como o celular, podendo haver contaminação ou disseminação através delas. A higienização adequada e frequente das mãos é capaz de reduzir a carga microbiana nas superfícies, consequentemente diminuindo o potencial de transmissão de patógenos (Tavares *et al.*, 2021; Castro *et al.*, 2017).

Um estudo realizado por Castro *et al.* (2017), descreveu a ocorrência de espécies do complexo *C. parapsilosis* em amostras biológicas de pacientes e profissionais de hospitais do Natal/RN. Nas culturas das mãos, observou-se crescimento do gênero *Candida* em 24 das 196 amostras de mãos semeadas, dessas 10 (5%) eram *C. albicans*, 9 (4%) do complexo *C. parapsilosis*, 3 (2%) *C. tropicalis* e 2 (1%) *C. glabrata*.

Assim, é notável que diferentes motivos podem estar associados a estes achados, como o número de profissionais de saúde por paciente, qualificação dos profissionais, reutilização de material descartável, utilização de sistema aberto de infusão venosa, não lavagem das mãos de profissionais após terminarem os procedimentos ou a manipular pacientes, infringindo as práticas tidas como padrão de controle de infecção hospitalar.

2.2.3 Manejo clínico com medicamentos antifúngicos

Quanto ao tratamento, este envolve a administração de antifúngicos, sendo os mais comuns o Fluconazol, Itraconazol e Anfotericina B (Castilho *et al.*, 2019). O fluconazol e o Itraconazol, atuam inibindo a síntese de ergosterol, um componente importante das membranas celulares dos fungos, no caso da anfotericina B, esta interage com o ergosterol, que constitui o principal esterol da membrana plasmática fúngica, alterando a permeabilidade seletiva desta por originar poros permeáveis à saída de água, e de pequenas moléculas essenciais à sobrevivência do microrganismo (Castilho *et al.*, 2019; Souza *et al.*, 2020; Valares, 2023;).

Macalupú (2018) explica que algumas espécies de *Candida* têm desenvolvido resistência aos antifúngicos, o que torna o tratamento mais desafiador, por exemplo, o Itraconazol, é um triazol eficaz contra uma ampla variedade de fungos, incluindo algumas espécies de *Candida*. No entanto, *C. albicans* tem demonstrado uma capacidade limitada de desenvolver resistência ao itraconazol, principalmente devido a alterações na expressão de proteínas alvo, já a *C. glabrata* é conhecida por sua resistência intrínseca aos azóis, incluindo o itraconazol, devido a mutações em genes específicos que afetam a biossíntese de ergosterol, tornando-o menos eficaz contra essa espécie (Pais, 2019; Sagbay *et al.*, 2024).

Além disso, surgiu a *C. auris* que é uma espécie emergente que tem mostrado resistência a múltiplos antifúngicos, incluindo azólicos (Pais, 2019). Dessa forma, devido ao aumento no número de casos resistentes ao fluconazol nos últimos anos, as equinocandinas se tornaram a primeira escolha para o tratamento de candidíase invasiva em pacientes graves e em neutropênicos (Ramalho *et al.*, 2022). Logo, após o tratamento com o antifúngico, é necessário observar a estabilização do quadro clínico, comprovação de sensibilidade a azóis e a negatificação da hemocultura (Sakata *et al.*, 2022).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

- Avaliar a presença de leveduras do gênero *Candida*, em diferentes superfícies das Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) em hospitais na Cidade de Manaus.

3.2 Específicos

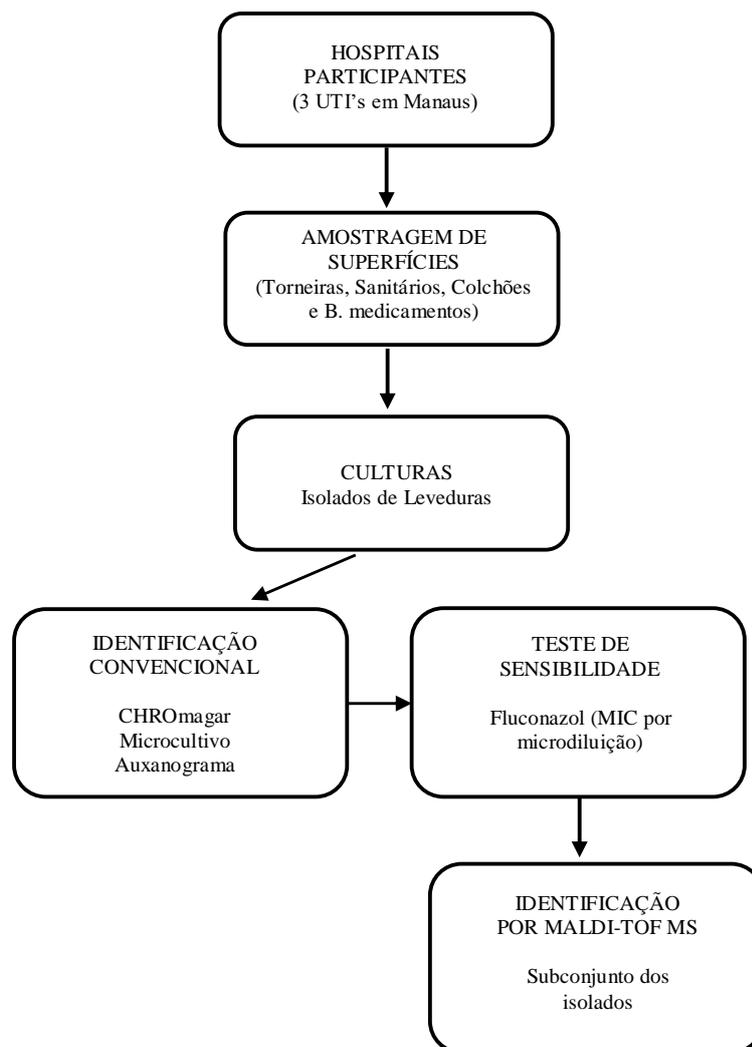
- Quantificar a Unidade Formadora de Colônia (UFC) de leveduras em torneiras de uso comum dos profissionais de saúde, sanitários e colchão de uso dos pacientes e bancadas de preparo de medicamentos das UTIs estudadas;
- Caracterizar, ao nível de espécie, os isolados de *Candida* por meio de métodos convencionais (Meio Cromogênico, Microcultivo e Auxanograma);
- Avaliar a sensibilidade dos isolados de *Candida* ao antifúngico Fluconazol;
- Identificar os isolados clínicos do gênero *Candida* por meio da Espectrometria de Massas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Modelo de estudo

O presente trabalho possui caráter descritivo e experimental realizado com metodologias padronizadas para o isolamento, identificação taxonômica e avaliação da sensibilidade aos antifúngicos de isolados de leveduras do gênero *Candida* obtidas a partir de superfícies hospitalares de três Unidades de Terapia Intensiva (UTI's) de Hospitais públicos localizados na cidade de Manaus, Amazonas. A sequência de análise foi realizada cronologicamente de acordo com o (figura 5).

Figura 5- Fluxograma representativo das etapas metodológicas realizadas no presente estudo para isolamento, identificação e avaliação da sensibilidade de isolados de *Candida* spp. provenientes de superfícies de UTI's de hospitais públicos de Manaus



4.2 Local de Estudo

Durante o período de Novembro/2024 a Janeiro de 2025, foram coletadas amostras de superfícies em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) de três unidades hospitalares públicas de saúde em Manaus (Adulto, Pediátrica e Neonatal). As amostras foram obtidas em colaboração com a Comissão Estadual de Prevenção e Controle de Infecção em Serviços de Saúde da Fundação de Vigilância em Saúde do Amazonas – Dra. Rosemary Costa Pinto (FVS-RCP), sob coordenação da servidora Evelyn Campelo, e com o apoio da Dra. Miharú Matos, Chefe da Unidade de Gestão da Pesquisa da Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (EBSERH).

4.3 Cepas padrão

No presente estudo foram utilizadas cepas de referência para os ensaios moleculares e analíticos da presente pesquisa (**quadro 2**).

Quadro 2: Cepas de referências depositadas nas coleções de interesse médico do INPA

Espécies	Linhagem
<i>Candida albicans</i>	ATCC 60193
<i>Candida albicans</i>	ATCC 36323
<i>Candida krusei</i>	ATCC 34135
<i>Candida tropicalis</i>	ATCC 13803
<i>Candida glabrata</i>	ATCC 2001
<i>Candida parapsilosis</i>	ATCC 22019

Fonte: Autor, 2025

4.4 Procedimentos de Coleta

A coleta de amostras foi realizada em três Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) na Cidade de Manaus-Amazonas, abrangendo superfícies potencialmente contaminadas. Esta etapa foi conduzida em triplicata para cada ponto de coleta, conforme recomendado por Paixão e Sidrim (1999). Para cada UTI, foram obtidas três amostras de cada uma das seguintes superfícies: torneiras de uso comum pelos profissionais de saúde, botões de descarga dos sanitários utilizados pelos profissionais, colchões hospitalares (n = 10) e bancadas de preparo de medicamentos, totalizando 39 amostras por unidade. Dessa forma, o estudo reuniu um total de 117 amostras das três UTIs, com o objetivo de isolar entre 30 e 70 colônias morfológicamente compatíveis com leveduras do gênero *Candida* spp.

A coleta inicial das superfícies nas Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) foi realizada uma hora após a limpeza de rotina hospitalar, utilizando swabs estéreis (Neolab) previamente

umedecidos com solução salina a 0,85%. Os swabs foram aplicados durante 30 segundos sobre áreas previamente delimitadas de 10 cm² em superfícies críticas, com o objetivo de determinar a contagem de Unidades Formadoras de Colônias (CFU) de leveduras aeróbicas.

Após a coleta, estes swabs foram transferidos para tubos de transporte de amostras e encaminhados ao Laboratório de Micologia do INPA, onde foram imediatamente semeados em placas contendo meio de cultura Ágar Sabouraud acrescido de cloranfenicol (100 mg/L) e incubadas a 35 °C por 48 horas.

Após o cultivo primário em Ágar Sabouraud, todas as colônias com morfologia macroscópica e micromorfológicas característica de leveduras foram avaliadas. Para fins de purificação e análise subsequente, os isolados foram selecionados segundo dois critérios principais: (i) presença de diferentes morfotipos de colônias (variações em forma, textura, elevação e coloração), visando capturar a diversidade fúngica presente nas amostras; e (ii) quando mais de dez colônias com morfologia semelhante estavam presentes em uma mesma placa, selecionou-se ao menos uma colônia para cada grupo de dez, de forma aleatória, a fim de minimizar a subestimação da diversidade microbiana.

4.5 Identificação Convencional ao nível de espécie

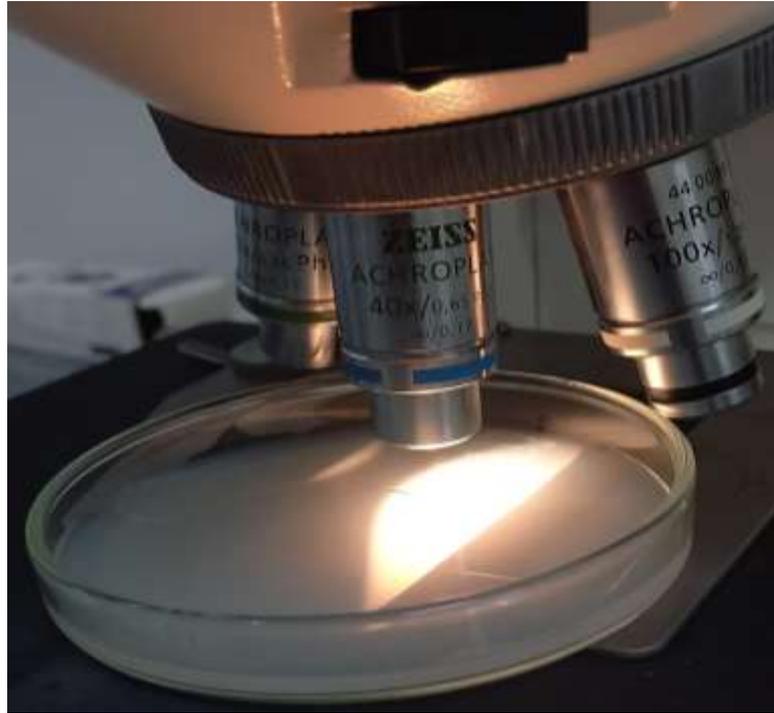
A identificação convencional das leveduras foi realizada por meio de três metodologias principais: avaliação micromorfológica em ágar fubá, crescimento em meio cromogênico CHROMagar™ *Candida* e teste de assimilação de açúcares por auxanograma.

