



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Centro de Pesquisa Leônidas e Maria Deane



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO LEÔNIDAS E MARIA DEANE/FIOCRUZ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE, SOCIEDADE
E ENDEMIAS NA AMAZÔNIA

PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE PACIENTES COM CANDIDEMIAS EM 11
HOSPITAIS DE MANAUS E AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE AOS
ANTIFÚNGICOS E FATORES DE VIRULÊNCIA DE *Candida* spp.

VIVIAN DO NASCIMENTO PEREIRA

Manaus

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO LEÔNIDAS E MARIA DEANE/FIOCRUZ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE, SOCIEDADE
E ENDEMIAS NA AMAZÔNIA

VÍVIAN DO NASCIMENTO PEREIRA

PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE PACIENTES COM CANDIDEMIAS EM 11
HOSPITAIS DE MANAUS E AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE AOS
ANTIFÚNGICOS E FATORES DE VIRULÊNCIA DE *Candida* spp.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde, Sociedade e Endemias na Amazônia como parte das exigências do Programa para a obtenção do título de Mestre em Saúde, Sociedade e Endemias na Amazônia.

Linha de pesquisa: Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários

Orientadora: Dra. Ani Beatriz Jackisch Matsuura

Manaus

2015

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

P436p Pereira, Vivian do Nascimento
Perfil epidemiológico de pacientes com candidemias em 11 hospitais de Manaus e avaliação da susceptibilidade aos antifúngicos e fatores de virulência de *Candida* spp. / Vivian do Nascimento Pereira. 2015
96 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Ani Beatriz Jackisch Matsuura
Dissertação (Mestrado em Saúde, Sociedade e Endemias na Amazônia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Candidemia. 2. *Candida* spp. 3. Epidemiologia. 4. Susceptibilidade antifúngica. 5. Fatores de virulência. I. Matsuura, Ani Beatriz Jackisch II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

VIVIAN DO NASCIMENTO PEREIRA

PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE PACIENTES COM CANDIDEMIAS EM 11
HOSPITAIS DE MANAUS E AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE AOS
ANTIFÚNGICOS E FATORES DE VIRULÊNCIA DE *Candida* spp.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde, Sociedade e Endemias na Amazônia como parte das exigências do Programa para a obtenção do título de Mestre em Saúde, Sociedade e Endemias na Amazônia.

Linha de pesquisa: Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

Aprovada em 31/08/2015.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Ani Beatriz Jackisch Matsuura

Instituto Leônidas e Maria Deane (ILMD/Fiocruz)

Prof. Dr. João Vicente Braga de Souza

Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA

Profa. Dra. Ormezinda Celeste Cristo Fernandes

Instituto Leônidas e Maria Deane (ILMD/Fiocruz)

Dedicatória

Dedico este trabalho a meus pais Marlene e Pedro, meu esposo Agostinho, meus filhos Augusto e Gabriel, meus irmãos e sobrinhos, e em especial aos pacientes que me inspiraram na busca do conhecimento.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me conduzindo, e apesar dos percalços estou concluindo meus objetivos.

À Fiocruz – Amazônia e seus funcionários que compõem o Instituto Leônidas e Maria Deane (ILMD), por terem medido contribuído com minhas atividades. Aos professores das disciplinas que brilhantemente nos conduziram e nos orientaram.

Ao Programa de Pós-Graduação em Saúde, Sociedade e Endemias na Amazônia pela oportunidade de adentrar e permitir minha pesquisa.

À minha família, sempre presente, compreensiva e sempre em orações para a conclusão deste.

À Prof^a Dr^a. Ani Beatriz Jackisch Matsuura, pela capacidade de compreensão, por sua sabedoria e acima de tudo paciência e orientação.

Ao Dr João Vicente que me permitiu pela primeira vez a experiência de utilizar a biologia molecular em investigação de surtos; e me ajudou a crescer como profissional, pesquisadora e pessoa. Sua amizade e companheirismo foram fundamentais para o sucesso deste trabalho.

À Prof^a Dr^a. Karen Regina Carim da Costa pela orientação do estágio à docência.

Ao Dr. Marcelo Cordeiro por ter acreditado no meu trabalho e hoje estar melhorando a saúde das pessoas no Controle de Infecções, com trabalho, ensino e pesquisa.

Aos meus chefes Dr Bernadino Cláudio de Albuquerque e Tatyana Costa Amorim Ramos, os funcionários da CECIHA Daniel e Márcia, além de todos os outros funcionários da

FVS que contribuíram para a realização deste estudo. E Tatyana que continua acreditando que juntas conseguiremos buscar melhorias para os pacientes do Amazonas.

Às minhas colegas do laboratório de micologia pela ajuda, companheirismo, apoio e amizade, Jusselene, Marla, Rosi, Gleica, Rodrigo e Duda. Obrigado pelos risos e pelas lágrimas, por me deixarem estar em tão boa companhia em todos os feriados e finais de semana de 2015.

Aos colegas do Laboratório que dividiram mais que angústias, carinho, sangue e reagentes, minha eterna gratidão pela parceria e empréstimos.

Ao técnico Msc. Victor pela ajuda e paciência na fase de Biologia molecular e ao Professor Antonio pela valiosa ajuda na estatística, sem a qual eu não teria conseguido.

Ao laboratório Reunidos, na pessoa do Dr. Loureiro e aos farmacêuticos Cleber e Rildo que ajudaram com os isolados.

Ao Secretário estadual de saúde, Dr. Wilson Alecrim que autorizou que este trabalho fosse realizado nas unidades hospitalares da SUSAM e a todos os diretores, membros de CCIHs, e responsáveis pelo SAME que nos forneceram os valiosos dados utilizados nesse estudo.

Ao Dr. Marcus Barros e a Dr^a. Solange Dourado responsáveis pela CCIH de um dos hospitais estudados no presente trabalho.

As “mães em ação” e meus familiares que me ajudaram a administrar as ausências na escola e na família. Também pelas orações, incentivos e por me fazerem acreditar que seria possível.

E principalmente aos pacientes e suas famílias que permitiram que este trabalho pudesse ser realizado, mesmo diante da dor do agravo ou da perda de uma vida valiosa.

E finalmente a todos que direta ou indiretamente ajudaram na realização deste sonho.

RESUMO

As Candidemias são Infecções Relacionadas à Assistência a Saúde que são reconhecidamente um problema de saúde pública, e dentre as várias ações como medidas de eliminação destas infecções, estão o preenchimento das lacunas de conhecimento para responder as ameaças emergentes, isto se dá por estudos epidemiológicos, de diagnóstico e dos fatores que podem estar envolvidos no processo de adoecimento. O objetivo deste trabalho foi estudar as leveduras do gênero *Candida* isoladas a partir de hemoculturas de pacientes internados em 11 Hospitais de Manaus no ano de 2013, bem como estudar os aspectos clínicos epidemiológicos das candidemias, o perfil de susceptibilidade antifúngica e fatores de virulência. A detecção das leveduras presentes nas amostras coletadas foi realizada por meio de metodologia convencional. A susceptibilidade antifúngica foi determinada utilizando fitas de Etest® seguindo as recomendações do fabricante. Os fatores de virulência estudados foram: proteinase, fosfolipase, hemolisinas e formação de biofilme. No período de estudo, foram registrados 85 casos de infecção na corrente sanguínea de 81 pacientes por *Candida* spp. Em relação ao gênero 67,9% eram do sexo masculino, a mediana das idades entre os pacientes adultos foi de 53 anos e entre os pediátricos de 60 dias. As principais condições de risco foram: o uso prévio de antibióticos (98,6%), presença de cateter venoso central (95,9%), internação em UTI/CTI (84,9%), uso de gastroprotetores (84,4%) e um terço dos pacientes são procedentes de maternidades, e 72,8% dos pacientes tinham até 1 ano de idade. Segundo a evolução clínica dos pacientes, 40,7% foram a óbito. *C. albicans* foi a espécie isolada com mais frequência (34,57%), seguido de *C. tropicalis* (32,1%), *C. parapsilosis* (17,28%). Foi realizado teste de susceptibilidade frente a Caspofungina, Micafungina e Voriconazol, onde a resistência encontrada foi de 12,1%, 4,3% e 4,3% respectivamente. Os fatores de virulência relacionados à produção de enzimas foram: Proteinase com 56,4% dos isolados sendo produtores, Fosfolipase 36,2% e Hemolisina 78,7 com esta capacidade; sendo mais expressiva nas espécies de *C. albicans*. A formação de biofilme estava presente em 34% dos isolados, sendo a *C. tropicalis* a mais expressiva neste fator. A importância de estudos de epidemiologia e estudos fenotípicos locais podem contribuir para a melhoria da tomada de decisão e propor medidas mais efetivas de controle e prevenção destas infecções.

Palavras-chave: Candidemia; *Candida* spp; epidemiologia; susceptibilidade antifúngica; fatores de virulência.

ABSTRACT

Candidemia is an infection recognized as public health problem related to health assistance. Filling the knowledge gaps through epidemiological studies and diagnostic tools to respond emerging threats that may be involved in the disease process is among the actions to eliminate these infections. The objective of this research was to study the *Candida* yeasts isolated from blood cultures of patients admitted in 11 hospitals of Manaus in 2013, as well to study the clinical epidemiological aspects of candidemia, the antifungal profile of susceptibility and virulence factors. The detection of yeasts in the collected samples was performed by conventional methodology. The antifungal susceptibility was determined using E-Test® strips. The studied virulence factors were proteinase, phospholipase, hemolysin and biofilm formation. During the study period, there were 85 cases of infection in the blood of 81 patients with *Candida* spp. In relation to gender, 67.9% were male, the median age of adult patients was 53 years and between pediatric patients was 60 days. The main risk conditions were: previous use of antibiotics (98.6%), presence of central venous catheter (95.9%), ICU (84.9%), use of protectors of gastric mucosa (84.4 %) and one-third of patients are from natal care and 72.8% of patients had up to 1 year old. According to the clinical course of patients, 40.7% died. *C. albicans* was the most frequently isolated species (34.57%), followed by *C. tropicalis* (32.1%) and *Candida parapsilosis* (17.28%). A susceptibility test was performed against Caspofungin, Micafungin, and Voriconazole, where the resistance 12.1%, 4.3% and 4.3% was respectively found. The virulence factors related to production of enzymes was: Proteinase with 56.4% of the isolates being producers, Phospholipase 36.2% and 78.7% hemolysin with this capability being more expressive in the species *C. albicans*. The biofilm formation was present in 34% of the isolates whose *C. tropicalis* was the most significant in this factor. The importance of epidemiology studies and local phenotypic studies may contribute to improve decision-making process and propose more effective measures for control and prevention of these infections.

Keywords: Candidemia; *Candida* spp; epidemiology; antifungal susceptibility; virulence factors.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Distribuição das espécies de <i>Candida</i> isoladas das hemoculturas dos pacientes internados em 11 unidades hospitalares do município de Manaus/AM no ano de 2013	41
Figura 02 - Distribuição dos óbitos e sobreviventes por espécies do gênero <i>Candida</i> isoladas das hemoculturas dos pacientes internados em 11 unidades hospitalares do município de Manaus/AM no ano de 2013	42
Figura 03 - Procedência dos pacientes internados com candidemia em 11 unidades hospitalares do município de Manaus/AM no ano de 2013	43
Figura 04 - Doenças de base de pacientes internados com candidemia em 11 unidades hospitalares do município de Manaus/AM no ano de 2013	45
Figura 05 - Distribuição do número de casos de candidemia por unidade de saúde do município de Manaus/AM no ano de 2013	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Novos <i>breakpoints</i> dos antifúngicos de acordo com a espécie de <i>Candida</i> estabelecidos pelo CLSI M27-S4 no ano de 2012.....	37
Tabela 02 - Relação entre a frequência de casos e número de óbitos segundo a faixa etária de pacientes com candidemia internados em Hospitais de Manaus/AM no ano de 2013.	40
Tabela 03 - Variáveis demográficas de pacientes internados com candidemia em 11 unidades hospitalares do município de Manaus/AM no ano de 2013.....	43
Tabela 04 - Variáveis associadas e condições de risco relacionadas aos pacientes internados com candidemia em 11 unidades hospitalares do município de Manaus/AM no ano de 2013.....	45
Tabela 05 - Uso de terapia antifúngica de isolados de <i>Candida</i> de pacientes com candidemia internados em 11 unidades hospitalares do município de Manaus/AM no ano de 2013	49
Tabela 06 - Sensibilidade aos antifúngicos dos isolados de <i>Candida</i> obtidos de pacientes com candidemia internados em 11 hospitais da cidade de Manaus/AM	51
Tabela 07 - Produção de Proteinase, Fosfolipase e Hemolisina segundo as espécies de <i>Candida</i> isoladas de hemoculturas de pacientes internados em 11 hospitais da cidade de Manaus/AM no ano de 2013	53
Tabela 08 - Produção de biofilme segundo as espécies de <i>Candida</i> isoladas de hemoculturas de pacientes internados em 11 hospitais da Cidade de Manaus/AM.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS

AM - Amazonas

ATCC - American Type Culture Collection

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CAAE – Certificado de Apresentação para Apreciação Ética

CBS - Fungal Biodiversity Centre

CNS - Conselho Nacional de Saúde

CCIH - Comissão de Controle de Infecção Hospitalar

CDC - Centers for Disease Control and Prevention

CECIHA - Comissão Estadual de Controle de Infecção Hospitalar do Estado do Amazonas

CEP - Comitê de Ética em Pesquisa

CIM - Concentração inibitória mínima

CLSI - Clinical Laboratory Standards Institute

CNA - *Candida não-albicans*

CVC - Cateter venoso central

CTI - Centro de Tratamento Intensivo

EDTA - Ácido etilenoaminotetracético

et al. - e colaboradores

EUA - Estados Unidos da América

g - Grama

g/L- Grama por litro

h - Hora

HIV - Human Immunodeficiency Virus

ILMD – Instituto Leônidas e Maria Deane

INCQS – Instituto Nacional de Controle de Qualidade de Saúde

IRAS – Infecções relacionadas a assistência a saúde

mg - Miligrama

min - Minuto

mL- Mililitros

MLST - Multilocus Sequence Typing

mM - Milimolar

NaCl - Cloreto de sódio

NCCLS - The National Commmittee for Clinical Laboratory Standards

NP- Nutrição parenteral

PBS - tampão salina-fosfato

PCR - Reação em cadeia de polimerase (Polimerase Chain Reaction)

pH - Potencial hidrogeniônico

PLs - Fosfolipases

pmol - Picomol

Pz- atividade enzimática

s - Segundo

SAME - Serviço de Apoio Médico e Estatístico

SAPS -Secreted aspartyl proteinases

SDA - Agar Dextrose Sabouraud

SVD - Sonda Vesical de Demora

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UFAM -Universidade Federal do Amazonas

UTI - Unidade de Terapia Intensiva

VM - Ventilação Mecânica

μL - Microlitro

LISTA DE SÍMBOLOS

- $^{\circ}\text{C}$ – Graus *Celsius*
- % – Por cento
- \leq – Menor ou igual
- = – Igual
- \sim – aproximadamente

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	20
2.1. Gênero <i>Candida</i>	20
2.2. Candidemia	21
2.3. Fatores associados à candidemia.....	22
2.4 Testes de sensibilidade a antifúngicos.....	24
2.5. Fatores de Virulência	26
2.6 Diagnóstico da Candidemia	29
3. OBJETIVOS	31
3.1 Geral	31
3.2 Específicos	31
4. MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1. Delineamento do estudo	32
4.2. População e local do estudo	32
4.3. Critérios de inclusão.....	33
4.4. Critérios de exclusão	33
4.5. Coleta de dados	34
4.5.1 Dados demográficos	34
4.5.2 Dados clínicos e epidemiológicos (dados referentes à hospitalização).....	34
4.6. Análise estatística.....	35
4.7. Aspectos éticos	35
4.8. Amostras.....	36

4.9. Teste de sensibilidade a antifúngicos	36
4.10. Determinação de fatores de virulência	37
5. RESULTADOS	40
5.1. Descrição das características clínicas e epidemiológicas, evolução dos casos e terapêutica instituída, dos pacientes acometidos por infecções sistêmicas ocasionadas por espécies de <i>Candida</i>	40
5.2. Susceptibilidade in vitro aos antifúngicos	50
5.3. Avaliação dos fatores de virulência dos isolados de <i>Candida</i> spp por meio do teste de produção de enzimas extracelulares (Proteinase, Fosfolipase e hemolisinas) e formação de biofilme.	53
6. DISCUSSÃO	55
6.1. Descrição das características clínicas e epidemiológicas, evolução dos casos e a terapêutica instituída, dos pacientes acometidos por infecções sistêmicas ocasionadas por espécies de <i>Candida</i>	55
6.2. Análise do perfil de susceptibilidade aos antifúngicos	56
6.3. Análise dos fatores de virulência	57
7. CONCLUSÃO.....	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
8. ANEXOS	73

1. INTRODUÇÃO

A incidência de Infecções Relacionadas à Assistência a Saúde causadas por fungos tem aumentado substancialmente nas últimas décadas acarretando altos índices de mortalidade, aumento no tempo de internação e nos custos hospitalares (Morgan et al. 2005; Hassan et al. 2009; Bouza et al. 2008; Theoklis et al. 2010). As espécies do gênero *Candida* têm sido os agentes mais frequentemente isolados, corresponde a cerca de 80% das infecções fúngicas hospitalares e é a quarta causa de infecção da corrente sanguínea no mundo conduzindo ao óbito em torno de 25 a 38% dos pacientes que desenvolvem candidemia (St-Germain et al. 2001). No Brasil, dados de 2012 mostram este gênero como a sexta causa mais frequente em adultos, a segunda em pediatria e a quarta em neonatologia (ANVISA, 2014).

Leveduras do gênero *Candida* estão presentes em reservatórios humanos e animais (Lacaz, 2002), são frequentemente comensais humanos, mas podem, em situações que normalmente envolvem imunodebilidade, causar infecção conhecida como candidíase ou candidose, em diversos sítios anatômicos (Del Negro et al. 2008). Quando há disseminação da *Candida* na corrente sanguínea dos pacientes, com apresentação de sintomas sistêmicos, a candidemia está instalada. A ocorrência destas infecções pode estar fortemente associada a uso de dispositivos invasivos, como sondas e cateteres; uso prévio de antimicrobianos, dentre outros (Becerra, 2010).

Estas micoses podem ser causadas por diferentes espécies, onde até alguns anos atrás, a *Candida albicans* era a espécie de maior interesse clínico, contudo, paralelamente ao aumento geral das Candidemias observou-se aumento das infecções de corrente sanguínea por espécies de *Candida* não-*albicans* (CNA) como: *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* e *C. famata* (Colombo et al. 2003 e 2007; Hinrichsen et al. 2009; Mondelli et al. 2012; Pemán et al. 2012). Não se sabe ao certo as razões para essa inversão no padrão de

distribuição das espécies, mas acredita-se estar relacionadas com o potencial de virulência destes microrganismos (Colombo et al. 2003; Cheng et al. 2005). A *Candida tropicalis* é um patógeno frequentemente envolvido nestas infecções, sendo descrita como uma das mais frequentes e que tem se destacado em surtos de candidemia em unidades de terapia intensiva (Colombo et al., 1999; Roilides, 2003).

Para o tratamento efetivo das Infecções Relacionadas a Assistência a Saúde - IRAS necessita-se conhecer o perfil de sensibilidade dos agentes causadores das infecções aos antifúngicos. No caso das candidemias os testes de sensibilidade aos antifúngicos vêm sendo desenvolvidos gradativamente nos últimos anos, devido ao aparecimento de espécies resistentes *in vivo* e *in vitro* (National Committee Clinical Laboratory Standards – NCCLS, 2002).

A virulência da espécie pode ser avaliada pelo estudo fenotípico das principais enzimas produzidas por estas leveduras que são as proteinases e as fosfolipases (Candido et al. 2000; Yang, 2003) e da atividade hemolítica quando crescidas em ágar-sangue enriquecido (Prince et al. 1982; Ruchel et al. 1982; Manns et al. 1994).

A *Candida albicans* tem como característica a formação do tubo germinativo com consequente desenvolvimento da forma filamentosa, a variabilidade fenotípica (switching), a produção de toxinas, a aderência à superfície celular e a produção de enzimas extracelulares, constituem os fatores que contribuem para o desencadeamento da infecção por este patógeno (Chakrabarti et al. 1991).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece as Infecções Relacionadas à Assistência a Saúde como um problema de saúde pública, e propõe várias ações como medidas de eliminação destas infecções, dentre elas, o preenchimento das lacunas de conhecimento para responder as ameaças emergentes por meio de pesquisas básicas, epidemiológicas e translacionais (WHO, 2004; Cardo et al. 2010). Este trabalho é pioneiro no estudo sobre

candidemias no estado do Amazonas e vem a contribuir para o entendimento desta infecção. Através deste conhecimento será possível implementar ações que venham a contribuir para a melhoria da qualidade da saúde dos pacientes hospitalizados, pois a partir da análise de fatores associados à ocorrência desta infecção, o entendimento dos fatores de virulência destes agentes e o perfil de sensibilidade aos antifúngicos, poderão ser estabelecidas estratégias de controle e prevenção destas infecções.

2. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

2.1. Gênero *Candida*

As leveduras do gênero *Candida* podem ser encontradas em variados ecossistemas, como solo, alimentos, água, fazendo parte da microbiota de homens e animais. Esses microrganismos degradam proteínas e carboidratos para obterem carbono e nitrogênio, elementos essenciais para seu desenvolvimento (Giolo et al. 2010).

Candida é classificada taxonomicamente no reino Fungi, Filo Ascomycota, Subfilo Saccharomycotina, Ordem Saccharomycetales e Família Debaryomycetaceae (Hoog et al., 2014). Microscopicamente, essas leveduras se apresentam na forma unicelular chamadas de blastoconídeos e por vezes na forma de pseudohifas (resultante do alongamento, união e ramificação dos blastoconídeos) ao invadir tecidos. Macroscopicamente, as colônias são cremosas, branco-amareladas e de aspecto liso ou rugoso (Lacaz et al., 2002). O gênero *Candida* é o principal agente entre as leveduras patogênicas, compreendendo aproximadamente 200 espécies. São microrganismos comensais, que habitam primariamente o trato gastrointestinal, fazendo parte também da microbiota vaginal, oral e da uretra (Alonso Valle et al. 2003). São também encontradas em reservatórios animais, solo, plantas, alimentos e ambiente hospitalar (Sidrim, 1999; Lacaz et al., 2002).

A primeira documentação desta espécie como patógeno humano foi atribuída a Langenbeck, que em 1839 isolou da cavidade oral de um paciente com afta bucal a *Candida albicans* (Sidrim et al. 2004).

2.2. Candidemia

As leveduras podem se tornar patogênicas, caso ocorra um desequilíbrio em sua relação com o hospedeiro, por isso são consideradas oportunistas. Essa transformação pode ser devido ao comprometimento dos mecanismos de defesa do hospedeiro ou rompimento das barreiras anatômicas, como queimaduras, cateteres, sondas ou cirurgias invasivas (Dignani et al. 2003). A disseminação desta espécie na corrente sanguínea determina a Candidemia (Canton et al. 2001; Morrel et al. 2005).

C. albicans é considerada a principal levedura patogênica oportunista por ser a espécie mais frequente isolada em humanos. Entretanto, tem sido observado significativo aumento de outras espécies: *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. norvegensis*, *C. rugosa*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. ciferrii*, *C. haemulonii*, *C. lipolytica*, *C. pulcherrima*, *C. catenulata*, *C. utilis*, *C. viswanathii* e *C. zeylanoides*. Essas e outras espécies, conhecidas como *Candidas* não-*albicans* (CNA), têm sido cada vez mais implicadas em processos infecciosos humanos (Colombo et al. 2003; Cortes et al. 2011; Mondelli et al. 2012; Pemán et al. 2012).

Na América do Norte, entre as *Candida* não-*albicans*, há prevalência da *C. glabrata*; na América do sul sobressai a *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*. (Pfaller et al. 2007; Trick et al. 2002; Sandven, 2000).

Nos EUA, no período de 1979 a 2000, aumentaram os casos anuais desta infecção, que passou de 164 mil (82,7/100 mil pacientes) para 660 mil (240/100 mil pacientes), com um aumento na ordem de 207% (Martin et al. 2003). Outro estudo, também realizado nos EUA de 1989 a 1999 em 311 hospitais em 1116 unidades de terapia intensiva e um universo de 3.041.585 pacientes, houve uma incidência de 4,8/10.000 CVC; com 59% dos isolados de *C.*

albicans; porém observou-se uma redução desta espécie e um crescimento das outras espécies, com destaque para a *C. glabrata* (Trick et al. 2002)

Vários estudos têm demonstrado a importância das leveduras do gênero *Candida* como agentes de candidemia no Brasil (Edmund et al. 1999; Costa et al. 2000; Colombo et al. 2003, Colombo et al. 2006). Em um estudo realizado em 11 hospitais terciários, foi encontrado 712 casos de candidemia, e a *Candida* foi o quarto agente mais frequente isolado nas infecções de corrente sanguínea. Ainda no Brasil, em relação à distribuição por espécies, segundo este estudo, a *C. albicans* foi a mais isolada seguido de *C. tropicalis*. (Colombo et al. 2003). Um estudo realizado em hospitais do Nordeste mostrou a importância da *C. tropicalis* em infecções fúngicas nosocomiais (Hinrichsen et al. 2009). Há ainda vários estudos que demonstram o crescimento de outras espécies de CNA como agentes de infecção e com seu aumento nas últimas décadas, pois em 1980 as *C. albicans* representavam 80% das infecções (Beck-Sagué, 1993) e mais recentemente, espécies *Candida* não-*albicans* têm representado 50% ou mais das infecções hematogênicas por *Candida* (Dignani et al. 2003; Swoboda et al. 2003).