4.5.1 Microcultivo em Ágar Fubá

O meio de cultura ágar fubá foi preparado conforme a metodologia descrita por Sidrim; Rocha (2004), utilizando 500 mL de água destilada, 20 g de fubá, 10 g de ágar e 5 mL de Tween 80, este último com a finalidade de induzir a formação de clamidósporos. A mistura foi aquecida em forno de microondas por aproximadamente 10 minutos até a completa dissolução do ágar, e em seguida filtrada com gaze estéril.

O meio foi então esterilizado em autoclave a 121 °C por 15 minutos, garantindo sua esterilização. Após o resfriamento, o meio foi vertido em placas de Petri, onde três isolados distintos foram inoculados por placa. Pequenas lamínulas foram colocadas sobre os pontos de inoculação, permitindo o desenvolvimento da estrutura micromorfológica para posterior análise, conforme apresentado na (**figura 6**).

Figura 6: Montagem para análise microscópica do microcultivo. Microscópio equipado com objetiva de 40x, sob a qual está posicionada uma placa de Petri contendo meio sólido de ágar fubá. Sobre o meio, encontram-se lâminas com amostras a serem observadas



Fonte: Autor, 2025

Os isolados foram incubados à temperatura ambiente por 24 a 72 horas. Após o crescimento, as lâminas foram analisadas em microscópio óptico (aumento de 40x) para avaliação da micromorfologia, observando-se estruturas típicas como blastoconídios, pseudohifas, pseudomicélio, células ovais e clamidósporos (**quadro 3**).

Quadro 3: Características micromorfológicas de espécies de *Candida* em ágar fubá

Características morfológicas de <i>Candida spp.</i> em ágar fubá	
Espécie	Estrutura
<i>C.albicans</i>	Blastoconídios em cachos, pseudohifas e clamidósporo
<i>C.tropicalis</i>	Blastoconídio em cadeia simples ou ramificada
<i>C.krusei</i>	Blastoconídios alongados e agrupados nas constrições do pseudomicélio
<i>C.parapsilosis</i>	Pseudohifas curvas e finas, células gigantes e “colônias de aranha”
<i>C.glabrata</i>	Pequenos blastoconídios

Fonte: Centers for disease control and prevention, 2025

4.5.2 Identificação por CHROMagar *Candida*

Inicialmente, foram pesados 47,7 g do pó do meio CHROMagar *Candida*, os quais foram dissolvidos em 1 litro de água destilada. A suspensão foi homogeneizada e aquecida em uma chapa aquecedora sob agitação constante até atingir o ponto de fervura por aproximadamente 1 minuto, assegurando a completa solubilização dos componentes. A autoclavagem foi evitada, uma vez que o meio é termossensível e pode perder suas propriedades cromogênicas quando exposto a altas temperaturas e pressões.

Após o preparo, o meio foi vertido em placas de Petri sob condições assépticas e deixado solidificar à temperatura ambiente. As placas foram armazenadas sob refrigeração (entre 2 °C e 8 °C) e protegidas da luz com papel alumínio, a fim de preservar a estabilidade dos cromóforos presentes no meio. Posteriormente, os isolados foram inoculados nas placas preparadas e incubados a 20 °C por 48 horas. Ao final da incubação, as culturas foram avaliadas quanto à morfologia das colônias e à coloração apresentada, características que foram comparadas aos padrões cromogênicos estabelecidos (**quadro 4**) para auxiliar na identificação presuntiva das espécies de *Candida*.

Quadro 4: Aspectos morfológicos e cromáticos de colônias de *Candida* spp. cultivadas em meio CHROMagar

Aspectos de cor e morfologia das colônias e Chromagar <i>Candida</i>	
Espécies	Características da colônia e pigmento
<i>C.albicans</i>	Aspecto liso/verde claro
<i>C.krusei</i>	Rugosa e borda indefinida/rosa claro
<i>C.tropicalis</i>	Lisa/azul escuro
<i>C.glabrata</i>	Lisa/lilás
<i>C.parapsilosis</i>	Lisa/rosa

Fonte: Difco, 2021

4.5.3 Auxanograma: Assimilação de açúcares

A assimilação de distintas fontes de carbono foi realizada por meio da técnica de auxanograma, conforme preconizado por Lacaz (2002). Para tal, procedeu-se inicialmente, à preparação do meio denominado Meio C, cuja composição é a seguinte: 5 g de sulfato de amônio, 1 g de fosfato monobásico de potássio, 0,5 g de sulfato de magnésio, 20 g de ágar e 1000 ml de água destilada.

A mistura foi submetida ao aquecimento em forno de microondas até completa dissolução do ágar, e, em seguida, autoclavada por um período de 15 minutos a 121 °C.

Posteriormente, o inóculo fúngico foi preparado utilizando uma alça calibrada de 5 µL, com a qual se transferiu material repicado de 24 horas, para 3 mL de solução salina estéril (0,85%). A suspensão foi homogeneizada em agitador tipo vórtex, transferida para tubo tipo Falcon de 20 mL sendo novamente homogeneizada para garantir a uniformidade celular. A seguir, a suspensão foi vertida sobre a superfície de placas de Petri contendo o Meio C, aguardando-se sua completa absorção e solidificação.

Em sequência, alíquotas de diferentes carboidratos (glicose, maltose, galactose, xilose e Rafinose), foram cuidadosamente depositadas sobre a superfície do meio, com o auxílio de uma espátula estéril. As placas foram então devidamente fechadas e mantidas em incubação à temperatura ambiente por um período de 72 horas.

Após o período de incubação, foi realizada a leitura dos resultados, observando-se a formação de halos claros ao redor das alíquotas de carboidratos, o que indicava a assimilação das respectivas fontes de carbono pelos isolados analisados. A leitura das placas foi realizada quanto ao perfil de assimilação obtido comparado ao das cepas padrão (**quadro 5**).

Quadro 5: Perfil de assimilação de carboidratos por *Candida* spp.

Espécie	Glicose	Maltose	Galactose	Xilose	Rafinose
<i>C.albicans</i>	+	+	+	+	+
<i>C.tropicalis</i>	+	+	+	+	+
<i>C.glabrata</i>	+	-	+	-	-
<i>C.krusei</i>	+	-	-	-	-
<i>C.parapsilosis</i>	+	+	-	+	+

Fonte: Lacaz, 2022

4.6 Sensibilidade CIM dos isolados do gênero *Candida* frente ao Fluconazol

Os ensaios para a determinação das Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) dos isolados do gênero *Candida* foram realizados seguindo o método de microdiluição em caldo, conforme as mais recentes diretrizes do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2017).

Para isso, foram utilizadas microplacas de 96 poços, nas quais foram adicionados 100 µL do antifúngico fluconazol e diluído em caldo RPMI-1640. As concentrações das substâncias foram ajustadas para abranger uma faixa que vai de 0,125 – 64 µg/mL para Fluconazol, conforme recomendado para avaliação da sensibilidade de leveduras isoladas de ambientes hospitalares.

Em seguida, foram adicionados 100 µL de um inóculo padronizado contendo $2,5 \times 10^3$ células/mL para leveduras aeróbicas. As microplacas foram então incubadas a 35 °C por 24 horas. A CIM foi definida como a menor concentração do antifúngico capaz de inibir completamente (100%) o crescimento fúngico, em comparação com os controles de crescimento e esterilidade.

4.7 Identificação por Espectrometria de Massas: MALDI-TOF

Os isolados de *Candida* spp. que apresentaram Concentração Inibitória Mínima (CIM) igual ou superior a 8 µg/mL foram submetidos à identificação por espectrometria de massa utilizando a técnica de ionização por dessorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF MS). Esta técnica é amplamente empregada na microbiologia clínica devido à sua elevada precisão, rapidez e reprodutibilidade (Karas; Hillenkamp, 1988; Tanaka, 1987).

A identificação de espécies do gênero *Candida* por MALDI-TOF foi realizada conforme os protocolos padronizados para microrganismos. Este foi preparado da seguinte forma: O preparo da amostra consistiu na transferência de uma pequena quantidade de colônia, previamente isolada em placa de Petri por estrias de esgotamento. Com o auxílio de um palito de madeira estéril, a amostra foi inserida em um spot na placa-alvo do equipamento. Em seguida, aplicou-se 1 µL da matriz HCCA (ácido α -ciano-4-hidroxicinâmico) sobre a amostra.

Após a secagem à temperatura ambiente, o spot foi submetido à leitura no espectrômetro de massas, que gerou um espectro proteico característico para comparação com a base de dados do equipamento, permitindo assim a identificação da espécie de levedura analisada.

4.8 Análise estatística

Todos os experimentos foram realizados em triplicata independente, e os resultados das quantificações de carga fúngica foram expressos como média \pm desvio padrão (n=3). Inicialmente, a normalidade dos dados foi avaliada utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Como a maioria das variáveis apresentou distribuição não normal ($p < 0,05$), optou-se pela aplicação de testes estatísticos não paramétricos para as análises subsequentes.

5 ANÁLISE DOS RESULTADOS

Os resultados e discussão do presente trabalho estão apresentados em formato de artigo, o qual será submetido a revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, S.; ALFOUZAN, W. *Candida auris*: Epidemiology, Diagnosis, Pathogenesis, Antifungal Susceptibility, and Infection Control Measures to Combat the Spread of Infections in Healthcare Facilities. *Microorganisms*, v. 9, n. 4, p. 807, 11 abr. 2021. DOI: 10.3390/microorganisms9040807. PMID: 33920482; PMCID: PMC8069182.
- ALVES, Barbara Livia Queirós *et al.* Avaliação da atividade antifúngica em fungos da espécie *Candida albicans* dos extratos etanólicos das folhas da planta *Plantago major* coletadas no oeste do estado do Paraná. *Plantas Medicinais e suas Potencialidades*, v. 1, n. 1, p. 63-72, 2023.
- BALDE, Mohamed Saido; DAMASCENO, Lisandra Serra. Infecções fúngicas invasivas em pacientes com Covid-19 em um hospital público no Nordeste do Brasil. 2020-2021. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 26, p. 102493, 2022.
- BARBOSA, Elis Rodrigues Oliveira; DE OLIVEIRA, Analú Barros; BRIGHENTI, Fernanda Lourenção. Efeitos clínicos do uso da terapia fotodinâmica antimicrobiana em infecções fúngicas orais. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 50, n. especial, p. 0-0, 2022.
- BASSETTI, Matteo *et al.* Diagnóstico e tratamento da candidemia na unidade de terapia. Publishers, 2019. p. 524-539. Disponível em: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0039-1693704>. Acesso em: 26 dez. 2023.
- BONA, E. A. M. *et al.* Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. *Arquivos do Instituto Biológico*, 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aib/a/mwDLMCbVGPRvH4gdFNJMV4F/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 21 dez. 2023.
- BRANCO, Joana; MIRANDA, Isabel M.; RODRIGUES, Acácio G. Virulência de *Candida parapsilosis* e mecanismos de resistência antifúngica: uma revisão abrangente dos principais determinantes. *Journal of Fungi*, v. 9, n. 1, p. 80, 2023.
- BRANDT, Flavio Pasa *et al.* Epidemiologia das candidemias durante o período de pandemia da COVID-19 em hospital de ensino: dados preliminares. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 26, p. 102436, 2022.
- BUTLER, G. *et al.* Evolution of pathogenicity and sexual reproduction in eight *Candida* genomes. *Nature*, v. 459, p. 657-662, 2009.
- CARVALHO, Melyssa Souza *et al.* Enftalmite fúngica: relato de caso. **Revista de Patologia do Tocantins**, v. 8, n. 3, p. 38-41, 2021.
- CASTRO, Tito Lívio *et al.* Mecanismos de resistência da *Candida* sp. a antifúngicos. *Infarma*, v. 18, n. 9, p. 10, 2006.
- CHASTAIN, D. *et al.* Candidemia em pacientes adultos na UTI: uma reavaliação dos testes de suscetibilidade e terapia antifúngica. *Ann Pharmacother.*, v. 58, n. 3, p. 305-321, mar. 2024. DOI: 10.1177/10600280231175201. Epub 2023 jun 5. PMID: 37272474.

CHOWDHARY, Anuradha; JAIN, Kusum; CHAUHAN, Neeraj. Genética e emergência de *Candida auris*. *Annual Review of Microbiology*, v. 77, n. 1, p. 583-602, 2023.

CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. M100-S27th. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2017.

CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. M100-S25th. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2015.

CORNELY, Oliver A. Isavuconazol: há necessidade de um novo antifúngico? *Revista de Quimioterapia Antimicrobiana*, v. 72, n. supl_1, p. i2-i4, 2017.

DA ROCHA, Wilma Raianny Vieira *et al.* Gênero *Candida*: fatores de virulência, epidemiologia, candidíase e mecanismos de resistência. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 4, p. e43910414283, 2021.

DANESHNIA, Farnaz *et al.* Emergência mundial de *Candida parapsilosis* resistente a fluconazol: estrutura atual e roteiro de pesquisa futura. *The Lancet Microbe*, v. 4, n. 6, p. e470-e480, 2023.

DIAS, Gabriela Hermida *et al.* Isolamento e caracterização de *Candida* sp. no mamilo de lactantes de uma maternidade da rede pública na cidade de Manaus. **Revista Scientia Amazonia**, v. 7, n. 3, 2018. Disponível em: <http://scientia-amazonia.org/wp-content/uploads/2018/08/v7-n3-cs29-cs37-2018.pdf>. Acesso em: 21 dez. 2022.

DOMINGUES, Sabrina de Alvarenga *et al.* Atividade antifúngica de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf frente às leveduras do gênero *Candida* sp. 2021.

FRANÇA, Hélio Emmanuel Pinto; DA SILVA, Lucas Isaque Melo; JÚNIOR, Jorge Belém Oliveira. Métodos diagnósticos para identificação de *Candida auris*. *Seminários de Biomedicina do Univag*, v. 5, 2020.

GIOLO, Muriel Padovani; SVIDZINSKI, Terezinha Inez Estivalet. Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 46, p. 225-234, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpml/a/jJGxZBNpPSJtMZTk7t7Khmk/?lang=pt&format=html>. Acesso em: 26 dez. 2022.

HASSAN, Yahaya; CHEW, Shu Yih; THAN, Leslie Thian Lung. *Candida glabrata*: patogenicidade e mecanismos de resistência para adaptação e sobrevivência. *Journal of Fungi*, v. 7, n. 8, p. 667, 2021.

ITAPARY, Camilla *et al.* Atividade antifúngica e antivirulenta de *Lactobacillus* spp. produtos contra isolados vaginais de *Candida*. *Patógenos*, v. 8, n. 3, p. 150, 2019.

JAMIU, A. T. *et al.* Update on *Candida krusei*, a potential multidrug-resistant pathogen. *Medical Mycology*, v. 59, n. 1, p. 14-30, 2021.

KUMAR, S.; STECHER, G.; LI, M.; KNYAZ, C.; TAMURA, K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, v. 35, p. 1547-1549, 2018.

LACAZ, C. da S. *et al.* Tratado de Micologia Médica. **Revista do Instituto de Medicina Tropical** de São Paulo, v. 5, p. 297-298, 2002.

LASS-FLÖRL, Kanj SS *et al.* Candidíase invasiva. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 10, n. 1, p. 20, 2024. DOI: 10.1038/s41572-024-00503-3. PMID: 38514673.

LIMA, Letícia Souza; LACERDA, Valquíria Alice Michalczechen. Os efeitos do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel no tratamento da candidíase vulvovaginal recorrente. **Revista Brasileira Interdisciplinar de Saúde**, 2022.

LYMAN, Meghan *et al.* Piora na disseminação de *Candida auris* nos Estados Unidos, 2019 a 2021. *Annals of Internal Medicine*, v. 176, n. 4, p. 489-495, 2023.

MCCARTY, Todd P.; BRANCO, Cameron M.; PAPPAS, Peter G. Candidemia e candidíase invasiva. *Clínicas de Doenças Infecciosas*, v. 35, n. 2, p. 389-413, 2021.

MÍMICA, Lycia Mara Jenne *et al.* Diagnóstico de infecção por *Candida*: avaliação de testes de identificação de espécies e caracterização do perfil de suscetibilidade. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 45, p. 17-23, 2019. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpl/a/44GdgxsNDPmY6n4nVCZJWKq/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 04 jan. 2023.

NASCIMENTO, Adriana Rocha. Infecção relacionada à assistência à saúde causada por leveduras do gênero *Candida*. 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/BUOS-99RGMZ>. Acesso em: 22 dez. 2022.

NUCCI, Márcio *et al.* Aumento da incidência de candidemia em um hospital terciário com a pandemia de COVID-19. *Micoses*, v. 64, n. 2, p. 152-156, 2021.

O'DONNELL, K. The fungal holomorph; mitotic, meiotic and pleomorphic speciation in fungal systematic. In: *Fusarium and Its Near Relatives*. CAB International, Wallingford, UK, 1993. p. 225-3.

PHONGKHUN, K. *et al.* Prevalência de candidíase ocular e endoftalmite por *Candida* em pacientes com candidemia: uma revisão sistemática e meta-análise. *Clinical Infectious Diseases*, v. 76, n. 10, p. 1738-1749, 24 maio 2023. DOI: 10.1093/cid/ciad064. PMID: 36750934; PMCID: PMC10411939.

ROCHA, Ana Paula Santiago. Infecções fúngicas sistêmicas em unidade de terapia intensiva: diagnóstico e aplicação da hemopexina em modelos biológicos in vitro. 2019.

SCHAEFER, C. C. S. *et al.* *Candida auris*: características clínicas de uma levedura nosocomial emergente resistente a medicamentos. **Revista Brasileira de Desenvolvimento**, v. 8, n. 5, p. 37062-37077, 2022.

SHARMA, Amrit. Candidíase oral: uma infecção oportunista: uma revisão. *International Journal of Applied Dental Sciences*, v. 1, p. 23-27, 2019.

SILVA, Carla Dal Guedes; SANCHES, Camila Garcia Salvador. *Candida* parapsilosis: resistência aos antifúngicos. *Revista de Saúde e Biologia*, v. 17, p. 1-16, 2022. Disponível em: <http://68.183.29.147/revista/index.php/sabios/article/view/3113>. Acesso em: 20 dez. 2022.

SILVA, Kassia Gabriela Vieira *et al.* Morfologia, epidemiologia e virulência de espécies do gênero *Candida*. *Tópicos nas Ciências da Saúde*, v. 7, p. 42, 2021.

SILVA, Lurdeti Bastos; NASCENTE, Patrícia Silva; XAVIER, Melissa Orzechowski. *Candida* spp. em superfície de equipamentos hospitalares de suporte ventilatório ao paciente crítico. **Revista de Ciências da Saúde**, v. 24, n. 1, p. 27-34, 2012. Disponível em: <https://periodicos.furg.br/vittalle/article/view/5104>. Acesso em: 20 dez. 2022.

SILVEIRA, Alice Cristiane Rangel. **Infecções fúngicas em unidade de terapia intensiva cardiológica e caracterização dos agentes etiológicos quanto à capacidade de aderência e formação de biofilme**. 2021. Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal de Pernambuco. Disponível em: <https://attena.ufpe.br/handle/123456789/16730>. Acesso em: 24 dez. 2022.

SIQUEIRA, Giselle Diniz Guimarães *et al.* Fatores de virulência de *Candida* em pacientes com câncer de cabeça e pescoço tratados em um centro de referência do estado do Amazonas. 2021. Tese (Doutorado). Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/47822>. Acesso em: 02 jan. 2023.

SOARES, Luís Paulo de Miranda Araújo; DE OLIVEIRA, Rafael Trindade; CARNEIRO, Irna Carla do Rosário Souza. Infecções da corrente sanguínea por *Candida* spp. em unidade neonatal de hospital de ensino da Região Norte do Brasil: estudo dos fatores de risco. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 4, n. 3, p. 6, 2013. Disponível em: <http://revista.iec.gov.br/submit/index.php/rpas/article/view/624>. Acesso em: 02 jan. 2023.

SOUZA, Ândrea Celestino de. Identificação e determinação do perfil de sensibilidade de forma rápida de *Candida* spp. isoladas de hemoculturas. 2021.

STANISZEWSKA, Monika. Fatores de virulência em espécies de *Candida*. *Current Protein and Peptide Science*, v. 3, p. 313-323, 2020.

SYRMOS, Nikolaos Ch.; GIANNOULI, Vaitisa; TURGUT, Mehmet. Aspectos históricos das infecções fúngicas. In: *Infecções Fúngicas do Sistema Nervoso Central: Patógenos, Diagnóstico e Tratamento*, 2019. p. 3-9.

TAVARES, A. *et al.* Prevalência de microrganismos responsáveis por infecções relacionadas ao atendimento em saúde através de objetos de uso pessoal, mãos e paredes, 2021.

TODA, Mitsuru *et al.* Vigilância ativa baseada na população para candidemia confirmada por cultura – quatro locais, Estados Unidos, 2012–2016. *Resumos de Vigilância MMWR*, v. 68, n. 8, p. 1, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6772189/>. Acesso em: 26 dez. 2022.

VANNINI, V. *et al.* Epidemiologia da candidemia na área de NICE, França: Um estudo de cinco anos sobre suscetibilidade e mortalidade antifúngica. *Journal of Mycology Medicine*, v. 32, n. 1, p. 101210, mar. 2022. DOI: 10.1016/j.mycmed.2021.101210. Epub 2021 out 21. PMID: 34768155.

WANG, Dan *et al.* Distribuição de *Candida tropicalis* e resistência a medicamentos estão correlacionadas com a expressão de ERG11 e UPC2. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, v. 10, p. 1-9, 2021.

WENZEL, Richard P.; GENNINGS, Chris. Infecções da corrente sanguínea por espécies de *Candida* na unidade de terapia intensiva: identificando pacientes especialmente de alto risco para determinar estratégias de prevenção. *Doenças Infecciosas Clínicas*, v. 41, n. Supl_6, p. S389-S393, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16108005/>. Acesso em: 04 jan. 2023.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. Amplificação e sequenciamento de genes de fungos ribossomal RNA para filogenética. In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, 1990.

ZARDO, Vanessa; MEZZARI, Adelina. Os antifúngicos nas infecções por *Candida* sp. *NewsLab*, v. 63, p. 136-146, 2004.

Artigo Original

Prevalência, Identificação e Perfis de Resistência de *Candida* spp. em Unidades de Terapia Intensiva de Manaus: Implicações para o Controle de Infecções Hospitalares

Vanessa de Sá Pinheiro ^[1], **Danielle Barreto de Almeida** ^[1], **Nayara de Fátima Lazameth Diniz** ^[1], **Ana Cláudia Alves Córtez** ^[2], **Carlos Daniel Santos de Souza**^[2], **Patrícia dos Santos Souza** ^[2], **Evelyn César Campelo** ^[5], **Naira Sulany Oliveira de Sousa** ^[4], **Izabela de Mesquita Bárcia Moreira** ^[4], **Miharu Maguinoria Matsuura Matos** ^[6], **Antônio Kleber de Flávia da Silva Fernandes** ^[7], **Walter Oliva Pinto Filho Segundo** ^[4], **Érica Simplício de Souza** ^[8] e **João Vicente Braga de Souza** ^[2].