As candidemias também podem levar a comprometimentos de outros sítios antômicos. Um estudo observacional recente encontrou endocardite infecciosa em 8,3% dos pacientes com candidemia; tendo como fator de risco o uso de próteses vasculares e candidemia persistente. (Fernández Cruz et al, 2010). Alguns estudos encontraram candidíase ocular como complicação de candidemia. Um estudo realizado com um grande ensaio clínico, utilizou o exame de fundoscopia e revelou Candidíase ocular em 16% dos pacientes (Oude Lashof, 2011).

2.3. Fatores associados à candidemia

O homem por ser hospedeiro da *Candida* spp. em vários sítios anatômicos, e pode por inúmeros fatores desencadear um desequilíbrio nessa relação facilitando o desenvolvimento de

candidemias (Pinhat et al. 2012; Miranda, 2008). Entre os mais importantes estão uso prévio de antibióticos de largo espectro, longo período de internação hospitalar, neutropenia, nutrição parental, sonda vesical, ventilação mecânica e cateter venoso central. Além desses fatores, outros merecem destaque como extremos de idade, imunossupressão, insuficiência renal, diabetes, quimioterapia, radioterapia, lesão de mucosas, hemodiálise, cirurgia prévia e corticoterapia (Alonso-Valle et al. 2003; Cheng et al. 2005; Shigemura et al. 2014; Henriquez et al. 2011).

As fontes de infecção podem ser exógenas e endógenas. As exógenas são provenientes de fontes fora do paciente como as mãos dos profissionais de saúde, contaminação de acessos ou soluções injetáveis (Hota, 2004; Bouza et al. 2008; Sanchez et al. 1993). As fontes endógenas são as provenientes do paciente, quando o mesmo é hospedeiro de diversas espécies de *Candida* que podem estar colonizando a mucosa oral, genitais, trato gastro intestinal e uretra (Roilides et al. 2003; Benetucci et al. 2008; Pinhat et al. 2012).

Num estudo de coorte realizado com neonatos também foram verificados o parto vaginal e o peso como fator de risco relacionado à candidemia. A colonização retal por espécies de *Candida* foi encontrada em 89% dos neonatos (Pinhat et al. 2012). Em outra publicação com amostras do Mato Grosso do Sul verificou-se 100% de presença de CVC e Ventilação mecânica, e uma mortalidade de 76%, mostrando a gravidade destas infecções nesta faixa etária, associadas a fatores inerentes a este estágio da vida (Xavier et al. 2008).

Outro estudo relata a importância do cateter venoso central, neoplasia, uso de antimicrobianos de amplo espectro (Theoklis et al. 2010). A translocação do trato gastrointestinal para corrente sanguínea, em pacientes com cirurgias e nutrição parenteral, foram relatadas e confirmadas por biologia molecular que comprovou a similaridade genética entre os isolados do trato gastrointestinal e sangue dos pacientes (Nucci et al. 2001).

A *Candida* foi encontrada colonizando 80% do trato digestivo de adultos saudáveis e 30% de vaginas de mulheres (Dignani et al. 2003). Também já foi isolada de solo, fômites, superfícies hospitalares e alimentos (Sidrim et al. 1999; Lacaz 2002). Em Manaus, culturas positivas para *Candida* foram observadas na cavidade oral de 50% dos pacientes estudados (Araújo-Passos et al. 2009).

A identificação das fontes no processo de investigação epidemiológica torna-se importante para adoção de medidas de prevenção e controle destas infecções.

2.4 Testes de sensibilidade a antifúngicos

Muitos microrganismos causadores de IRAS têm apresentado resistência farmacológica e isso representa um grave problema de saúde pública, podendo levar a surtos e altas taxas de mortalidade. Em relação à *Candida*, a resistência *in vitro* aos antifúngicos ainda é muito baixa, porém se observa o aumento do uso profilático de antifúngicos, períodos prolongados de tratamento e novas classes de antifúngicos sendo utilizadas, como as equinocandinas. Este uso mais prolongado, muitas vezes inadequado, pode alterar o perfil de sensibilidade destas leveduras (Colombo et al. 2006; Talarmin et al. 2009).

O fluconazol é uma das drogas mais utilizadas na profilaxia das candidemias, e isso tem levado ao aumento da resistência de espécies *Candida* não-*albicans*, especialmente *C. glabrata* e *C. krusei* (Colombo et al. 2003, Colombo et al. 2006). Um estudo realizado no Brasil encontrou 7,2% de resistência da *C. tropicalis* e 64,7% da *C. glabrata* (Furlaneto 2011). Por isso, a determinação do perfil de sensibilidade destes agentes torna-se essencial para que o tratamento antifúngico seja conduzido de maneira segura, correta e eficaz.

Pelo antifungigrama é possível fazer vigilância e detectar isolados de *Candida* resistentes. O método de referência para antifungigrama foi padronizado pelo Clinical

Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012), e é continuamente aperfeiçoado. A metodologia, cujo princípio é o de diluição em caldo, apresenta boa reprodutibilidade, porém, além de ser muito trabalhosa, é de difícil leitura e exige muita habilidade do manipulador, além de uma leitura tardia de 48h. No mercado existem sistemas comerciais de manipulação menos laboriosos e de fácil manuseio, como por exemplo, o Etest, que vêm apresentando boa correlação com a metodologia de referência (CLSI, 2008). Uma das principais vantagens dessa técnica é o menor tempo de leitura (24 horas), além da facilidade de execução (Pfaller, 2012). Porém, tem custo mais elevado em comparação ao método de diluição em caldo.

Os antifúngicos utilizados para tratamento de candidemias segundo os *guidelines* são: Polienos - Anfotericina (desoxicolato, lipossomal ou formulação lipídica), Imidazóis - Fluconazol, Voriconazol e as Equinocandinas - Caspofungina, Micafungina e Anidulafungina. (Pappas et al, 2009; Cornely et al, 2012; Hope et al, 2012).

Um estudo brasileiro que analisou o conhecimento dos médicos a respeito da terapia antifúngica verificou que não há um protocolo instituído e que muitos prescritores não obedecem aos *guidelines* de manejo destas infecções. Também não realizavam os exames recomendados de fundoscopia e ecocardiograma em todos os pacientes que apresentaram culturas confirmatórias da presença de *Candida* nas hemoculturas. Somente 49% dos prescritores tinham acesso ao perfil de sensibilidade e a maioria prescrevia o tratamento empiricamente (Shultz et al. 2013).

O desconhecimento da epidemiologia local, dos *guidelines* de tratamentos e a falta de protocolos, só reforçam a necessidade de buscar a melhoria do diagnóstico e da determinação do perfil microbiológico das infecções e o conhecimento do perfil de sensibilidade destes agentes antimicrobianos, a fim de se obter o sucesso terapêutico. Somente o uso apropriado e em tempo adequado podem mudar o desfecho destas infecções (Patel et al. 2009).

2.5. Fatores de Virulência

A virulência é definida como a capacidade quantitativa de provocar doenças. Portanto, fatores que promovem esta característica tem grande importância, pois podem levar a infecções relacionadas à assistência a saúde, aparecimento de surtos e aumento da resistência aos antifúngicos (Calderone et al. 2001).

Entre os principais fatores de virulência das leveduras estão a capacidade de expressão de enzimas extracelulares, fosfolipases e proteinases, que degradam os tecidos do hospedeiro, para produzir material a ser utilizado como nutriente, rompendo barreiras celulares, aumentando a invasão tecidual, e degradam importantes proteínas de defesa imunológica consequentemente diminuindo o processo inflamatório. A atividade de fosfolipase foi descrita em *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii* e *Candida krusei*. (Kantarcioğlu et al. 2002; Shimizu, 1989; Borst et al. 2003; Mohan et al. 2008; D'êça Jr et al. 2011; Sandovsky et al. 2006). A produção de proteinases está ligada aos genes denominados *Secreted aspartyl proteinases* (Saps), bem descritos em *Candida albicans*. Já foram identificados 10 genes Saps em *C. albicans* (Naglik et al. 2003), quatro em *C. tropicalis* (Parra-Ortega et al. 2009), três em *C. parapsilosis* (Merkerova et al. 2006) e nenhum em *C. glabrata* (Silva, 2010) e em outras espécies. As enzimas categorizadas como fosfolipases (PLs, do inglês *phospholipases*) também são consideradas fatores de patogenicidade em *Candida* que hidrolisam os fosfolipídios e os ácidos graxos e são classificadas de acordo com o seu modo de ação em PLs A, B, C e D (Leidich et al. 1998). Vários estudos já mostraram que espécies de *Candida não-albicans* (CNA) são capazes de produzir fosfolipases extracelulares (Foteda et al. 2005; Dagdeviren et al. 2005). Um estudo brasileiro, analisou 37 isolados de *Candida* e encontrou 100% de *C. albicans* produtoras de enzimas, sendo 68,8% de proteinases e 32,3% de fosfolipase (Silva et al, 2007).

Outro fator de virulência é a produção de toxinas que causam lesão celular, que aumentam as propriedades imunossupressoras e inibem o processo inflamatório. Também pode ser usado como marcador epidemiológico em casos de infecções nosocomiais causadas por leveduras patogênicas (Morace. 1984; Merz, 1990).

A capacidade de adesão a células e tecidos permite a entrada e a permanência do patógeno no organismo. Esta capacidade é um pré-requisito para a colonização de um determinado sítio e causa de uma subsequente infecção, pois esta desencadeia o processo infeccioso. Para que ocorra adesão, o primeiro estágio depende da aproximação ou do contato inicial entre a parede celular da levedura e a superfície da célula do hospedeiro ou de materiais médico-hospitalares, isto tem a interferência de fatores biológicos e não biológicos. Estabelecida a aderência começa uma interação para promover a formação de uma comunidade plural de seres microscópicos, em que há dependência metabólica de grau variável entre seus constituintes, caracterizando, assim, a estrutura conhecida como biofilme (Giolo et al. 2010; Nobile et al. 2008; Calderone et al. 2001).

A capacidade de formação de *slime* (biofilmes) sobre células e superfícies inanimadas, pode levar a infecções recorrentes por manutenção da fonte de infecção como sondas e cateteres. (Silva et al. 2007) estudou *C. albicans* quanto à produção de *slime* e observou que 35,1% foram negativas, 35,1% fracamente positivas, 8,1% moderadamente positivas e 21,6% fortemente positivas. Também identificou que todos os isolados de *Candida parapsilosis* produziram este fator de patogenicidade. Semelhante comportamento observado em outro estudo que analisaram isolados de *Candida* provenientes de sangue, onde 80,5% das amostras produziram *slime*, sendo que 89,4% das *Candida parapsilosis* apresentaram esta atividade, (Ozkan et al. 2008).

A produção de tubo germinativo por algumas espécies de *Candida* levam a produção da forma filamentosa e conseqüente produção de enzimas e toxinas. Este tubo é um prolongamento

contínuo da célula-mãe leveduriforme produzido no início do processo de filamentação, sendo considerada uma forma de transição entre a levedura e o micélio. Esta forma está associada a patogênese da candidíase, pois estes podem aumentar a adesão de levedura para as células da mucosa, por conseguinte melhorar a sua capacidade invasiva e tornando-se potencialmente mais virulento para o hospedeiro (Luo et al. 2001; Dambrosio et al. 2009)

A produção de hemolisinas é um fator de virulência que contribui para a patogênese da candidíase, sendo classificada em dois tipos: α e β (França et al. 2010). Esta enzima degrada a hemoglobina para extrair ferro, e promover a disseminação da espécie (Silva, 2010).

A hidrofobicidade da superfície celular e resistência a altas temperaturas são fatores que facilitam a adesão e a permanência do patógeno no hospedeiro, mesmo em condições desfavoráveis. As *Candida* não-*albicans* são superiores a *C. albicans* em relação às propriedades de aderência e hidrofobicidade (Doyle et al. 1990, Luo et al. 2002).

Não foi encontrada diferença significativa em relação a fatores de virulência em isolados de *Candida* provenientes da mucosa oral de um grupo caso e controle de pacientes com SIDA, porém fatores como produção de enzimas e formação de *slime* ficaram mais evidenciados nas espécies de *C. albicans* do que nas CNA (Samaranayake et al. 2005; Branco et al. 2012).