[1] Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Manaus – AM, Brasil.

[2] Laboratório de Micologia, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, Manaus - AM, Brasil.

[3] Laboratório Temático de Biologia Molecular, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus - AM, Brasil.

[4] Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte, Universidade do Estado Amazonas, Manaus - AM, Brasil.

[5] Comissão Estadual de Controle de IRAS e Segurança do Paciente do Amazonas, Fundação de Vigilância em Saúde-FVS.

[6] Gerência de Ensino e Pesquisa do HUGV/EBSERH.

[7] Divisão de Análises Clínicas- Laboratório Reunidos da Amazônia.

[8] Pós-graduação Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade do Estado do Amazonas – UEA, Manaus – AM, Brasil.

RESUMO

A presença de leveduras do gênero *Candida* em superfícies de Unidades de Terapia Intensiva (UTI's) representa um risco potencial para infecções hospitalares, especialmente em regiões com poucos dados sobre contaminação fúngica ambiental. Este estudo teve como objetivo

quantificar a carga fúngica, identificar as espécies de *Candida*, avaliar a susceptibilidade ao fluconazol e validar a identificação convencional com MALDI-TOF MS dos isolados provenientes de superfícies inertes em UTIs de três hospitais públicos da Cidade de Manaus, Brasil. As amostras ambientais foram coletadas entre novembro de 2024 e janeiro de 2025, com isolamento em ágar sabouraud, seguido por identificação morfológica, bioquímica, teste de concentração inibitória mínima (CIM) para fluconazol e confirmação por MALDI-TOF MS. Das 117 amostras foram obtidos um total de 70 isolados com maior carga fúngica no Hospital C (24 isolados), seguido pelos hospitais A (23) e B (23). As espécies mais prevalentes foram *Candida parapsilosis* e *Candida glabrata*, enquanto *Candida tropicalis* apresentou a maior CIM média (8,00 µg/mL), sugerindo maior resistência ao fluconazol. Houve 100% de concordância entre identificação convencional e MALDI-TOF para as espécies *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*, enquanto os isolados previamente classificados como não-*albicans* foram identificados como *C. parapsilosis* por MALDI-TOF. Esses achados destacam a variabilidade na carga fúngica e no perfil de espécies entre os hospitais, a importância do monitoramento da resistência antifúngica e o papel do MALDI-TOF na identificação precisa de *Candida* em ambientes hospitalares da região Amazônica.

Palavras-chave: Leveduras; Unidade Terapia Intensiva; *Candida*; Ambiente hospitalar.

INTRODUÇÃO

As infecções invasivas causadas por leveduras do gênero *Candida* (Langenbeck, 1839), representam um desafio clínico em unidades de terapia intensiva (UTI), especialmente em regiões com características ambientais e epidemiológicas peculiares, como a Amazônia. A alta prevalência dessas infecções está relacionada a fatores como o uso prolongado de dispositivos invasivos, antimicrobianos de amplo espectro e a condição imunológica dos pacientes internados (Deberaldini *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2021; Melo *et al.*, 2023).

Dados dos Estados Unidos da América (EUA) estimam a ocorrência de aproximadamente 2.800 casos anuais de candidemia, com mortalidade em torno de 40% (Antunes *et al.*, 2020). No Brasil, a taxa de incidência é de 2,49 casos por 1.000 admissões hospitalares (Brasil, 2020). No Estado do Amazonas, dados locais indicam incidência de 2,31 casos por 1.000 internações e 0,61 casos por 1.000 pacientes/dia (Silva, 2018), evidenciando a relevância regional do problema.

Dentre os principais agentes causadores, estão as espécies do gênero *Candida*: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* e *Candida auris* (Bassetti, 2019; Toda *et al.*, 2019). Quanto à sua distribuição, esta é ampla e reflete a complexidade das interações entre o hospedeiro e esses microrganismos oportunistas, a exemplo de *C. albicans*, que embora seja o patógeno mais comum associado à candidemia, está sendo desafiado por outras espécies de patogênicas de *Candida* em infecções sistêmicas hospitalares (Soares *et al.*, 2019; Poissy *et al.*, 2020; Córtes *et al.*, 2020; Sano *et al.*, 2021; Thomáz *et al.*, 2022; Hadano *et al.*, 2022; Blanckeheim *et al.*, 2022; Gunner *et al.*, 2023; Chen *et al.*, 2023; Duarte *et al.*, 2023).

Embora estudos anteriores tenham amplamente investigado a presença de *Candida* em superfícies hospitalares identificando espécies como: *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. guilliermondii*, (Nascimento, 2011; Silva *et al.*, 2012; Silveira, 2021), no Estado do Amazonas, os trabalhos existentes limitam-se à análise de casos clínicos de fungemia, sem abordar a presença dessas leveduras em superfícies ambientais hospitalares (Soares, 2013; Correa, 2014; Pereira, 2015; Siqueira, 2021).

A ausência de monitoramento fúngico ambiental nas UTI's compromete a identificação precoce de agentes patogênicos e favorece a disseminação cruzada entre pacientes. A compreensão da ecologia e da dinâmica de transmissão de espécies de *Candida* em ambientes hospitalares. Uma vez que, o monitoramento e a compreensão da dinâmica de transmissão das espécies de *Candida* é fundamental para implementar medidas eficazes de controle de infecção e promover a segurança dos pacientes.

Diante desse cenário, o presente estudo teve como objetivo investigar a presença de leveduras do gênero *Candida* em superfícies frequentemente manipuladas de UTI's de hospitais públicos de Manaus, identificando as espécies isoladas, avaliando seus perfis de resistência a antifúngicos e verificando a ocorrência de *Candida auris*.

MATERIAL E MÉTODOS

Modelo de estudo

Trata-se de um estudo descritivo, exploratório e experimental, conduzido com o objetivo de isolar, identificar taxonomicamente e avaliar a sensibilidade antifúngica de leveduras do gênero *Candida* obtidas a partir de superfícies inanimadas localizadas em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) de hospitais públicos da cidade de Manaus, Amazonas.

Local de Estudo

Durante o período de Novembro/2024 a Janeiro de 2025, foram coletadas amostras de superfícies em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) de três unidades hospitalares públicas de saúde em Manaus (Adulto, Pediátrica e Neonatal). Estas amostras foram obtidas em colaboração com a coordenadora da Comissão Estadual de Prevenção e Controle de Infecção em Serviços de Saúde da FVS-RCP, Evelyn Campelo e a Dra. Miharú Matos, Chefe de Unidade da Gestão da Pesquisa (EBSERH).

Cepas padrão

No presente estudo foram utilizadas cepas de referência para os ensaios moleculares e analíticos da presente pesquisa (**quadro 2**).

Quadro 2: Cepas de referências depositadas nas coleções de interesse médico do INPA

Espécies	Linhagem
<i>Candida albicans</i>	ATCC 60193
<i>Candida albicans</i>	ATCC 36323
<i>Candida krusei</i>	ATCC 34135
<i>Candida tropicalis</i>	ATCC 13803
<i>Candida glabrata</i>	ATCC 2001
<i>Candida parapsilosis</i>	ATCC 22019

Fonte: Autor, 2025

Procedimentos

UFC de leveduras aeróbicas nas superfícies da UTI

A coleta de amostras foi realizada em três Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) na Cidade de Manaus-Amazonas, abrangendo superfícies potencialmente contaminadas (**figura 7**). Esta etapa foi conduzida em triplicata para cada local de coleta, conforme recomendado por Paixão e Sidrim (1999).

Para cada UTI, foram coletadas 3 amostras da torneira de uso comum dos profissionais de saúde, 3 amostras do botão de sanitários de uso dos pacientes, 3 amostras de 10 colchão dos pacientes e 3 amostras da bancada de preparo de medicamentos, totalizando 39 amostras por UTI. Assim, o estudo contemplou um total de 117 amostras das três UTIs, com o objetivo de obter entre 30 a 70 isolados de culturas morfológicamente compatíveis com *Candida spp.*

A coleta inicial das superfícies nas Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) foi realizada uma hora após a limpeza de rotina hospitalar, utilizando swabs estéreis (Neolab) previamente umedecidos com solução salina a 0,85%. Os swabs foram aplicados durante 30 segundos sobre

áreas previamente delimitadas de 10 cm² em superfícies críticas, com o objetivo de determinar a contagem de Unidades Formadoras de Colônias (CFU) de leveduras aeróbicas.

Após a coleta, estes swabs foram transferidos para tubos de transporte de amostras e encaminhados ao Laboratório de Micologia do INPA, onde foram inoculados em placas contendo meio de cultura Ágar Sabouraud com cloranfenicol (100 mg/L) para a incubação por 48 horas a 35°C. Após o cultivo primário em Ágar Sabouraud, todas as colônias com morfologia macroscópica e micromorfológicas característica de leveduras foram avaliadas.

A seleção dos isolados da placa a serem purificados para as análises subsequentes seguiu dois critérios principais: (i) amostras que apresentaram diferentes aspectos de colônias quanto à forma, textura, elevação e cor (visando capturar a diversidade morfológica presente nas placas de isolamento); e (ii) em casos onde dez ou mais colônias com morfologia semelhante estavam presentes em uma mesma placa, adotou-se a estratégia de selecionar aleatoriamente pelo menos um isolado a cada grupo de dez colônias.

Figura 7: Coleta de amostras nas Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) avaliadas. As áreas foram definidas com base no grau de manipulação e no potencial de disseminação de microrganismos: (A) Bancadas de preparo de medicamentos; (B) Torneiras de uso comum dos profissionais de saúde; (C) Colchões de pacientes internados e (D) Botão de acionamento do sanitário dos profissionais.



Fonte: Autor, 2025

Identificação ao nível de espécie, dos isolados do gênero *Candida*

Micromorfologia em Ágar Fubá

Para a análise micromorfológica dos isolados do gênero *Candida*, foi utilizado o meio de cultura ágar fubá, preparado com os seguintes componentes: 100 mL de água destilada, 3,2 g de fubá de milho, 1,7 g de ágar-ágar e 2 mL de Tween 80, este último adicionado com a finalidade de induzir a formação de clamidósporos. A mistura foi homogeneizada e esterilizada em autoclave a 121 °C por 15 minutos.

Após o resfriamento, o meio foi vertido em placas de Petri estéreis, nas quais foram inoculados até três isolados distintos por placa. Sobre cada ponto de inoculação foi colocada uma lamínula, permitindo o crescimento em condições semi-anaeróbicas. As placas foram incubadas à temperatura ambiente (25 ± 2 °C) por 24 a 48 horas. Ao término do período de incubação, as lamínulas foram cuidadosamente removidas e as preparações observadas ao microscópio óptico, utilizando objetiva de 40x. Foram avaliadas as estruturas micromorfológicas típicas das espécies do gênero *Candida*, como blastoconídios, pseudohifas, células ovais (ovoides) e clamidósporos

Teste de assimilação de açúcares (Auxanograma com meio YNB)

A capacidade de assimilação de diferentes fontes de carbono pelos isolados foi avaliada em meio YNB (Yeast Nitrogen Base; Difco Laboratories, Detroit, MI, EUA), suplementado com 1% (p/v) de cada carboidrato testado. O meio YNB foi preparado, fundido e resfriado a aproximadamente 40–45 °C. Em seguida, foi adicionado a um tubo de ensaio contendo uma suspensão celular padronizada com concentração de 10^6 células/mL, previamente preparada em solução salina estéril. A mistura foi homogeneizada e imediatamente vertida em placas de Petri estéreis. Após a solidificação do meio, foram aplicadas gotas de cada uma das cinco fontes de carbono testadas: glicose, maltose, galactose, xilose e rafinose.

As placas foram incubadas a 30 °C por um período de 2 a 6 dias, em estufa microbiológica (marca Quimis®), sendo avaliadas quanto ao crescimento ao redor de cada substrato a cada 48 horas, por até 7 dias. Por fim, as informações serão comparadas com os dados da (tabela 4) para descrição da possível espécie.

Identificação CHROMagar *Candida*

A identificação presuntiva das espécies de *Candida* foi realizada com o auxílio do meio cromogênico CHROMagar™ *Candida* (Difco®, EUA), que permite a diferenciação de algumas espécies com base na morfologia e coloração das colônias, além de facilitar a exclusão de

contaminações por outras leveduras e bactérias, devido ao contraste cromático característico (Goiabeira, 2022).

Para o preparo do meio, foram dissolvidos 47,7 g do pó desidratado em 1 L de água purificada. A mistura foi aquecida sob agitação constante até fervura por 1 minuto, garantindo a completa homogeneização. Após resfriamento, o meio foi vertido em placas de Petri estéreis e armazenado em geladeira (2–8 °C), protegidas da luz com papel alumínio. As amostras fúngicas previamente isoladas foram repicadas em placas contendo CHROMagar e incubadas à temperatura ambiente (20 °C) por 24 a 48 horas. Após o crescimento, as colônias foram avaliadas quanto à coloração (verde, azul, rosa, lilás) e à morfologia típica de cada espécie, conforme protocolo do fabricante

Sensibilidade CIM dos isolados do gênero *Candida* frente aos antifúngicos convencionais

A avaliação da sensibilidade dos isolados do gênero *Candida* frente a antifúngicos de uso clínico foi realizada por meio do ensaio de microdiluição em caldo, seguindo as diretrizes do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), documento M27-A4 (2017). A substância testada foi o fluconazol. A solução antifúngica foi preparada em meio RPMI 1640 tamponado com MOPS e ajustadas para cobrir as seguintes faixas de concentração: 0,125 a 64 µg/mL para fluconazol.

O ensaio foi conduzido em microplacas de poliestireno estéreis com 96 poços, nas quais foram distribuídos 100 µL de cada solução antifúngica por poço. Em seguida, adicionou-se 100 µL de uma suspensão fúngica padronizada contendo aproximadamente $2,5 \times 10^3$ células/mL de cada isolado, obtida a partir de culturas recentes em meio Sabouraud Dextrose Ágar.

As placas foram incubadas a 35 °C por 24 a 48 horas. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi definida como a menor concentração do antifúngico capaz de inibir 100% do crescimento visível em comparação com o controle positivo. Para confirmação da Concentração Fungicida Mínima (CFM), alíquotas de 10 µL foram retiradas dos poços sem crescimento e semeadas em placas de Ágar Sabouraud, com posterior incubação a 35 °C por 48 horas (Bona *et al.*, 2014).

Identificação por Espectrometria de Massa: MALDI-TOF

Os isolados de *Candida* spp. que apresentaram Concentração Inibitória Mínima (CIM) igual ou superior a 8 µg/mL foram submetidos à identificação por espectrometria de massa utilizando a técnica de ionização por dessorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF MS),

técnica amplamente utilizada para a identificação microbiológica devido à sua precisão e rapidez (Karas; Hillenkamp, 1988; Tanaka, 1987). A identificação de espécies do gênero *Candida* por MALDI-TOF foi realizada conforme os protocolos padronizados para microrganismos.

O preparo da amostra foi realizado por meio da transferência de uma pequena quantidade do microrganismo, previamente isolado em placa de Petri por estrias de desgaste. Com o auxílio de um palito de madeira, a amostra foi inserida em um spot na placa-alvo do MALDI-TOF.

Em seguida, aplicou-se 1 µL de matriz HCCA (ácido α -ciano-4-hidroxicinâmico) sobre a amostra. Após a secagem, o spot estava pronto para a leitura, onde o espectrômetro gerou um perfil de massas característico que foi utilizado para a identificação da espécie fúngica leveduriforme, conforme o banco de dados da biblioteca do equipamento.

Análise estatística

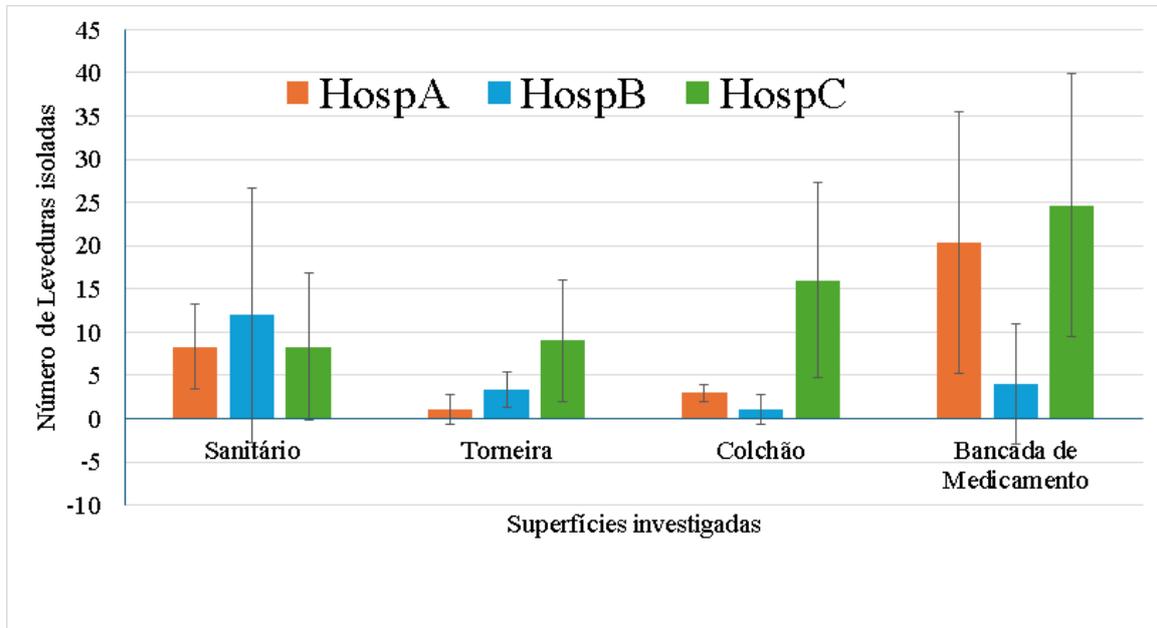
Todos os experimentos foram realizados em triplicata independente, e os resultados das quantificações de carga fúngica foram expressos como média \pm desvio padrão (n=3). Inicialmente, a normalidade dos dados foi avaliada utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Como a maioria das variáveis apresentou distribuição não normal ($p < 0,05$), foram aplicados testes estatísticos não paramétricos.

RESULTADOS

Quantificação de leveduras em diferentes superfícies das UTI's

Frente ao objetivo específico de quantificar a presença de leveduras do gênero *Candida* em superfícies frequentemente manipuladas de UTIs, observou-se variação na carga fúngica entre os três hospitais investigados. Conforme demonstrado na (**figura 8**), o número total de leveduras identificadas foi de 25 no Hospital C (neonatal), 23 no Hospital B (Adulto) e 24 no Hospital A (pediátrico), totalizando 72 isolados.

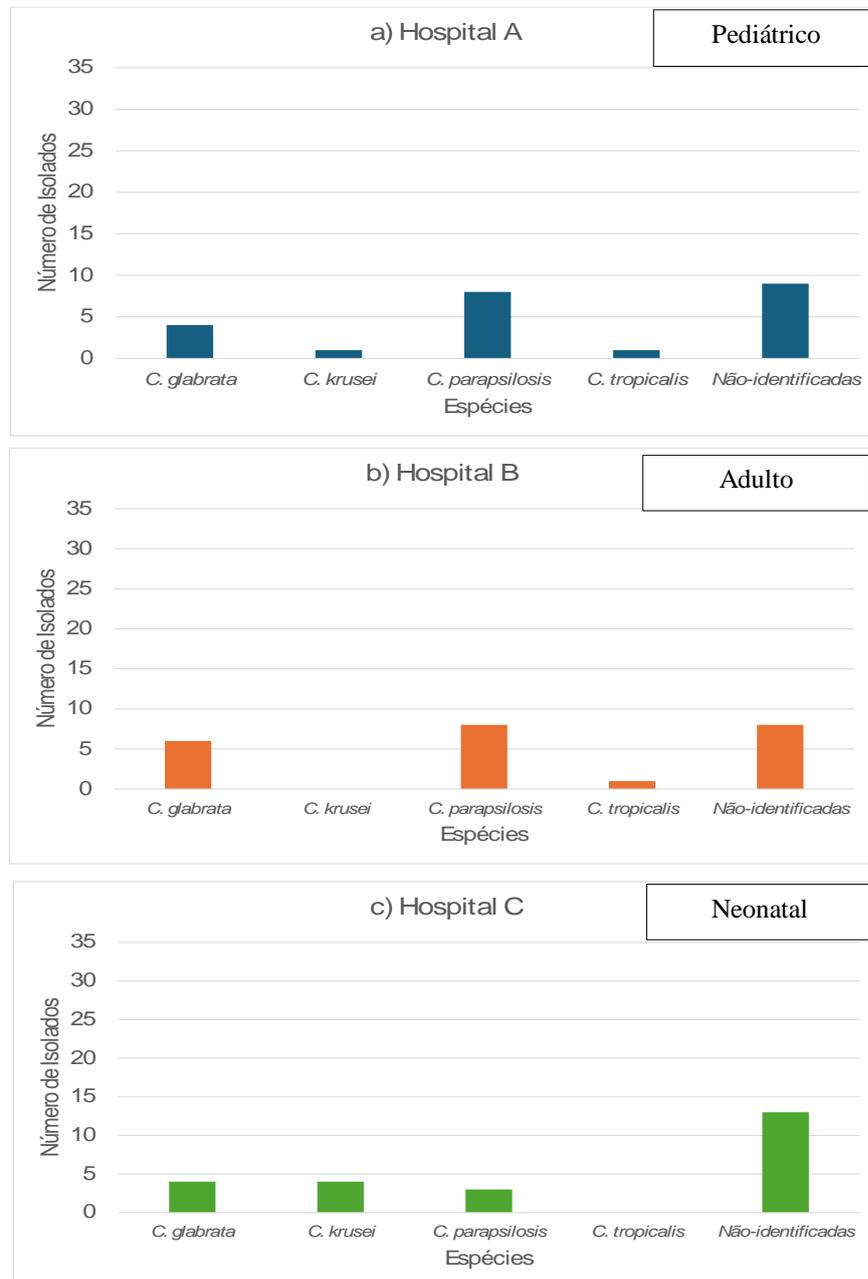
Figura 8: Quantificação de leveduras isoladas de superfícies inertes em Unidades de Terapia Intensiva de três hospitais públicos de Manaus por meio de contagem de colônias em meio ágar Sabouraud, após coletas com swab estéril realizadas entre novembro de 2024 e janeiro de 2025



Fonte: Autor, 2025

A bancada de preparo de medicamentos foi a superfície com maior média de isolados, especialmente no Hospital C ($24,7 \pm 15,2$), seguida por colchões ($16,0 \pm 11,2$) e sanitários ($8,3 \pm 8,5$). Em contraste, as torneiras apresentaram as menores médias, com destaque para o Hospital A ($1,0 \pm 1,7$). Observou-se também uma variação no perfil de espécies entre os três hospitais estudados (**figura 9**).

Figura 9: Frequência de espécies de leveduras isoladas de superfícies inertes em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) de três hospitais públicos de Manaus, identificadas por técnicas microbiológicas clássicas (n = 70 isolados).



Fonte: Autor, 2025

Conforme mostrado na (figura 9), o tipo de isolado mais frequente foram os não-identificados, totalizando 9 isolados no Hospital A, 8 no Hospital B e 13 no Hospital C. *Candida parapsilosis* foi isolada em frequência idêntica nos hospitais A e B (8 isolados cada), porém com menor ocorrência no Hospital C (3 isolados). Já *C. glabrata* apresentou 4 isolados nos hospitais A e C, e maior prevalência no Hospital B (6 isolados). *C. krusei* foi predominante no

Hospital C (4 isolados), enquanto *C. tropicalis* ocorreu apenas nos hospitais A e B, com 1 isolado cada. Esses resultados indicam diferenças na composição fúngica entre as UTIs analisadas.