Acredita-se que haja uma ação sinérgica entre vários mecanismos de agressão, os quais em associação à debilidade na resposta do hospedeiro e à existência de dispositivos invasivos pode conduzir à candidíase, inclusive sistêmica (Chakrabarti et al. 1991; Calderone et al. 2001; Llanos et al. 2006; Ozkan et al. 2008). A busca de se entender estes mecanismos associados e, pela biologia molecular explicar como isto ocorre na expressão gênica da espécie, podem levar a mecanismos de compreensão da patogenicidade da candidíase.

2.6 Diagnóstico da Candidemia

A hemocultura é o método básico no diagnóstico da candidemia (Tarrand et al. 1991; Hellinger et al. 1995; Saito et al. 2003). Na prática do diagnóstico das candidemias se utilizam técnicas manuais tradicionais de cultura através de estudos morfológicos e provas bioquímicas, porém atualmente se busca aperfeiçoar a detecção destes microorganismos por equipamentos automatizados, entre eles o sistema de cultura em meio bifásico, e mais recentemente os sistemas de lise centrifugação e radiométrico (Bodey et al. 1993). O método automatizado diminui o tempo de espera do resultado e impacta na evolução clínica de pacientes com infecções da corrente sanguínea (Pereira, 1997). O tempo de espera do resultado pode impactar no desfecho. O método automatizado utilizado em estudo de casos de pacientes de alto risco gerou a média de 2,1 dias para detecção de candidíases disseminadas em culturas de sangue (Telenti et al. 1991).

Mesmo a hemocultura sendo considerada a técnica “padrão ouro” no diagnóstico de candidemias, o resultado pode permanecer como negativo apesar do diagnóstico clínico e da disseminação de *Candida* em órgãos internos (Geha & Roberts, 1994). A falha na detecção pode chegar até 65% (Borst et al. 2001), muitos fatores podem estar relacionados: presença de antifúngicos no sangue do paciente, baixo número de microorganismos, uso incorreto do meio, dentre outros (Fricker –Hidalgo et al. 1998).

Os métodos que utilizam o DNA para a detecção de espécies de *Candida* são um meio adicional e potencialmente mais sensível no diagnóstico da candidíase disseminada (Fujita et al. 1995), pois sabe-se que apenas 1 a 10 unidades formadoras de colônias (UFC) por mL de sangue podem estar presentes, o que pode dificultar o diagnóstico das candidemias. Esse fato evidencia porque métodos diagnósticos biomoleculares como o da amplificação de DNA, são cada vez mais utilizados e produzindo bons resultados (Klan & Mustafa, 2001; Borst et al. 2001; Ahmad et al. 2004).

Uma metanálise recente estudou os métodos de diagnóstico da candidemia; e dentre elas as metodologias que utilizam antígenos ou anticorpos e concluiu que esta metodologia tem menor desempenho na detecção e são de baixa sensibilidade e especificidade (Cortes et al. 2011). Em pacientes imunocomprometidos as técnicas que utilizam antígeno e anticorpos demonstram deficiência no diagnóstico (Reiss & Morrison, 1993; Zöller et al. 1991).

Foi verificado que a Biologia molecular tem pouco rendimento e de difícil diagnóstico para espécies de *Candida* mais raras, devido o desenho adequado dos *primers*, sendo assim menos sensível e menos indicada para diagnóstico de rotina. A biologia molecular é importante para estudos epidemiológicos e em surtos e as provas que utilizam antígenos e anticorpos para o acompanhamento da terapia instituída (Cortes et al. 2011)

A PCR é a técnica que permite rápida identificação de alguns fungos. Esse ensaio utiliza uma sequência pequena (9 a 10 pares de bases) como *primers* aleatórios para a amplificação do DNA. Essa variação da PCR permite avaliar a correlação genética entre isolados da mesma espécie (Kanbe et al. 2002). Também se pode analisar a similaridade entre isolados clínicos e se microrganismos da mesma espécie são iguais, similares ou diferentes, discriminando subpopulações intraespécies (Pappas et al. 2003). É uma das técnicas mais empregadas para esse propósito devido a sua facilidade de execução e auxílio na análise de inquéritos epidemiológicos.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Analisar o perfil epidemiológico de pacientes com candidemias e avaliar a susceptibilidade *in vitro* aos antifúngicos e fatores de virulência de *Candida* spp. isoladas de hemoculturas de pacientes internados em Unidades Hospitalares de Manaus – AM.

3.2 Específicos

- Descrever as características clínicas e epidemiológicas dos pacientes acometidos por infecções sistêmicas ocasionadas por espécies de *Candida*;
- Avaliar a susceptibilidade *in vitro* dos isolados de *Candida* a equinocandinas e antifúngico azólico;
- Investigar fatores de virulência que são produzidos pelos isolados de *Candida*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo transversal, descritivo e observacional.

4.2. População e local do estudo

No estudo foram utilizados 101 isolados de *Candida* obtidos das hemoculturas realizadas pelo Laboratório terceirizado que presta serviço de microbiologia para os 11 Hospitais de onde os pacientes foram provenientes. Estes Hospitais são: 1 Hospital Maternidade Privado, 3 Prontos-socorros infantis, 3 Prontos-socorros adultos, 2 Maternidades e 2 Hospitais infantis; sendo estes outros 10 estabelecimentos públicos. Estas unidades representam 1/3 das unidades de internação de Manaus. O período de estudo foi de janeiro a dezembro de 2013.

As coletas foram realizadas de acordo com a solicitação médica, e nas enfermarias as coletas foram realizadas pela própria equipe do laboratório e as coletas das UTIs pelas equipes de enfermagens de cada uma das unidades, em frascos de hemocultura (adulto e pediátrico) da BD (Paris, França). Após isso, os mesmos foram colocados nos equipamentos Bactec 9120 ou Bactec 9050. No caso de culturas positivas, elas foram semeadas em meios de cultura seletivos (Ágar Sangue, Ágar Mac Conkey, Ágar Sabouraud e Ágar Chocolate). Após o crescimento foi realizado uma coloração de Gram. Posteriormente foi preparado uma suspensão com 3ml de salina a 0,45% (bioMérieux, Paris, França) e com o densiChek (bioMérieux, Paris, França) feita a leitura da escala McFarland que deve ficar entre 1,8 a 2,4. Depois foi colocado no equipamento Vitek® (bioMérieux, Paris, França) que determina qual o microrganismo isolado e o seu respectivo fungigrama em 24 horas. Os positivos para o gênero *Candida* foram repicados

em tubo de ensaio com meio de cultura Ágar Sabouraud e enviados ao laboratório de Micologia do Instituto Leônidas e Maria Deane/ Fiocruz-Amazônia.

4.3. Critérios de inclusão

Os pacientes foram incluídos no estudo mediante os seguintes critérios: paciente com exames de hemocultura positiva para *Candida*, aceite do paciente ou dos familiares em participar da pesquisa mediante a concordância do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), estar internado em um estabelecimento Assistencial de Saúde no momento do diagnóstico e estar com sinais e sintomas de Infecção Sistêmica.

Um mesmo paciente foi considerado como novo caso quando houve uma nova hemocultura positiva após 30 dias do primeiro caso detectado. Também foram consideradas como novos casos as infecções por *C. albicans* de um mesmo paciente com perfil genotípico diferente após a análise de MLST, mesmo que não fosse obedecido o intervalo de 30 dias ou serem diagnosticadas espécies diferentes (Corrêa, 2014).

4.4. Critérios de exclusão

Foram excluídos do presente estudo todos os pacientes que tiverem hemoculturas positivas para *Candida* e que não apresentaram sinais e sintomas de infecção sistêmica, ou aqueles isolados que perderem a viabilidade por algum motivo, ou não puderam ser recuperadas.

4.5. Coleta de dados

Esses dados foram levantados junto ao Serviço de Arquivo Médico e Estatísticas (SAME) de cada uma das Unidades, conforme autorização para utilização dos mesmos (Anexo 01 e Anexo 02). Essas autorizações foram dadas tanto pela Secretaria Estadual de Saúde, e Diretores de cada uma das Unidades.

Os parâmetros analisados foram:

4.5.1 Dados demográficos

A idade foi analisada considerando os seguintes agrupamentos: recém-nascidos até 28 dias de vida, crianças de 29 dias a 1 ano, crianças de 1ano e 1 mês a 15 anos e, adultos acima de 15anos e 1 mês, segundo os critérios adotados pelo Ministério da Saúde. Além dos dados como gênero, raça, naturalidade e procedência dos pacientes (Nunes, 2009).

4.5.2 Dados clínicos e epidemiológicos (dados referentes à hospitalização)

Setor e período de internação, tipo de hospital, tempo entre admissão e diagnóstico da candidemia. Foram avaliadas também a presença de algumas condições de risco que já foram descritos estar relacionadas à candidemia: uso de drogas imunossupressoras como corticóides e quimioterápicos, anti-retrovirais, uso de dispositivo intravascular, uso de sondas, ventilação mecânica, nutrição parenteral, internação em setores críticos (UTI/CTI), diálise, colostomia, infecção prévia por leveduras em outros sítios anatômicos evidenciada anteriormente, cirurgias durante os últimos 30 dias e uso de antibióticos e medicamentos gastroprotetores. Em relação ao tratamento antifúngico, foi observado o tipo de droga prescrita. Tratamento antifúngico prévio foi considerado quando o paciente estava em uso de droga sistêmica (anfotericina B, fluconazol ou equinocandinas) por no mínimo 48 horas antes da coleta do sangue.

As doenças de base foram divididas em: Doenças cardíacas (choque cardiogênico, derrame pericárdico, arritmias e cardiopatias congênitas), doenças gastrintestinais (enterocolite

necrotizante, megacolon, gastroquise, fístula entérica, pancreatite, hérnia diafragmática, úlceras, atresia de esôfago, abdome agudo obstrutivo, e anoalia anorretal), doenças pulmonares (pneumonia, hipertensão pulmonar, broncodisplasia, insuficiência respiratória aguda e crônica e estenose de traquéia), doenças neurológicas (neuropatia congênita, isquemia cerebral, sequelas neurológicas, aneurisma e acidente vascular cerebral) e outras doenças (sepse, síndromes, traumas, afogamento, queimaduras, abscessos, leucemias, fascite necrotizante, diabetes e etc.).

Linfocitose foi considerada quando o hemograma revelou um valor maior ou igual a 4.000 linfócito/mm³ e plaquetopenia quando houve contagem igual ou inferior a 150.000 plaquetas. Estes dados foram obtidos do prontuário do paciente (Rodrigues, 2009; Nunes, 2009).

4.6. Análise estatística

Os dados obtidos nas análises de prontuários foram tabulados no software Excel e posteriormente analisados no programa R x 6.43.1.1. Statistics. As distribuições de frequências das características clínicas e epidemiológicas dos casos de candidemia são apresentadas na forma de Tabelas. O nível de significância utilizado em todas as análises foi de 0,05.

4.7. Aspectos éticos

Este trabalho foi avaliado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da Universidade Federal do Amazonas e está aprovado com o CAAE- Certificado de Apresentação para Apreciação Ética N. 12200612.3.0000.5020.

4.8. Amostras

No estudo foram utilizados 94 isolados obtidos de 101 hemoculturas de pacientes internados nas Unidades Hospitalares estudadas. Sete amostras foram excluídas nas análises laboratoriais devido à inviabilidade das leveduras ou não preenchimento dos critérios de inclusão. Os demais isolados originais foram repicados em duplicata em tubos de ensaio com meio de cultura Ágar Sabouraud e estão armazenados no Laboratório de Biodiversidade em Saúde/Micologia do ILMD-Fiocruz.

4.9. Teste de sensibilidade a antifúngicos

As amostras de *Candida* foram testadas quanto à sensibilidade aos antifúngicos, voriconazol, micafungina e caspofungina. Estes foram escolhidos por se tratarem de opções terapêuticas disponíveis nas unidades hospitalares de estudo. Foram utilizadas fitas de Etest (Biomérieux).

Foi utilizado o meio Agar RPMI 1640 + MOPS + Glicose que é constituído de RPMI 1640 (contendo L-glutamina, Sigma, USA) 8,4g , Tampão MOPS (Sigma, USA) 34,5g, Ágar 15,0g, D-Glicose 20,0g, NaOH 1M 80-90ml, Água Deionizada 900ml, Volume Total 1000 ml. Os pós de RPMI e MOPS foram dissolvidos em 500 ml de água deionizada estéril e filtrado com uma membrana 0,2µm esterilizante. Foi dissolvido a glicose e o ágar em 500 ml de água deionizada estéril. Autoclavado por 15 minutos (aproximadamente 121°C). Resfriado a 45-50°C. Gentilmente misturada à solução morna (aprox. 45°C) de RPMI + MOPS com a solução resfriada do ágar glicose. O pH foi ajustado para 7,0 com a solução de NaOH 1M. Após isso, distribuiu-se 60 ml do meio em placas de Petri estéreis de 150mm.