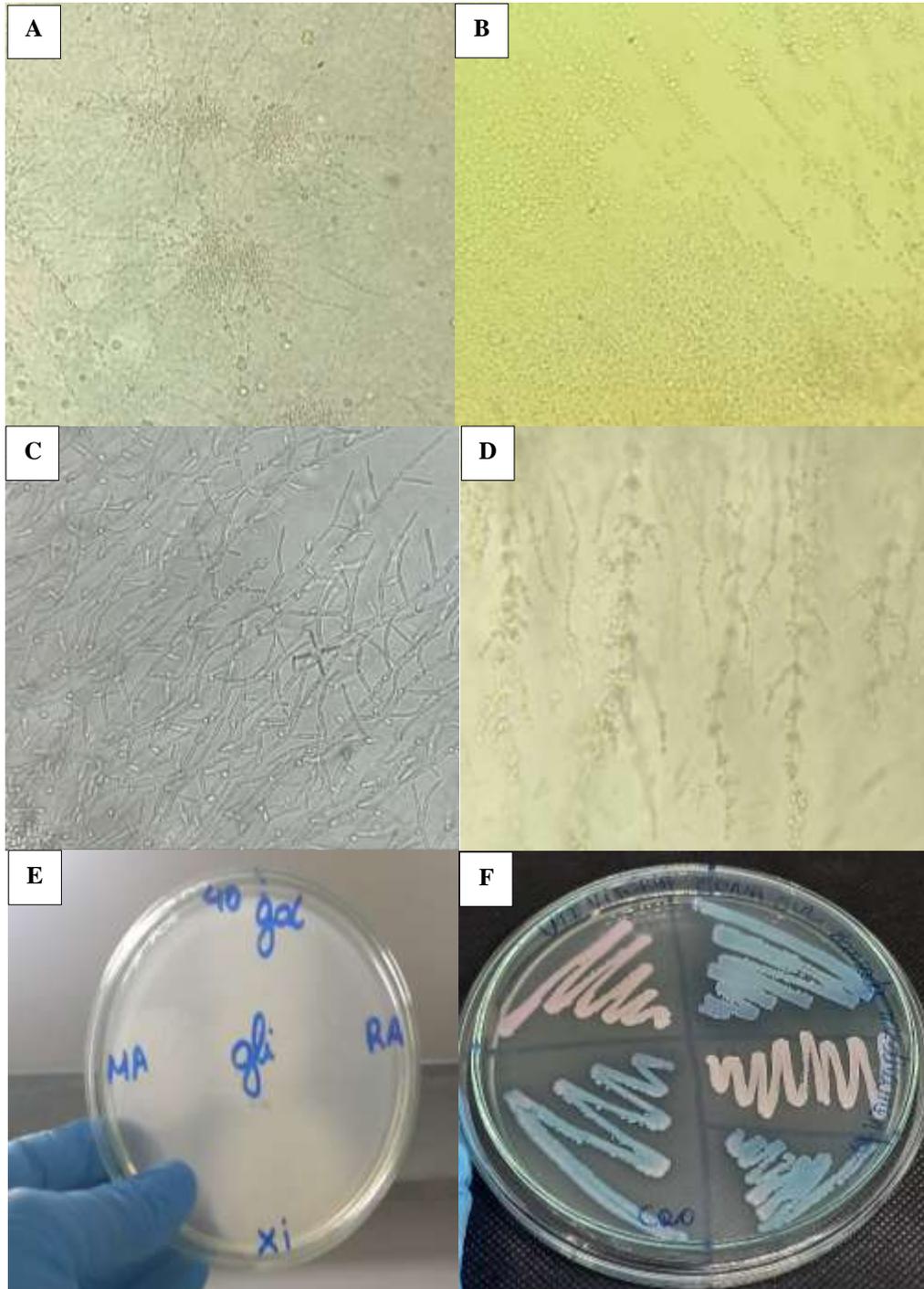
Caracterização Convencional dos isolados ao nível de espécies

Os isolados de leveduras obtidos das superfícies das Unidades de Terapia Intensiva foram submetidos à identificação convencional, utilizando três métodos principais: CHROMagar *Candida*, microcultivo e auxanograma. No CHROMagar, foi observada a coloração característica das colônias, o que permitiu uma identificação inicial até o nível de espécie, considerando os padrões cromogênicos típicos de cada isolado. Espécies como *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei* apresentaram colorações distintas, facilitando a triagem preliminar.

No microcultivo em lâmina, analisado posteriormente, foi possível observar a morfologia microscópica das leveduras, característica de cada espécie. Foram avaliadas estruturas como pseudohifas, blastoconídios e clamidoconídios, que permitiram a diferenciação entre as espécies isoladas. A **(figura 10)** apresenta uma imagem representativa dos microcultivos obtidos durante o estudo, evidenciando as características morfológicas observadas para os diferentes isolados.

Complementando a identificação, foi realizado o auxanograma, que consistiu na avaliação da assimilação de diferentes fontes de carboidratos por cada isolado. Este teste bioquímico permitiu a confirmação da espécie, observando os padrões de crescimento nas diferentes fontes de carbono testadas. A combinação dos resultados obtidos no CHROMagar, no microcultivo e no auxanograma possibilitou a identificação dos isolados até o nível de espécie.

Figura 10: Caracterização morfológica e bioquímica de espécies do gênero *Candida*. (A) Micromorfologia de *Candida parapsilosis*, evidenciando células gigantes e a estrutura "shaggy star". (B) Estrutura celular de *Candida glabrata*, apresentando apenas blastoconídios. (C) Formação de hifas finas em *Candida krusei*. (D) Morfologia celular de *Candida tropicalis*. (E) Teste bioquímico de assimilação de açúcares em meio ágar nitrogênio, demonstrando variação metabólica entre espécies. (F) Diagnóstico diferencial em Chromagar para identificação específica das espécies.



Fonte: Autor, 2025

Sensibilidade dos isolados a fluconazol

No objetivo específico de avaliar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente a fluconazol de diferentes espécies de *Candida* isoladas de superfícies inertes em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) de três hospitais públicos de Manaus, os principais resultados observados foram as variações entre as espécies (**tabela 1**).

Tabela 1: Concentração Inibitória Mínima (CIM) ao Fluconazol de diferentes espécies de *Candida* isoladas de superfícies inertes em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) de três hospitais públicos de Manaus

Espécie	CIM (média)	Mediana	Varição (min-máx)
Não-identificadas	2,68	2,00	0,5-8
<i>C.parapsilosis</i>	2,37	1,00	0,5-8
<i>C.tropicalis</i>	8,00	8,00	2-8
<i>C.krusei</i>	2,65	2,00	1-8
<i>C.glabrata</i>	3,82	4,00	0,5-8

A espécie *C. tropicalis* apresentou a maior CIM média (8,00 µg/mL), sugerindo maior resistência ao fluconazol, enquanto *C. parapsilosis* exibiu os menores valores médios (2,37 µg/mL). As espécies não-identificadas, *C. krusei* e *C. glabrata* apresentaram valores médios de CIM próximos, variando entre 2,65 e 3,82, com variações consideráveis dentro de cada grupo.

Confirmação da identificação convencional com sistema MALDI-TOF (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight*)

No objetivo específico de identificar as espécies de *Candida* isoladas de superfícies inertes em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) de três hospitais públicos de Manaus, o principal resultado observado foi a concordância entre os métodos de identificação convencional e MALDI-TOF (**tabela 2**).

Tabela 2: Identificação de espécies de *Candida* isoladas de superfícies inertes em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) de três hospitais públicos de Manaus: Comparação dos resultados dos métodos convencionais com confirmação pelo MALDI-TOF

Código do Isolado	Identificação convencional (Micromorfologia e testes bioquímicos)	Identificação por MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight)
AT12	<i>C.krusei</i>	<i>C.krusei</i>
AS24	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>
AB113	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>
AC24	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>
BT31	<i>C.krusei</i>	<i>C.krusei</i>
BS33	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>
BB19	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>
BC21	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>
CB25	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>
CB130	<i>C.krusei</i>	<i>C.krusei</i>

Legenda: Código do isolado- A primeira letra representa a inicial do hospital onde foi realizada a coleta. A segunda letra corresponde à superfície amostrada. O número subsequente indica a identificação da placa utilizada, considerando que cada amostra foi processada em triplicata (três placas por ponto de coleta). O número final refere-se à colônia específica isolada na placa selecionada para análise.

Da identificação convencional foram selecionados 10 isolados para a realização da comparação entre dos resultados dos métodos convencionais em relação ao MALDI-TOF. Assim, este demonstrou concordância de 100% para *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*. Na (tabela 3), os outros 10 isolados que apresentaram a CIM 8 µg/mL foram reclassificados por MALDI-TOF como *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. haemulonii* e *C. peliculosa*. Os demais concordaram com a identificação convencional.

Tabela 3: Identificação de espécies de *Candida* que apresentaram (CIM 8 µg/mL) pelo MALDI-TOF

Código do Isolado	Identificação por MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight)
AS15	<i>C.guilliermondii</i>
AS23	<i>C.krusei</i>
AB211	<i>C. tropicalis</i>
AB12	<i>C.glabrata</i>
AB15	<i>C.glabrata</i>
BT13	<i>C.haemulonii</i>
BS15	<i>C.parapsilosis (lodderomyces elongisporus)</i>
BB12	<i>C.parapsilosis</i>
BB14	<i>C.tropicalis</i>
CT28	<i>C.peliculosa</i>

Fonte: Autor, 2025

6 DISCUSSÃO

Neste estudo, os principais achados foram: a variação na carga fúngica entre os três hospitais investigados, com um total de 70 isolados; a variação no perfil de espécies de *Candida* entre os hospitais, com destaque para *C. parapsilosis* e *C. glabrata*; a resistência variável das espécies de *Candida* ao fluconazol, com *C. tropicalis* apresentando o maior valor médio de CIM; e a concordância de 100% entre os métodos de identificação convencional e MALDI-TOF para as espécies *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. parapsilosis* com a identificação por MALDI-TOF.

O primeiro achado do presente estudo foi a variação na carga fúngica entre os três hospitais investigados. Observou-se que o Hospital C apresentou o maior número de leveduras isoladas (24), seguido pelo Hospital A (23) e Hospital B (23). Este resultado é consistente com estudos anteriores que indicam que a carga fúngica pode variar significativamente entre diferentes ambientes hospitalares devido a fatores como práticas de limpeza, uso de antimicrobianos e características estruturais das UTIs.

Por exemplo, um estudo realizado por Ghanbari *et al.* (2024) encontrou uma variação semelhante na carga fúngica entre diferentes hospitais, atribuindo essa variação às diferenças nas práticas de controle de infecção. Outro estudo de Mukhtar *et al.* (2023) também relatou variações na carga fúngica entre hospitais, destacando a importância da vigilância contínua e das práticas de limpeza rigorosas.

A variação observada neste estudo pode ser explicada por fatores semelhantes, sugerindo que melhorias nas práticas de controle de infecção podem reduzir a carga fúngica nas UTIs. O segundo achado foi a variação no perfil de espécies de *Candida* entre os hospitais. *C. parapsilosis* foi isolada em frequência idêntica nos hospitais A e B, enquanto *C. glabrata* apresentou maior prevalência no Hospital B. Este resultado é consistente com estudos anteriores que indicam que diferentes espécies de *Candida* podem predominar em diferentes ambientes hospitalares devido a fatores como o uso de antimicrobianos e a presença de dispositivos médicos.

Um estudo realizado por Zhang *et al.* (2025) encontrou uma prevalência semelhante de *C. parapsilosis* e *C. glabrata* em diferentes hospitais, atribuindo essa variação às diferenças nas práticas de uso de antimicrobianos. Outro estudo de Pinto *et al.* (2024) também relatou variações no perfil de espécies de *Candida* entre hospitais, destacando a importância da vigilância contínua e das práticas de controle de infecção.

A variação observada neste estudo pode ser explicada por fatores semelhantes, sugerindo que melhorias nas práticas de uso de antimicrobianos podem influenciar o perfil de

espécies de *Candida* nas UTIs. O terceiro achado mais relevante foi a resistência variável das espécies de *Candida* ao fluconazol. A espécie *C. tropicalis* destacou-se com o maior valor médio de CIM, indicando uma resistência mais elevada em comparação às outras espécies. Por outro lado, *C. parapsilosis* apresentou o menor valor médio de CIM, sugerindo maior sensibilidade.

Este resultado é consistente com estudos anteriores que indicam que diferentes espécies de *Candida* podem apresentar diferentes níveis de resistência ao fluconazol devido a fatores como mutações genéticas e uso prolongado de antimicrobianos. Um estudo realizado por Fan *et al.* (2023) encontrou uma resistência semelhante de *C. tropicalis* ao fluconazol, atribuindo essa resistência a mutações genéticas. Outro estudo de Brown *et al.* (2023) também relatou variações na resistência ao fluconazol entre diferentes espécies de *Candida*, destacando a importância da vigilância contínua e do uso racional de antimicrobianos.

A resistência observada neste estudo sugeriu que melhorias nas práticas de uso de antimicrobianos podem reduzir a resistência ao fluconazol nas UTIs. Quanto ao quarto achado, observou-se a concordância de 100% entre os métodos de identificação convencional e MALDI-TOF para as espécies *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. glabrata* demonstra a eficácia e precisão dos métodos utilizados.

Para as espécies *não-albicans*, a identificação por MALDI-TOF revelou que a maioria eram *C. parapsilosis*, destacando a importância deste método na identificação precisa de espécies de *Candida*. Estes resultados reforçam a necessidade de utilizar métodos avançados de identificação para garantir a precisão na detecção de patógenos em ambientes hospitalares.

A aplicação de técnicas como o MALDI-TOF pode contribuir significativamente para o controle de infecções fúngicas, melhorando as práticas de controle de infecção e o uso de antimicrobianos nas UTIs. Quanto às limitações deste estudo, estas incluíram limitações da amostragem. Esta foi limitada a três hospitais públicos de Manaus, o que pode não representar a diversidade de ambientes hospitalares em outras regiões.

Assim, este estudo contribui significativamente para o avanço científico ao fornecer dados detalhados sobre a carga fúngica, o perfil de espécies de *Candida* e a resistência ao fluconazol em UTIs de três hospitais públicos de Manaus. As informações obtidas podem ser utilizadas para melhorar as práticas de controle de infecção e o uso de antimicrobianos, contribuindo para a redução da carga fúngica e da resistência ao fluconazol nas UTIs. Além disso, este estudo destaca a importância da vigilância contínua e das práticas de limpeza rigorosas para o controle de infecções fúngicas em ambientes hospitalares.

Por fim, durante a execução deste trabalho, foram enfrentadas algumas limitações metodológicas e operacionais. Entre as principais dificuldades, destaca-se a logística de coleta em unidades de terapia intensiva (UTIs) de hospitais públicos, que exigiu alinhamento com múltiplas equipes assistenciais e administrativas, muitas vezes com restrições de horário e acesso.

Essa realidade exigiu adaptações na rotina de coleta, podendo ter influenciado a representatividade temporal das amostras. Além disso, a identificação convencional das espécies de *Candida* demandou longos períodos de incubação e interpretação morfológica subjetiva, o que potencialmente gerou discrepâncias nos resultados iniciais. Outro ponto relevante foi a limitação da identificação por MALDI-TOF a um número reduzido de isolados, devido à política institucional de uso e à alta demanda do equipamento.

7 CONCLUSÃO

- Observou-se variação na carga fúngica entre os três hospitais investigados, com um total de 117 isolados. O Hospital C (neonatal) apresentou o maior número de leveduras isoladas (25), seguido pelo Hospital A (pediátrico) com (23) e Hospital B (adulto) apresentado (24);
- Houve diferenças no perfil de espécies entre os três hospitais estudados. *Candida parapsilosis* foi isolada em frequência idêntica nos hospitais A e B, enquanto *C. glabrata* apresentou maior prevalência no Hospital B;
- A espécie *C. tropicalis* destacou-se por apresentar a maior Concentração Inibitória Mínima (CIM) média ao fluconazol (8,00 µg/mL), sugerindo maior resistência. Por outro lado, *C. parapsilosis* apresentou a menor CIM média (2,37 µg/mL), indicando maior sensibilidade;
- Houve concordância entre os métodos de identificação convencional e MALDI-TOF para as espécies *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*. Para as espécies não-*albicans*, a identificação por MALDI-TOF revelou que algumas eram *C. parapsilosis*;
- Os resultados reforçam a importância da vigilância fúngica em superfícies de UTIs como ferramenta auxiliar no controle de infecções hospitalares, além de destacar o papel de métodos rápidos e precisos de identificação, como o MALDI-TOF, na rotina laboratorial.

APÊNDICE

Material Suplementar 1

Quadro 6: Quantificação de leveduras isoladas de superfícies inertes em Unidades de Terapia Intensiva de Três Hospitais por Meio de Coletas com Swab Estéril

Hospital (UTI)	Superfície de Coleta	Swab	Nº de Colônias/ Leveduras/ Swab	Nº Isolados	Código dos isolados
HospA	Sanitário	Swab 1	6	1	AS15
HospA	Sanitário	Swab 2	5	2	AS23/AS24
HospA	Sanitário	Swab 3	14	2	AS38/AS314
HospA	Torneira	Swab 1	3	1	AT12
HospA	Torneira	Swab 2	0	0	-
HospA	Torneira	Swab 3	0	0	-
HospA	Colchão	Swab 1	3	1	AC13
HospA	Colchão	Swab 2	4	2	AC25/AC24
HospA	Colchão	Swab 3	2	2	AC31/AC32
HospA	Bancada de Medicamento	Swab 1	23	6	AB11/AB12/AB13/AB15/AB228/AB222
HospA	Bancada de Medicamento	Swab 2	34	4	AB113/AB116/AB118/AB121
HospA	Bancada de Medicamento	Swab 3	4	2	AB32/AB31
HospB	Sanitário	Swab 1	29	5	BS15/BS11/BS119/BS127/BS110
HospB	Sanitário	Swab 2	3	1	BS21
HospB	Sanitário	Swab 3	4	2	BS31/BS33
HospB	Torneira	Swab 1	5	4	BT14/BT13/BT12/BT15/BT11
HospB	Torneira	Swab 2	4	5	BT21/BT22/BT23//BT24
HospB	Torneira	Swab 3	1	1	BT31
HospB	Colchão	Swab 1	0	0	-
HospB	Colchão	Swab 2	3	1	BC21
HospB	Colchão	Swab 3	0	0	-
HospB	Bancada de Medicamento	Swab 1	12	4	BB12/BB17/BB19/BB14
HospB	Bancada de Medicamento	Swab 2	0	0	-
HospB	Bancada de Medicamento	Swab 3	0	0	-
HospC	Sanitário	Swab 1	8	2	CS15/CS11
HospC	Sanitário	Swab 2	17	2	CS21/CS23
HospC	Sanitário	Swab 3	0	0	-
HospC	Torneira	Swab 1	9	1	CT19
HospC	Torneira	Swab 2	16	2	CT215/CT28
HospC	Torneira	Swab 3	2	2	CT31/CT32
HospC	Colchão	Swab 1	29	3	CC12/CC127/CC18
HospC	Colchão	Swab 2	10	2	CC21/CC25
HospC	Colchão	Swab 3	9	1	CC32

HospC	Bancada de Medicamento	Swab 1	41	4	CB16/CB122/CB114/CB130
HospC	Bancada de Medicamento	Swab 2	22	4	CB25/CB210/CB222/CB219
HospC	Bancada de Medicamento	Swab 3	11	1	CB35

Legenda: Códigos dos isolados- A primeira letra representa a inicial do hospital onde foi realizada a coleta. A segunda letra corresponde à superfície amostrada. O número subsequente indica a identificação da placa utilizada, considerando que cada amostra foi processada em triplicata (três placas por ponto de coleta). Por fim, o número final refere-se à colônia específica isolada na placa selecionada para análise.

Material suplementar 2

Quadro 7: Análise fenotípica e perfil de sensibilidade ao fluconazol de isolados clínicos de *Candida* spp. de 3 UTI's da Cidade de Manaus-Amazonas

Padrão	Código	Espécie	CHROmagar	Morfologia no fubá		Auxanograma					Perfil de sensibilidade antifúngica
	ATCC	Cepa Controle	Cor	Pseudohifas	Clamidósporos	GLI	RAF	GAL	MAL	XIL	
	36323	<i>C.albicans</i>	Verde	Sim	Sim	+	-	+	+	+	
	34135	<i>C.krusei</i>	Rosa claro	Sim	Não	+	-	-	-	-	
	13803	<i>C.tropicalis</i>	Azul	Sim	Não	+	-	+	+	+	
	2001	<i>C.glabrata</i>	Rosa	Não	Não	+	-	-	-	-	
	22019	<i>C.parapsilosis</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	+	+	+	
HOSPITAL (UTI)	Isolado	Espécie	CHROmagar	Pseudohifas	Clamidósporos	GLI	RAF	GAL	MAL	XIL	CIM Fluconazol (µg/mL)
A	AS15	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	-	+	+	8,0 µg/mL*
A	AT12	<i>C.krusei</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	+	-	+	2,0 µg/mL
A	AS23	<i>C.krusei</i>	Rosa claro	Sim	Não	+	-	-	-	-	8,0 µg/mL*
A	AS24	<i>C.parapsilosis</i>	Branca	Sim	Não	+	-	+	+	+	1,0 µg/mL
A	AS38	<i>Não-albicans</i>	Branca	Sim	Não	+	+	+	+	+	1,0 µg/mL
A	AS314	<i>C.glabrata</i>	Rosa	Não	Não	+	-	-	-	-	0,5 µg/mL
A	AB211	<i>C.tropicalis</i>	Azul	Sim	Não	+	-	+	+	-	8,0 µg/mL*
A	AB12	<i>C.glabrata</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	-	-	-	8,0 µg/mL*
A	AB13	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	+	-	+	4,0 µg/mL
A	AB15	<i>C.glabrata</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	-	-	-	8,0 µg/mL*

A	AC13	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	+	-	-	1,0 µg/mL
A	AB228	<i>C.parapsilosis</i>	Branca	Sim	Não	+	-	+	+	+	1,0 µg/mL
A	AB222	<i>C.parapsilosis</i>	Branca	Sim	Não	+	-	+	+	+	0,5 µg/mL
A	AB113	<i>C.parapsilosis</i>	Branca	Sim	Não	+	-	+	+	+	0,5 µg/mL
A	AC25	<i>C.parapsilosis</i>	Branca	Sim	Não	+	-	+	+	+	0,5 µg/mL
A	AC24	<i>C.parapsilosis</i>	Branca	Sim	Não	+	-	+	+	+	1,0 µg/mL
A	AC31	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	+	-	+	2,0 µg/mL
A	AB116	<i>C.parapsilosis</i>	Branca	Sim	Não	+	-	+	+	+	0,5 µg/mL
A	AB118	<i>C.parapsilosis</i>	Branca	Sim	Não	+	-	+	+	+	0,5 µg/mL
A	AB121	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	+	-	+	0,5 µg/mL
A	AB32	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	+	+	+	-	4,0 µg/mL
A	AC32	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	+	-	-	4,0 µg/mL
A	AB31	<i>C.glabrata</i>	Rosa	Não	Não	+	-	-	-	-	4,0 µg/mL
B	BT14	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	+	+	-	4,0 µg/mL
B	BT13	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	+	+	-	8,0 µg/mL*
B	BS15	<i>C.parapsilosis</i>	Branca	Sim	Não	+	-	+	+	+	8,0 µg/mL*
B	BT12	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	+	+	-	4,0 µg/mL
B	BT15	<i>Não-albicans</i>	Branca	Sim	Não	+	-	+	+	-	2,0 µg/mL
B	BT11	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	+	+	+	-	4,0 µg/mL
B	BC21	<i>C.glabrata</i>	Rosa	Não	Não	+	-	-	-	-	4,0 µg/mL
B	BT22	<i>C.parapsilosis</i>	Branca	Sim	Não	+	+	+	+	+	2,0 µg/mL
B	BT23	<i>C.parapsilosis</i>	Branca	Sim	Não	+	+	+	+	+	2,0 µg/mL
B	BS11	<i>C.parapsilosis</i>	Branca	Sim	Não	+	-	+	+	+	4,0 µg/mL
B	BT24	<i>C.parapsilosis</i>	Branca	Sim	Não	+	+	+	+	+	4,0 µg/mL
B	BS119	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	+	+	-	1,0 µg/mL