O inóculo foi preparado a partir de colônias de *Candida* cultivadas em meio Sabouraud

Dextrose (SAB) após 24 horas de crescimento e homogeneizado em NaCl 0.85% para turvação 0.5 McFarland. Um swab estéril foi mergulhado na suspensão do inóculo para a semeadura da levedura. Após 15 minutos as fitas de Etest foram aplicadas. Em cada placa foram aplicadas as 3 fitas. As placas de Petri foram incubadas em estufa a 37° C por 24 a 48 h. Após esse período realizou-se a leitura da CIM (concentração inibitória mínima). Para a determinação de resistência foram observados os *breakpoints* estabelecidos pelo CLSI em 2012 (Tabela 01).

Espécie de <i>Candida</i>	Antifúngico	Breakpoints
<i>Candida albicans</i>	Casposfungina	S<=0.25 R>=1
	Micafungina	S<=0.25 R>=1
	Voriconazol	S<=0.12 R>=1
<i>Candida glabrata</i>	Casposfungina	S<=0.12 R>=0.5
	Micafungina	S<=0.06 R>=0.25
	Voriconazol	ND
<i>Candida guilliermondii</i>	Casposfungina	S<=2 R>=8
	Micafungina	S<=2 R>=8
	Voriconazol	S<=0.12 R>=1
<i>Candida parapsilosis</i>	Casposfungina	S<=2 R>=8
	Micafungina	S<=2 R>=8
	Voriconazol	S<=0.12 R>=1
<i>Candida tropicalis</i>	Casposfungina	S<=0.25 R>=1
	Micafungina	S<=0.25 R>=1
	Voriconazol	S<=0.12 R>=1
Outras <i>Candida</i>	Casposfungina	ND
	Micafungina	ND
	Voriconazol	ND

Tabela 01 - Novos *Breakpoints* dos antifúngicos de acordo com a espécie de *Candida* estabelecidos pelo CLSI M27-S4 no ano de 2012. ND: Não definido.

4.10. Determinação de fatores de virulência

a) Produção de fosfolipase

Culturas de leveduras com 24h de crescimento em ágar Sabouraud Dextrose foram inoculadas em placas de Petri com meio base mais emulsão de ovo a 50% em solução

fisiológica. O meio base é constituído de 10g de peptona, 30g de glicose, 57,3g de cloreto de sódio, 0,55g de cloreto de cálcio, 20g de ágar e 1000 mL de água destilada. A esta solução previamente esterilizada em autoclave foi acrescentado 4% da emulsão de gema de ovo 50% (Difco). Para cada levedura foi preparada uma suspensão de células em solução salina ajustada na escala 1 de McFarland. Foram inoculados 10 μ L dessa suspensão em pontos equidistantes nas placas. Em cada placa foi inoculada uma levedura em triplicata. A leitura do teste foi realizada após quatro dias de incubação a 37°C, sendo considerada como positiva a produção de zona opaca de precipitação ao redor da colônia. A atividade enzimática (Pz) foi medida através da razão entre o diâmetro da colônia e o diâmetro da colônia mais a zona de precipitação. Quanto menor o valor de Pz, maior a atividade enzimática, assim sendo, Pz= 1 indica ausência de atividade enzimática, 0,64 <Pz< 1 indica atividade enzimática positiva e quando Pz \leq 0,63 há atividade enzimática fortemente positiva (Price et al. 1982).

b) Produção de proteinase

As leveduras foram cultivadas por 24h em Ágar Sabouraud Dextrose a 28°C e inoculadas em placas de Petri contendo ágar BSA (Albumina de Soro Bovino), que consiste em uma solução de 300mL de água destilada, 0,2g de sulfato de magnésio heptahidratado, 2,5g de fosfato de potássio bibásico, 5g de cloreto de sódio, 1g de extrato de levedura, 20g de glicose e 2,5g de albumina bovina fração V (Sigma), que foi ajustada a pH 3,5 com HCl e posteriormente esterilizada por filtração em filtros Millipore de 0,22 μ m de diâmetro e adicionada de 20g de ágar em 700 mL de água esterilizados por autoclave. A padronização do inóculo foi feita conforme descrito para o teste de produção de fosfolipase. Em cada placa foi inoculada uma levedura em triplicata. A leitura do teste foi feita após sete dias de incubação a 37°C, sendo considerada como positiva a produção de halo transparente ao redor da colônia. A atividade enzimática (Pz) foi medida seguindo-se o mesmo esquema da fosfolipase (Chen et al, 1996; Ruchel et al. 1982).

c) Produção de Biofilme

Uma alçada de 10µl de células de leveduras crescidas a 24h em ágar Sabouraud Dextrose foi inoculada num tubo de poliestireno Falcon contendo 10 ml de caldo de Sabouraud suplementado com glicose a 8%. Os tubos foram incubados a 35 ° C durante 24 h. A suspensão de células em tubos foram vertidos e lavados com água destilada duas vezes. Depois coradas com solução a 1% de safranina. Os tubos foram examinados quanto à presença da camada viscosa e classificados como negativa, positiva fraca e forte positivo. Cada uma das amostras foi testada três vezes e cada tubo foi lido por dois observadores (Ozkan et al. 2008).

d) Atividade hemolítica

A atividade hemolítica foi realizada conforme Rossoni et al. (2013) com algumas modificações. O meio foi preparado com 7 mL de sangue fresco por 100 ml de ágar Sabouraud Dextrose suplementado com 3% de glucose. O pH final foi ajustado para $5,6 \pm 0,2$. Foram inoculados 10µL da suspensão de células com turvação ajustada a escala 1 MacFarland. As placas de Petri foram incubadas a 37°C durante 48 horas em uma atmosfera de 5% de CO₂. A atividade hemolítica foi medida utilizando Pz, ou seja, Pz = 1.00 - nenhum halo foi produzido, não havendo actividade enzimática. Quanto mais baixo for o valor de Pz, tanto maior a atividade enzimática do isolado. Todos os testes foram realizados em triplicata para cada isolado.

5. RESULTADOS

5.1. Descrição das características clínicas e epidemiológicas, evolução dos casos e terapêutica instituída, dos pacientes acometidos por infecções sistêmicas ocasionadas por espécies de *Candida*

A partir das 101 hemoculturas positivas para *Candida* obtidas entre 01 de janeiro a 31 de dezembro de 2013 nos 11 hospitais foram identificados 85 casos de candidemia em 81 pacientes, sendo que 2 pacientes tiveram infecções após 30 dias do primeiro diagnóstico e 2 pacientes tiveram infecções dentro dos 30 dias por 2 espécies diferentes de *Candida* das isoladas inicialmente. Dois casos de *Candida parapsilosis* e um caso de *Candida pelliculosa* foram excluídos do estudo por terem sido classificados como contaminantes, pois não houve a terapia antifúngica instituída.

Segundo a evolução clínica, 33 (40,8%) dos 81 pacientes com candidemia foram a óbito, 5 eram adultos e 28 crianças (Figura 2). A maior mortalidade proporcional foi observada entre os adultos (54,5%). Sete pacientes morreram antes do resultado da hemocultura, pois se tratava do dia da coleta ou dias imediatamente posteriores, o que impediu o diagnóstico em momento oportuno, e a instituição da terapia antifúngica. Estes dados estão descritos na Tabela 02.

Faixa de idade	Número total de casos (% total)	Número de óbitos (% faixa)	Número de sobreviventes (% faixa)
0 – 28 dias	19 (23,4%)	8 (42,1%)	11 (57,9%)
29 dias – ≤1 ano	40 (49,4%)	15 (37,5%)	25 (62,5%)
>1 ano – ≤15 anos	11 (13,6%)	4 (36,4%)	7 (63,6%)
>15 anos	11 (13,6%)	6 (54,5%)	5 (45,5%)
Total	81 (100%)	33 (40,8%)	48(59,2%)

Tabela 02 - Relação entre a frequência de casos e número de óbitos segundo a faixa etária de pacientes com candidemia internados em Hospitais de Manaus/AM no ano de 2013.

Quanto à etiologia, a *Candida albicans* foi o fungo isolado mais frequente (34,57%, 28 casos), seguido de *Candida tropicalis* (32,1%, 26 casos) e *Candida parapsilosis* (17,29%, 14

casos) e outras espécies corresponderam a 16,05%. Os isolados de todas as *Candida* não-*albicans* representaram 65,43% (53/81) do total das ocorrências. A frequência das espécies de *Candida* isoladas da corrente sanguínea segundo a faixa etária dos pacientes pode ser observada na Figura 01.

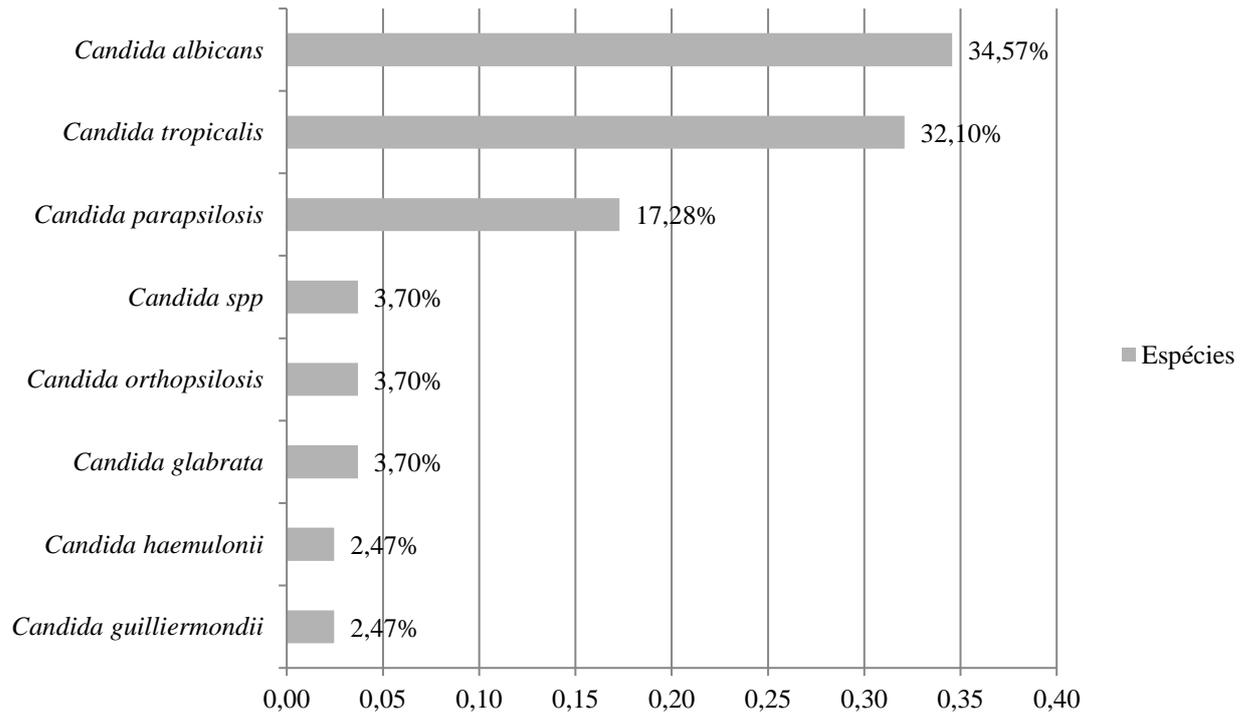


Figura 01 - Distribuição das espécies de *Candida* isoladas das hemoculturas dos pacientes internados em 11 unidades hospitalares do município de Manaus/AM no ano de 2013.

Candida tropicalis foi isolada em 45,5% (15/33) dos pacientes que evoluíram a óbito, e *C. albicans* 39,4% (13/33) e outras espécies 15,1% (5/33). O óbito geral ocorreu em 40,7% dos pacientes. (Figura 2)

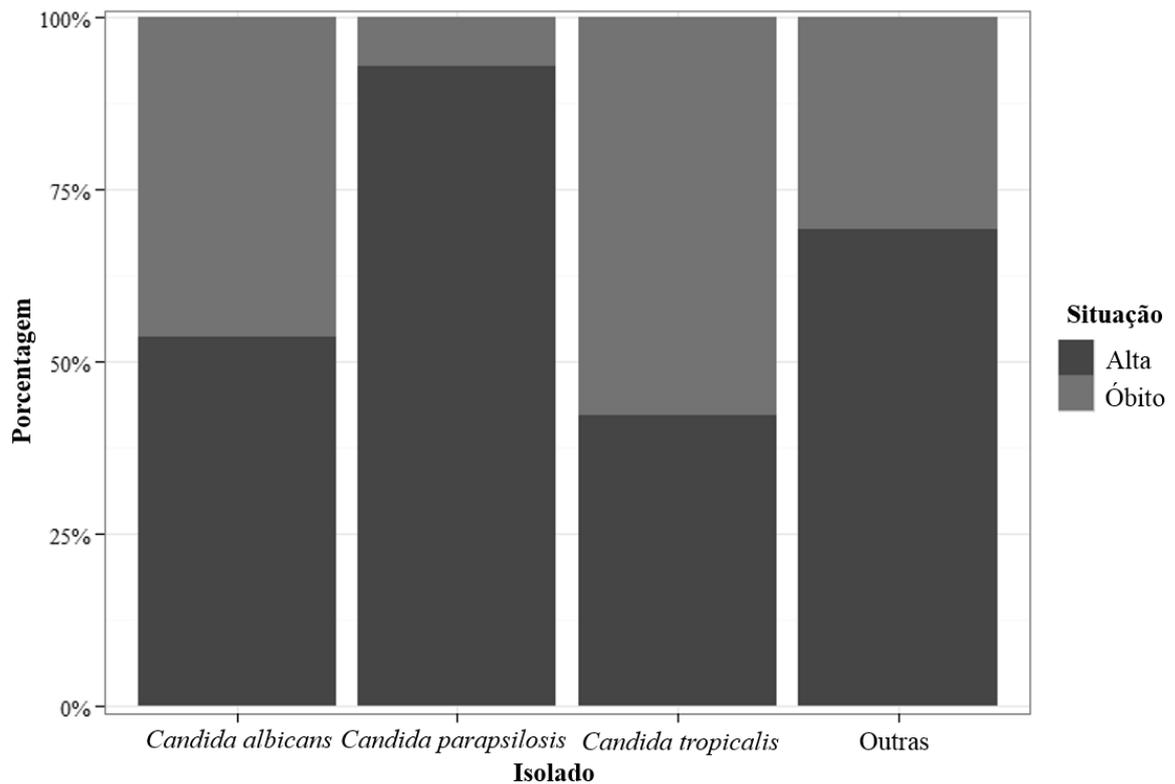


Figura 02 - Distribuição dos óbitos por espécies do gênero *Candida* isoladas das hemoculturas dos pacientes internados em 11 unidades hospitalares do município de Manaus/AM no ano de 2013.

Dos 81 pacientes estudados 67,9% são do sexo masculino e 32,1% do sexo feminino. Pacientes pediátricos corresponderam a 86,4% (70/81) e adultos a 13,6% (11/81) dos casos. A idade dos pacientes no dia da coleta da hemocultura variou de 7 dias a 89 anos. Entre os pacientes pediátricos a mediana das idades foi de 60 dias e entre os adultos de 53 anos.

A Candidemia ocorreu em média 30 dias (mediana de 18 dias) após a admissão hospitalar (variando entre de 2 a 466 dias). Todas as infecções obedeceram aos Critérios Nacionais de Infecções Relacionadas a Assistência à Saúde (ANVISA, 2010). Um terço dos pacientes tiveram como procedência as maternidades (ver Figura 03) e dois terços nascidos na capital Manaus. No momento da coleta 65 pacientes (84,4%) estavam hospitalizados na UTI, e 12 (15,6%) em enfermarias conforme Tabela 03. A raça mais comum é a parda de predomínio da raça brasileira.

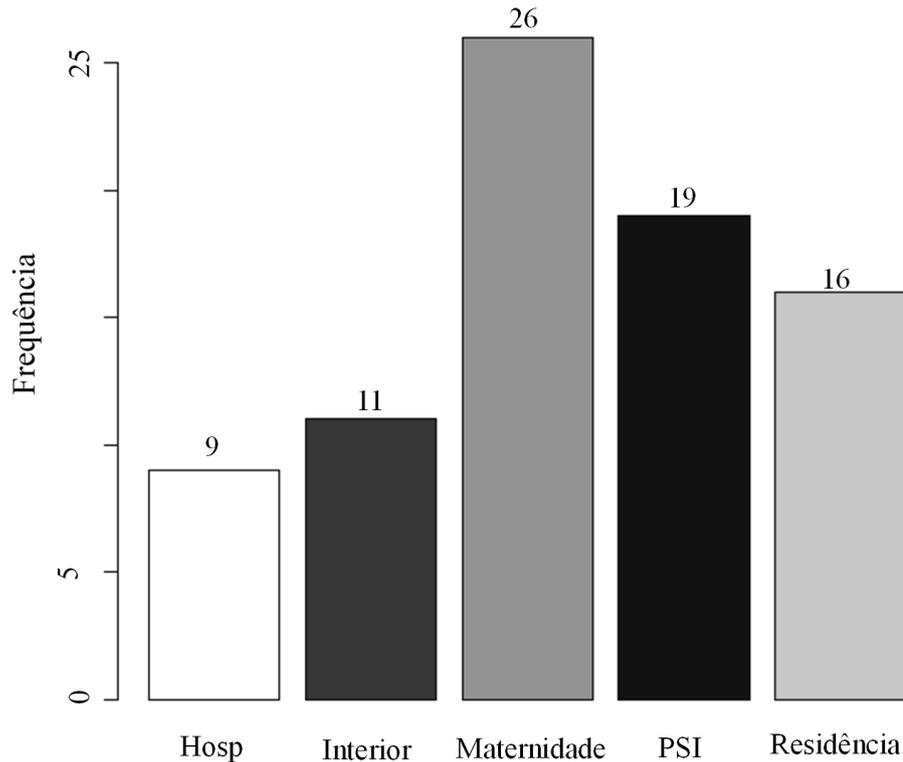


Figura 03 - Procedência dos pacientes internados com candidemia em 11 unidades hospitalares do município de Manaus/AM no ano de 2013. Legenda: Hosp= Hospital, PSI= Pronto-Socorro Infantil.

Na tabela 03 estão descritas as variáveis demográficas: gênero, situação de internação, procedência, setor de internação no momento do diagnóstico, naturalidade, tempo de internação até o aparecimento da infecção fúngica e a cor. Houve predomínio da cor parda, mais comum entre a população manauara, e vale ressaltar que o aumento de tempo de internação foi de 9 a 43 dias de internação.

Variáveis	Isolados				Total n = 81 (%)	P valor
	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	Outras		
	n = 28 (%)	n = 26 (%)	n = 14 (%)	n = 13 (%)		
Gênero						0,612 ²
F	9 (32,1)	8 (30,8)	3 (21,4)	6 (46,2)	26 (32,1)	
M	19 (67,9)	18 (69,2)	11 (78,6)	7 (53,8)	55 (67,9)	
Situação						0,014¹
Alta	15 (53,6)	11 (42,3)	13 (92,9)	9 (69,2)	48 (59,3)	
Óbito	13 (46,4)	15 (57,7)	1 (7,1)	4 (30,8)	33 (40,7)	
Procedência						0,258 ²

Hospital	6 (21,4)	1 (3,8)	1 (7,1)	1 (7,7)	9 (11,1)	
Interior	2 (7,1)	5 (19,2)	1 (7,1)	3 (23,1)	11 (13,6)	
Maternidade	7 (25)	9 (34,6)	7 (50)	3 (23,1)	26 (32,1)	
Pronto-socorro	7 (25)	5 (19,2)	5 (35,7)	2 (15,4)	19 (23,5)	
Residência	6 (21,4)	6 (23,1)	0 (0)	4 (30,8)	16 (19,8)	
Sector de internação*						0,889²
Enfermaria	4 (14,8)	3 (13)	2 (14,3)	3 (23,1)	12 (15,6)	
UTI	23 (85,2)	20 (87)	12 (85,7)	10 (76,9)	65 (84,4)	
Naturalidade*						0,24²
Interior	5 (20)	6 (27,3)	1 (7,1)	1 (14,3)	13 (19,1)	
Manaus	20 (80)	13 (59,1)	13 (92,8)	6 (85,7)	52 (76,5)	
Outro Estado	0 (0)	3 (13,6)	0 (0)	0 (0)	3 (4,4)	
Dias entre internação e cultura						0,737³
Mediana (IIQ)	20 (11,2-25,5)	18 (9,5-24)	17,5 (12,8-45,2)	25 (5,5-43,2)	18 (9-33)	
Cor*						0,015²
Branca	6 (22,2)	0 (0)	1 (7,1)	4 (40)	11 (14,7)	
Indígena	1 (3,7)	3 (12,5)	0 (0)	1 (10)	5 (6,7)	
Parda	20 (74,1)	21 (87,5)	13 (92,8)	5 (50)	59 (78,6)	

Tabela 03 - Variáveis demográficas de pacientes internados com candidemia em 11 unidades hospitalares do município de Manaus/AM no ano de 2013 **Nota: P-Nota:** P-valor, valor em negrito indica diferença estatística significativa ao nível de 5%. (1) Teste Quiquadrado. (2) Teste Exato de Fisher. (3) Kruskal Wallis. (IIQ) Intervalo Interquartilico. (%) por coluna.

*N inferior a 81, pois algumas informações não estavam contidas nos prontuários.

As principais doenças de base encontradas neste estudo estão descritas na Figura abaixo, tendo maior frequência as doenças pulmonares e gastrointestinais.

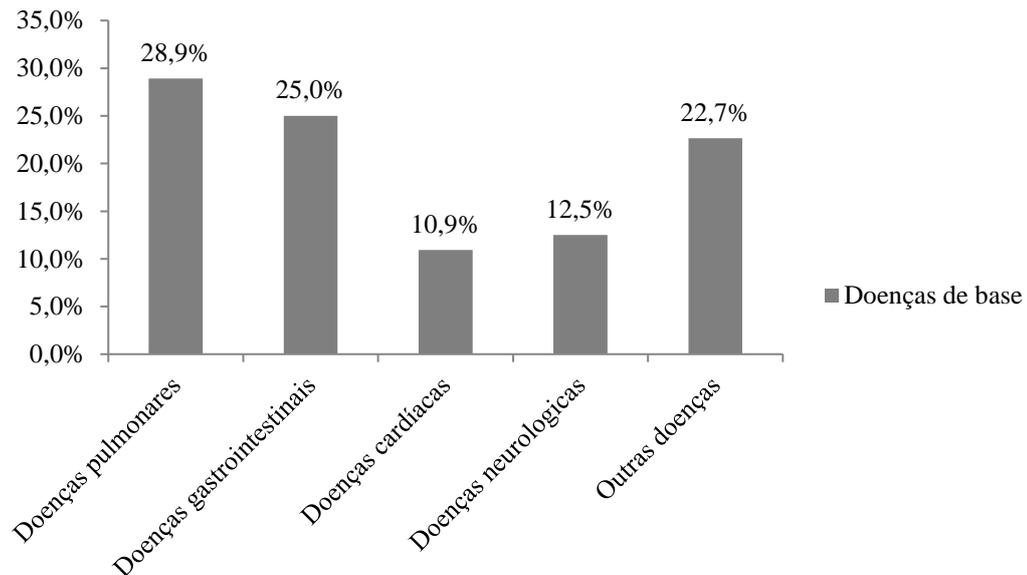


Figura 04 - Doenças de base de pacientes internados com candidemia em 11 unidades hospitalares do município de Manaus/AM no ano de 2013.

Todos os pacientes foram submetidos a algum tipo de procedimento invasivo, conforme demonstrado na Tabela 04. Entre as condições apresentadas pelos pacientes citam-se a presença de cateter venoso central (95,9%), uso de gastroprotetores (84,9%), nutrição parenteral (42,5%), ventilação mecânica (69,9%) e cirurgia abdominal (58,9%). Anterior ao episódio de candidemia 8,1% pacientes já estavam com diagnóstico de outra candidose em um ou mais sítios anatômicos (como ITU e infecção de sítio cirúrgico). Analisando o hemograma dos doentes a plaquetopenia foi mais frequente que a linfocitose. Nos dias que precederam os episódios de candidemia, quase a totalidade dos pacientes (98,6%) estavam utilizando antimicrobianos.