B	BT31	<i>C.krusei</i>	Rosa	Não	Não	+	-	-	-	-	4,0 µg/mL
B	BS33	<i>C.parapsilosis</i>	Branca	Sim	Não	+	-	+	+	+	0,5 µg/mL
B	BB12	<i>C.parapsilosis</i>	Branca	Sim	Não	+	-	+	+	+	8,0 µg/mL*
B	BT21	<i>C.parapsilosis</i>	Branca	Sim	Não	+	-	+	+	+	2,0 µg/mL
B	BB17	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	+	+	+	+	0,5 µg/mL
B	BS127	<i>C.glabrata</i>	Rosa	Não	Não	+	-	-	-	-	4,0 µg/mL
B	BS110	<i>C.glabrata</i>	Rosa	Não	Não	+	-	-	-	-	1,0 µg/mL
B	BS21	<i>C.glabrata</i>	Rosa	Não	Não	+	-	-	-	-	4,0 µg/mL
B	BB19	<i>C.glabrata</i>	Rosa	Não	Não	+	-	-	-	-	2,0 µg/mL
B	BS31	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	+	+	-	0,25 µg/mL
B	BB14	<i>C.tropicalis</i>	Azul	Sim	Não	+	-	+	+	+	8,0 µg/mL*
C	CT19	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	+	+	-	4,0 µg/mL
C	CT215	<i>C.parapsilosis</i>	Branca	Sim	Não	+	-	+	+	+	1,0 µg/mL
C	CT28	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	+	+	+	+	8,0 µg/mL*
C	CT31	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	+	+	+	+	2,0 µg/mL
C	CT32	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	+	+	+	+	0,5 µg/mL
C	CS15	<i>C.parapsilosis</i>	Branca	Sim	Não	+	-	+	+	+	4,0 µg/mL
C	CS11	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	+	+	+	+	4,0 µg/mL
C	CS21	<i>C.krusei</i>	Rosa claro	Sim	Não	+	-	-	-	-	2,0 µg/mL
C	CS23	<i>C.krusei</i>	Rosa claro	Sim	Não	+	-	-	-	-	0,25 µg/mL
C	CC12	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	+	+	-	2,0 µg/mL
C	CC127	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	+	+	-	4,0 µg/mL
C	CC18	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	+	-	-	0,5 µg/mL
C	CC21	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	+	-	+	1,0 µg/mL
C	CC25	<i>C.glabrata</i>	Rosa	Não	Não	+	-	-	-	-	2,0 µg/mL

C	CC32	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	+	-	-	1,0 µg/mL
C	CB16	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Sim	Não	+	-	+	+	-	1,0 µg/mL
C	CB122	<i>C.krusei</i>	Rosa- claro	Sim	Não	+	-	-	-	-	1,0 µg/mL
C	CB114	<i>C.glabrata</i>	Rosa	Não	Não	+	-	-	-	-	4,0 µg/mL
C	CB130	<i>C.krusei</i>	Rosa claro	Sim	Não	+	-	-	-	-	2,0 µg/mL
C	CB25	<i>C.parapsilosis</i>	Branca	Sim	Não	+	-	+	+	+	4,0 µg/mL
C	CB210	<i>C.glabrata</i>	Rosa	Não	Não	+	-	-	-	-	4,0 µg/mL
C	CB222	<i>C.glabrata</i>	Rosa	Não	Não	+	-	-	-	-	4,0 µg/mL
C	CB219	<i>Não-albicans</i>	Rosa	Não	Não	+	-	+	+	+	1,0 µg/mL
C	CB35	<i>Não albicans</i>	Rosa	Não	Não	+	-	+	+	-	1,0 µg/mL

Legenda: GLI – Glicose; RAF – Rafinose; GAL – Galactose; MALT – Maltose; XIL – Xilose. Outras identificações: Sigla do isolado- A primeira letra do código do isolado se refere ao hospital; a segunda letra é a inicial da superfície; terceiro é o número da placa (triplicata) e o último número se refere à ordem da colônia na placa. Os isolados identificados com * se referem aos apresentaram CIM 8 e foram testados no MALD-TOF-MS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, D. M. *et al.* *Candida* bloodstream infection in critically ill patients: a multicenter cohort study. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 32, n. 2, p. 220–227, 2020. Disponível em: <https://rbti.org.br/artigo/detalhes/0103-507X-32-2-2>. Acesso em: 30 jul. 2025.

BASSETTI, M. *et al.* Epidemiology and outcome of invasive candidiasis in intensive care units: a multicenter Italian study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 74, n. 4, p. 1074–1083, 2019. Disponível em: <https://academic.oup.com/jac/article/74/4/1074/5125926>. Acesso em: 30 jul. 2025.

BLANCHEHEIM, L. C. *et al.* Invasive candidiasis in a tertiary hospital: epidemiology and risk factors associated with mortality. *Medical Mycology*, v. 60, n. 4, p. 1–8, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mmy/myac012>. Acesso em: 30 jul. 2025.

BONA, E. *et al.* Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) de antifúngicos frente a leveduras de interesse médico. **Revista Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 2, n. 18, p. 103–109, 2014. Disponível em: <https://periodicos.uniarp.edu.br/index.php/rblcs/article/view/468>. Acesso em: 30 jul. 2025.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Boletim Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde: Incidentes Relacionados à Assistência à Saúde. Brasília: ANVISA, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br>. Acesso em: 30 jul. 2025.

CHEN, J. *et al.* Changing epidemiology of candidemia: factors associated with fluconazole-resistant isolates. *BMC Infectious Diseases*, v. 23, p. 112, 2023. Disponível em: <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-023-08085-2>. Acesso em: 30 jul. 2025.

CÓRTEZ, J. A. *et al.* Epidemiologia das infecções por *Candida* não albicans. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 37, n. 3, p. 123–130, 2020. Disponível em: [https://www.reviberoamicrobiol.org/article/S1130-1406\(20\)30020-4/fulltext](https://www.reviberoamicrobiol.org/article/S1130-1406(20)30020-4/fulltext). Acesso em: 30 jul. 2025.

CORRÊA, M. G. **Fungemia por *Candida* spp. em hospitais públicos da Região Norte: incidência e fatores associados.** 2014. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) – Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2014. Disponível em: <https://sistemas.uea.edu.br>. Acesso em: 30 jul. 2025.

DEBERALDINI, E. *et al.* *Candida* spp. em ambiente hospitalar: aspectos clínicos e microbiológicos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 42, p. 1–7, 2021. Disponível em: https://seer.fcfar.unesp.br/index.php/Cien_Farm/article/view/4201. Acesso em: 30 jul. 2025.

DUARTE, D. A. *et al.* Emerging *Candida* species and antifungal susceptibility: challenges for treatment. *Mycoses*, v. 66, n. 3, p. 234–242, 2023. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/myc.13534>. Acesso em: 30 jul. 2025.

FAN, S. *et al.* Antifungal resistance mechanisms in *Candida tropicalis* clinical isolates. *Frontiers in Microbiology*, v. 14, p. 1122, 2023. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2023.1122/full>. Acesso em: 30 jul. 2025.

GOIABEIRA, C. R. **Isolamento e identificação de leveduras ambientais com ênfase em *Candida spp.* em hospital universitário.** 2022. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2022. Disponível em: <https://tede.ufam.edu.br>. Acesso em: 30 jul. 2025.

GUNNER, H. *et al.* *Candida auris* colonization and infection in healthcare settings: global update. *Clinical Infectious Diseases*, v. 76, n. 1, p. e88–e94, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/cid/ciad123>. Acesso em: 30 jul. 2025.

HADANO, Y. *et al.* Nosocomial candidemia: changing trends in Japan. *Journal of Infection and Chemotherapy*, v. 28, n. 5, p. 660–666, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1341321X2200065X>. Acesso em: 30 jul. 2025.

KARAS, M.; HILLENKAMP, F. Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons. *Analytical Chemistry*, v. 60, n. 20, p. 2299–2301, 1988. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac00171a028>. Acesso em: 30 jul. 2025.

MELO, L. L. *et al.* Perfil microbiológico de infecções fúngicas em unidades de terapia intensiva. **Revista de Patologia Tropical**, v. 52, n. 2, p. 189–196, 2023. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/iptsp/article/view/73420>. Acesso em: 30 jul. 2025.

NASCIMENTO, F. R. **Isolamento de *Candida spp.* em superfícies hospitalares e sua susceptibilidade aos antifúngicos.** 2011. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2011. Disponível em: <https://tede.ufam.edu.br>. Acesso em: 30 jul. 2025.

PAIXÃO, G. C.; SIDRIM, J. J. C. Técnicas de isolamento de fungos em ambientes hospitalares. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 35, n. 3, p. 143–148, 1999. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpml/a/Xn6G7q8Pt9L8JwDbD5ZJwVv/?lang=pt>. Acesso em: 30 jul. 2025.

PEREIRA, M. J. **Infecção fúngica por *Candida spp.* em hospital terciário da Região Norte do Brasil.** 2015. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2015. Disponível em: <https://tede.ufam.edu.br>. Acesso em: 30 jul. 2025.

POISSY, J. *et al.* Prognosis of *Candida* bloodstream infections: influence of species and antifungal susceptibility. *Journal of Infection*, v. 81, n. 4, p. 511–517, 2020. Disponível em: [https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453\(20\)30180-7/fulltext](https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453(20)30180-7/fulltext). Acesso em: 30 jul. 2025.

SANO, M. E. *et al.* Antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from bloodstream infections in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 52, p. 851–859, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1517838221000204>. Acesso em: 30 jul. 2025.

SILVA, M. A. *et al.* Candidemia em hospitais de Manaus: análise de cinco anos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 54, p. e0246-2021, 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/FkHv2WtQ9TbsMhyGp6Zr3zL/?lang=pt>. Acesso em: 30 jul. 2025.

SILVA, R. C. **Estudo epidemiológico da candidemia em hospital de Manaus**. 2018. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2018. Disponível em: <https://tede.ufam.edu.br>. Acesso em: 30 jul. 2025.

SILVEIRA, R. C. **Perfil das leveduras em unidades de terapia intensiva neonatal e sua sensibilidade a antifúngicos**. 2021. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2021. Disponível em: <https://tede.ufam.edu.br>. Acesso em: 30 jul. 2025.

SIQUEIRA, J. D. **Fungemia em pacientes críticos na Amazônia: aspectos clínicos e epidemiológicos**. 2021. Dissertação (Mestrado em Infectologia) – Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2021. Disponível em: <https://sistemas.uea.edu.br>. Acesso em: 30 jul. 2025.

SOARES, T. A. *et al.* Prevalência de *Candida* spp. em superfícies hospitalares e sua implicação na infecção hospitalar. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 51, n. 4, p. 249–256, 2019. Disponível em: <https://www.rbac.org.br>. Acesso em: 30 jul. 2025.

ZHANG, T. *et al.* Species distribution and antifungal susceptibility of *Candida* isolates from hospitals in East China. *Frontiers in Microbiology*, v. 16, p. 1150, 2025. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2025.01150/full>. Acesso em: 30 jul. 2025.