Variáveis	Isolados			Outras	Total	P valor
	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>			
	n = 28 (%)	n = 26 (%)	n = 14 (%)	n = 13 (%)	n = 81 (%)	
Uso prévio de Corticoides*						0,843 ¹
Não	15 (57,7)	15 (65,2)	10 (71,4)	6 (66,7)	46 (63,9)	
Sim	11 (42,3)	8 (34,8)	4 (28,6)	3 (33,3)	26 (36,1)	0,325 ²

Uso de antimicrobianos*						
Não	0 (0)	0 (0)	1 (7,1)	0 (0)	1 (1,4) 73	
Sim	27 (100)	23 (100)	13 (92,9)	10 (100)	(98,6)	
Cateter venoso Central*						1 ²
Não	1 (3,7)	1 (4,3)	1 (7,1)	0 (0)	3 (4,1) 70	
Sim	26 (96,3)	22 (95,7)	13 (92,9)	9 (100)	(95,9)	
Nutrição Parenteral*						0,081 ¹
Não	19 (73,1)	9 (39,1)	7 (50)	7 (70)	42 (57,5) 31	
Sim	7 (26,9)	14 (60,9)	7 (50)	3 (30)	(42,5)	
Colonização prévia*						0,97 ²
Não	21 (80,8)	19 (82,6)	12 (85,7)	9 (90)	61 (83,6) 12	
Sim	5 (19,2)	4 (17,4)	2 (14,3)	1 (10)	(16,4)	
Sonda gástrica ou nasogástrica*						0,656 ²
Não	2 (7,7)	2 (8,7)	2 (14,3)	2 (20)	8 (11)	
Sim	24 (92,3)	21 (91,3)	12 (85,7)	8 (80)	65 (89)	
Cirurgia até 30 dias antes*						0,864 ¹
Não	11 (42,3)	8 (34,8)	6 (42,9)	5 (50)	30 (41,1) 43	
Sim	15 (57,7)	15 (65,2)	8 (57,1)	5 (50)	(58,9)	
AIDS*						0,134 ²
Não	26 (100)	23 (100)	14 (100)	9 (90)	72 (98,6)	
Sim	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (10)	1 (1,4)	
Quimioterapia*						1 ²
Não	25 (96,2)	22 (95,7)	14 (100)	11 (100)	72 (97,3)	
Sim	1 (3,8)	1 (4,3)	0 (0)	0 (0)	2 (2,7)	
Colostomia*						0,912 ²
Não	21 (80,8)	18 (78,3)	12 (85,7)	8 (72,7)	59 (79,7) 15	
Sim	5 (19,2)	5 (21,7)	2 (14,3)	3 (27,3)	(20,3)	

Troca de antibiótico*						0,130
Não	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (9,1)	1 (1,3)	
Sim	27 (100)	23 (100)	14 (100)	10 (90,9)	74(98,7)	
IRAS*						0,039
Sim	28 (100)	24 (100)	14 (100)	13 (100)	79 (100)	
Neoplasia*						1 ²
Não	25 (96,2)	22 (95,7)	14 (100)	12 (100)	73 (97,3)	
Sim	1 (3,8)	1 (4,3)	0 (0)	0 (0)	2 (2,7)	
Diabetes*						0,636 ²
Não	26 (96,3)	21 (91,3)	14 (100)	12 (100)	73 (96,1)	
Sim	1 (3,7)	2 (8,7)	0 (0)	0 (0)	3 (3,9)	
Cardiopatia*						1 ²
Não	18 (66,7)	16 (69,6)	9 (64,3)	7 (63,6)	50 (66,7)	
Sim	9 (33,3)	7 (30,4)	5 (35,7)	4 (36,4)	25 (33,3)	
Insuficiência renal*						0,255 ²
Não	24 (88,9)	23 (100)	14 (100)	10 (90,9)	71 (94,7)	
Sim	3 (11,1)	0 (0)	0 (0)	1 (9,1)	4 (5,3)	
Trauma*						0,089 ²
Não	25 (92,6)	23 (100)	14 (100)	9 (81,8)	71 (94,7)	
Sim	2 (7,4)	0 (0)	0 (0)	2 (18,2)	4 (5,3)	
Outra candidíase*						0,005²
Não	20 (76,9)	23 (100)	14 (100)	11 (100)	68 (91,9)	
Sim	6 (23,1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6 (8,1)	
Ventilação mecânica*						0,651 ²
Não	9 (33,3)	6 (26,1)	3 (21,4)	4 (44,4)	22 (30,1)	
Sim	18 (66,7)	17 (73,9)	11 (78,6)	5 (55,6)	51 (69,9)	
Sonda Vesical de demora*						0,722 ²

Não	14 (51,9)	9 (39,1)	8 (57,1)	4 (44,4)	35 (47,9)	
Sim	13 (48,1)	14 (60,9)	6 (42,9)	5 (55,6)	38 (52,1)	
Uso de protetor Gástrico*						0,038²
Não	6 (23,1)	0 (0)	3 (21,4)	2 (20)	11 (15,1)	
Sim	20 (76,9)	23 (100)	11 (78,6)	8 (80)	62 (84,9)	
Linfocitose*						0,971 ²
Não	15 (60)	12 (54,5)	7 (53,8)	5 (62,5)	39 (57,4)	
Sim	10 (40)	10 (45,5)	6 (46,2)	3 (37,5)	29 (42,6)	
Plaquetopenia*						0,797 ²
Não	11 (44)	8 (36,4)	6 (46,2)	2 (25)	27 (39,7)	
Sim	14 (56)	14 (63,6)	7 (53,8)	6 (75)	41 (60,3)	
Diálise*						0,381 ²
Não	24 (92,3)	19 (82,6)	14 (100)	9 (90)	66 (90,4)	
Sim	2 (7,7)	4 (17,4)	0 (0)	1 (10)	7 (9,6)	
Sobreviveu após 30 dias da cirurgia*						0,146 ²
Não	3 (23,1)	7 (46,7)	0 (0)	3 (50)	13 (31,7)	
Sim	10 (76,9)	8 (53,3)	7 (100)	3 (50)	28 (68,3)	

Tabela 04 - Variáveis associadas e condições de risco relacionadas aos pacientes internados com candidemia em 11 unidades hospitalares do município de Manaus/AM no ano de 2013. **Nota:** P-valor, valor em negrito indica diferença estatística significativa ao nível de 5%. (1) Teste Quiquadrado. (2) Teste Exato de Fisher. IRAS- Infecções relacionadas a assistência à saúde. *N inferior a 81, pois algumas informações não estavam contidas nos prontuários.

De acordo com a Tabela 03, a troca de antimicrobianos, outra candidose e uso de protetor gástrico foram estatisticamente significativos, com probabilidade para associação para Candidíase.

O tratamento posterior foi o adotado após o diagnóstico laboratorial, e todos os pacientes receberam tratamento antifúngico, a exceção os que tiveram óbito antes do diagnóstico. Os antifúngicos para infecção sistêmica disponível nestes hospitais são: Anfotericina nas

apresentações desoxicolato e lipossomal, Fluconazol e equinocandinas (Caspofungina, Anidulafungina e Micafungina). A Anfotericina foi o antifúngico usado na maioria dos tratamentos (72,6%) conforme Tabela 05.

Variáveis	Isolados				Total	P valor
	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	Outras		
	n = 28 (%)	n = 26 (%)	n = 14 (%)	n = 13 (%)	n = 81 (%)	
Tratamento prévio com antifúngicos						0,37
Não	15 (57,7)	19 (82,6)	12 (85,7)	8 (72,7)	54 (73)	
Sim	11 (42,3)	4 (17,4)	2 (14,3)	3 (27,3)	20 (27,0)	
Tratamento Posterior						0,008
Não	0 (0)	6 (26,1)	0 (0)	1 (10)	7 (9,5)	
Sim	27 (100)	17 (73,9)	14 (100)	9 (90)	67 (90,5)	
Antifúngico						0,067
Anfotericina	22 (81,5)	14 (60,9)	10 (71,4)	7 (77,8)	53 (72,6)	
Anfotericina+caspofungina	2 (7,4)	2 (8,7)	1 (7,1)	1 (11,1)	6 (8,2)	
Caspofungina	1 (3,7)	0 (0)	2 (14,3)	0 (0)	3 (4,1)	
Fluconazol	0 (0)	1 (4,3)	1 (7,1)	0 (0)	2 (2,7)	
Fluconazol +anfotericina	2 (7,4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2,7)	
Não usou	0 (0)	6 (26,1)	0 (0)	1 (11,1)	7 (9,6)	

Tabela 05 - Uso de terapia antifúngica de pacientes com candidemia internados em 11 unidades hospitalares do município de Manaus-AM no ano de 2013

Nota: P-valor, valor em negrito indica diferença estatística significativa ao nível de 5%. Teste Exato de Fisher. (%) por coluna.

Dos 11 hospitais estudados um se destacou por concentrar 49,4% dos casos, sendo este um hospital exclusivamente infantil. A Figura 05 mostra a distribuição dos casos por unidades de saúde.

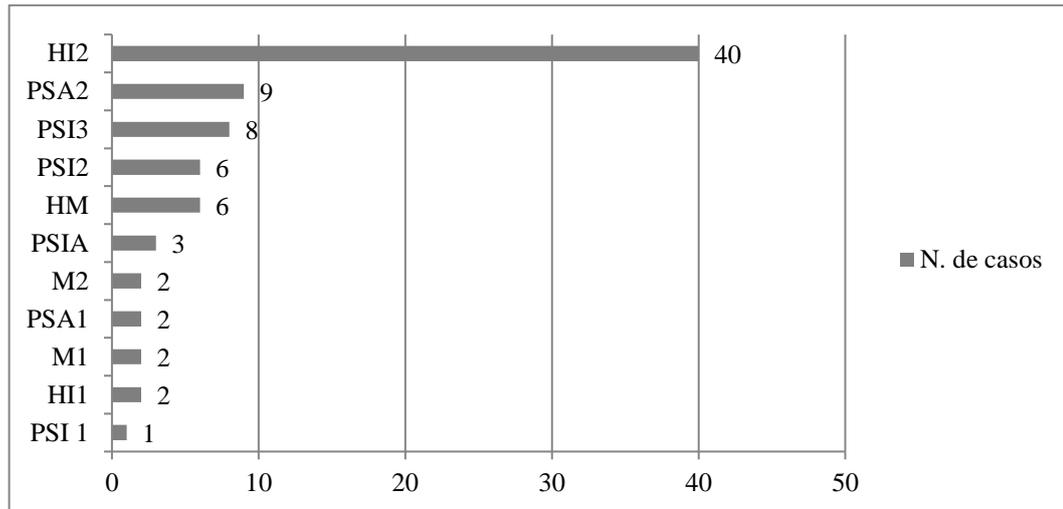


Figura 05 - Distribuição do número de casos de candidemia por unidade de saúde do município de Manaus/AM no ano de 2013. Legenda: HI- Hospital Infantil, PSI- pronto-socorro infantil, HM-hospital e maternidade, PSA – pronto-socorro adulto, M- maternidade e PSIA-pronto-socorro infantil e adulto.

Em estudos multicêntricos não se observa este tipo de distribuição, geralmente os casos são distribuídos sem uma concentração tão intensa em um único hospital. (Won et al. 2015, Colombo et al. ,2006). Em nosso estudo isto pode ser explicado por se tratar de um hospital de referência em cirurgias gastrointestinais pediátricas.

5.2. Susceptibilidade *in vitro* aos antifúngicos

Dos 101 isolados sete foram descartados por não preencherem os critérios do estudo. Portanto, nas análises fenotípicas foram utilizadas 94 isolados de *Candida* provenientes de 81 casos de candidemias.

Os antifúngicos Anfotericina, Fluconazol, Fluocitosina e Voriconazol foram testados pelo laboratório terceirizado através do método fluorimétrico e automatizado Bactec série 9000 e, não detectou resistência em nenhuma das espécies do estudo (dados do Laboratório Reunidos).

O método do E test[®] foi utilizado para os antifúngicos: Caspofungina, Micafungina e Voriconazol. O Voriconazol foi testado pelos dois métodos e ocorreu divergência em 3 resultados, 1 isolado de *C. albicans* e 2 *C. parapsilosis* apresentaram resistência pelo método do E test[®]. Na Tabela 6 estão os resultados do perfil de susceptibilidade das espécies de *Candida* testadas. A diferença entre os dois métodos pode ser explicada pela diferença de *breakpoints* adotados (o antigo era $R \geq 4 \mu\text{g/mL}$ e atualmente é $\geq 1 \mu\text{g/mL}$), o que implica no aumento de isolados resistentes pela redução do *breakpoint* para determinação do CIM. Isto foi descrito por Won et al. (2015), quando comparou as mesmas espécies isoladas com o novo *breakpoint* estabelecido no ano de 2012 (CLSI, 2012).

	Antifúngico	MIC	%R (n)	%I	%S	Média Geom.	MIC₉₀
<i>Candida albicans</i> (33)	Caspofungina	0,004 – 32	12,1(4)	48,5	39,4	0,283	1.5
	Micafungina	0,012 - 1,5	3(1)	6,1	87,8	0,043	0.38
	Voriconazol	0,002 – 2	3(1)	21,2	75,8	0,025	0.19
<i>Candida glabrata</i> (3)	Caspofungina	0,012 - 1,5	33,3(1)	33,3	33,3	0,151	1.5
	Micafungina	0,012 - 0,75	33,3(1)	0	66,7	0,059	0.75
	Voriconazol	0,75 – 2	NA	NA	NA	1,145	2
<i>Candida guilliermondii</i> (2)	Caspofungina	1,5 – 3	0	50	50	2,121	3
	Micafungina	0,5 – 1	0	0	100	0,707	1
	Voriconazol	0,094 - 0,125	0	100	0	0,108	0.125
<i>Candida parapsilosis</i> (16)	Caspofungina	2 – 12	6,2(1)	68,8	25	3,234	4
	Micafungina	0,012 – 6	0	12,6	81,2	1,183	4
	Voriconazol	0,008 - 1,5	12,5(2)	50	37,5	0,106	1
<i>Candida tropicalis</i> (30)	Caspofungina	0,032 - 6	3,3(1)	66,7	30	0,343	0.5
	Micafungina	0,023 - 0,38	0	3,3	96,7	0,046	0,046

	Voriconazol	0,012 - 0,75	0	6,7	93,3	0,058	0,058
Outras Candida (10)	Caspofungina	0,38 – 3	NA	NA	NA	3	3
	Micafungina	0,032 - 0,75	NA	NA	NA	0.5	0.5
	Voriconazol	0,032 - 1,5	NA	NA	NA	0.5	0.5
GERAL (94)	Caspofungina	0,004 – 32	7,4 (7)	52,1	29,8	0,535	3
	Micafungina	0,012 – 6	2,1 (2)	7,4	79,8	0,103	1.5
	Voriconazol	0,002 – 2	3,2 (3)	10,6	72,3	0,06	0.5

Tabela 06 - Sensibilidade aos antifúngicos dos 94 isolados de *Candida* obtidos de pacientes com candidemia internados em 11 hospitais da cidade de Manaus. Legenda: MIC - concentração inibitória mínima; R- resistente; I – Intermediário; S – sensível; Média geom. – média geométrica; NA – Breakpoint não definido *in vitro*. Porcentagens de resistentes em negrito.

A maioria das espécies foi sensível aos antifúngicos, porém houve grande variação das CIM. A caspofungina teve o maior número de casos de resistência. A *C. glabrata* teve 1 amostra resistente das 3 testadas, sendo essa cepa resistente a dois antifúngicos, caspofungina e micafungina. A *C. albicans* teve 4 isolados com perfil de resistência, sendo 2 resistentes somente a caspofungina, 1 resistente a caspofungina e micafungina e 1 resistente a caspofungina e ao voriconazol. *C. parapsilosis* teve 3 isolados resistentes, sendo 1 para a caspofungina e 2 para voriconazol. *C. tropicalis* teve 1 amostra cada resistente a caspofungina. Importante observar o perfil de susceptibilidade intermediária que ficou em 51,1% para todas as *Candida* em relação a caspofungina. Dos sete pacientes com *Candida* spp resistente, 2 evoluíram a óbito, mesmo em uso de terapia antifúngica com Anfotericina.

Os dados completos obtidos para os testes de sensibilidade aos antifúngicos estudados estão no Anexo 1. No Anexo 7 estão figuras da atividade antifúngica.

5.3. Avaliação dos fatores de virulência dos isolados de *Candida* spp por meio do teste de produção de enzimas extracelulares (Proteinase, Fosfolipase e hemolisinas) e formação de biofilme.

Dos 94 isolados 36,2% foram positivos para a atividade de fosfolipase, dos quais 94% das espécies eram *C. albicans* e 85% possuem atividade acentuada para a expressão desta enzima. Além da *C. albicans* apenas as *C. tropicalis* apresentou a produção desta enzima.

Em relação a produção da proteinase, 56,4% dos isolados apresentaram esta atividade em 7 espécies diferentes: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. haemulonii*, *C. guilliermondii*, *C. famata* e *C. metapsilosis*. Destas, em 24,5% a produção foi acentuada, sendo a maioria (92,3%) as espécies de *C. albicans*.

A produção de hemolisinas pelas espécies de *Candida* foi observada em 78,7% dos isolados testados. Sendo a *C. tropicalis* a espécie que mais manifestou a produção dessa enzima. (Tabela 7).

Isolados de <i>Candida</i>	Proteinase n (%)	Fosfolipase n (%)	Hemolisina n (%)
<i>C. albicans</i> (33)	25 (75,8)	32 (96,7)	29 (87,9)
<i>C. tropicalis</i> (30)	11 (36,7)	1 (3,3)	28 (93,3)
<i>C. parapsilosis</i> (16)	13(81,3)	0 (0)	6 (37,5)
<i>Outras</i> (15)	4 (26,7)	1 (6,6)	11 (73,3)
<i>Total</i> (94)	53 (56,4)	34 (36,2)	74 (78,7)

Tabela 07 - Produção de Proteinase, Fosfolipase e Hemolisina segundo as espécies de *Candida* isoladas de hemoculturas de pacientes internados em 11 hospitais da Cidade de Manaus/AM no ano de 2013. n= número de isolados. A % foi dada pelo total da espécie.

A produção de biofilme ocorreu em 34% dos isolados, sendo destes o maior número de isolados de *C. tropicalis*. Foram fortemente positivas 18,1% de todas as amostras (Tabela 8). Os dados completos obtidos para os fatores de virulência estudados estão nos Anexos 3, 4, 5 e 6. Nos Anexos 2 estão as figuras da produção de fosfolipase, proteinase, hemolisina e biofilme, respectivamente.

<i>Candida</i> sp (n)	Produção forte n (%)	Produção fraca n (%)	Sem produção n (%)
<i>C. albicans</i> (33)	1 (3,03)	2 (6,06)	30 (90,91)
<i>C. tropicalis</i> (30)	13 (43,3)	8 (26,7)	9(30)
<i>C. parapsilosis</i> (16)	2 (12,5)	1 (6,25)	13 (81,25)
Outras (15)	1 (6,6)	4 (26,7)	10 (66,7)
Total (94)	17 (18,1)	15 (15,9)	62 (66)

Tabela 08 - Produção de biofilme segundo as espécies de *Candida* isoladas de hemoculturas de pacientes internados em 11 hospitais da Cidade de Manaus/AM. n= número de isolados.

6. DISCUSSÃO

6.1. Descrição das características clínicas e epidemiológicas, evolução dos casos e a terapêutica instituída, dos pacientes acometidos por infecções sistêmicas ocasionadas por espécies de *Candida*

Nesta casuística, verificamos a Candidemia como Infecções Relacionadas a Assistência a saúde, reconhecidamente um importante problema de Saúde. Dados clínicos e epidemiológicos demonstram semelhanças entre outros trabalhos, com alta prevalência destes agentes em pacientes com alterações nos mecanismos de defesa imunológica e com o comprometimento das barreiras anatômicas pela introdução de dispositivos invasivos, que favorecem a introdução de agentes oportunistas causadores deste tipo de infecção (Lacaz, 2002; Colombo, 2003). As variáveis significativas de acordo com a análise descritiva e que exigem medidas de prevenção e controle importantes são a alta incidência destas infecções em crianças e neonatos, e pacientes com procedência das maternidades. A alta concentração dos casos em um único hospital também é um fator que chama atenção. A taxa de mortalidade pode ser considerada alta, porém não difere de outros estudos, e não pode ser atribuída somente a presença do agente causador de infecção, visto que todos os pacientes concentravam diversas doenças de base, em geral graves.

O tempo de internação é importante fator a ser observado, pois quanto maior o tempo de permanência, maiores serão a chance de adquirir estas infecções, principalmente pela terapia antimicrobiana para bactérias ser instituída inicialmente, como ocorreu em pacientes do nosso estudo e a presença de vários dispositivos invasivos (Colombo, 1999; Almirante, 2005; Diekema, 2003).

A observação destes dados revela a importância de ações preventivas nos hospitais

infantis e maternidades, nos pacientes cirúrgicos e imunocomprometidos; principalmente de doenças como Leucemia onde os pacientes foram a óbito antes do resultado do diagnóstico.

Estudos como esses repassados as instituições responsáveis pelo controle destes agravos geram intervenções efetivas e que com certeza levarão a redução da mortalidade destes pacientes.

6.2. Análise do perfil de susceptibilidade aos antifúngicos

No Brasil, assim como em outros países, os isolados de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* apresentam alto grau de sensibilidade aos antifúngicos (Ostrosky-Zeichner, 2003; Colombo et al., 2006; Da Matta et al., 2007; Passos et al., 2007; Franca et al., 2008; Pappas et al., 2009). Estudos nacionais revelam que está ocorrendo um aumento da resistência frente aos antifúngicos, porém dentre os antifúngicos testados a Anfotericina continua o fármaco com menor número de casos de resistência (Colombo et al., 1999; Antunes et al., 2004; Aquino et al., 2005; Colombo et al., 2006; Da Matta et al., 2007; Passos et al., 2007; Franca et al., 2008). Em nosso estudo verificamos que a Anfotericina é a droga de escolha nas Candidemias, porém o uso das equinocandinas tem aumentado a cada dia.

Há fatores que devem ser avaliados na escolha da terapia adequada pois a correlação da metodologia *in vitro* versus *in vivo* implica dizer que a concentração do antifúngico *in vivo* sofre com as influências biológicas diversas; fatores relacionados ao hospedeiro são geralmente mais importantes que testes de susceptibilidade para definir resposta terapêutica; susceptibilidade *in vitro* pode não implicar em sucesso terapêutico e resistência *in vitro* geralmente associa-se a falha terapêutica (Rex, 2000).

Neste trabalho, mesmo diante do emprego da terapia microbiana adequada houve ocorrência do óbito e da continuidade da infecção em pacientes em uso de terapia adequada, isto pode ser explicado pela variação do comportamento do antimicrobiano e também pela manutenção do agente em biofilme dos dispositivos invasivos que permitem a reincidência da infecção se a troca do dispositivo não for realizada.

“É importante ter em mente que os critérios para teste de susceptibilidade a antimicrobianos são resultado da colaboração de várias ciências, fé e trabalho...”
(Baquero,1990)

6.3. Análise dos fatores de virulência

Visto que as espécies de *Candida* colonizam o homem, vários estudos buscam esclarecer as espécies que prevalecem mais em determinados sítios do corpo e em determinados grupos de pessoas a fim de compreender as circunstâncias da patogenicidade, que poderiam ser explicadas pela presença dos fatores de virulência que são responsáveis pela manutenção e invasão nos tecidos para que futuramente se instale a infecção.

A produção de proteinase é considerada um importante fator de virulência porque aumenta a capacidade do microorganismo colonizar e penetrar o tecido do hospedeiro, inutilizar proteínas da imunidade e comprometer a ação do sistema imune (Hube, 1996).

Em nosso estudo encontramos alta produção desta enzima para as espécies de *C. albicans* (92,3%), porém baixa produção para as espécies de *C. tropicalis*, o que tem sido demonstrado ser superior em outros estudos para esta espécie. (Kumar 2006; Ledesma, 2011; Rodrigues, 2009). As *C. parapsilosis* tiveram um número reduzido da produção desta enzima o que também difere de outros estudos como de Bonassoli et al. (2005) que achou a produção

em 100% dos indivíduos e Matsumoto (2002) que verificaram que 96,4% das amostras de *C. parapsilosis* isoladas de sangue e catéter produziram proteinase fortemente positivas.

A fosfolipase está relacionada à maior capacidade de invadir o tecido por suas funções de penetrar nas células e aderir as células. Em nosso trabalho encontramos baixa produção desta enzima, com apenas 1% de isolados, somente 1 *Candida* sp e 1 *C. tropicalis* produzindo esta enzima, sendo expressiva apenas na espécie de *C. albicans* o que corrobora com o trabalho de Basu et al. (2003) que encontraram 48,7% dos isolados de *C. albicans* de amostras clínicas de diversos sítios apresentando atividade de fosfolipase. Semelhante ao observado neste estudo, Costa (2009) encontrou maior produção de fosfolipase em amostras de *C. albicans* (55,9%) comparando com as espécies CNA (37,7%). Estudos realizados por Kumar et al (2006), com 61 isolados de *Candida* spp de pacientes imunocomprometidos, concluíram que 34 isolados (100%) da espécie *Candida albicans* foram produtoras de fosfolipase. Neste mesmo estudo, constataram que dos 22 isolados de *C. tropicalis* apenas 04 isolados (18,1%) foram positivos para esta enzima. Sachin et al (2014), Kumar et al. (2006), Ledesma (2011) e Sachin et al. (2006), obtiveram resultados superiores aos encontrados neste estudo para produção de fosfolipase da espécie *C. tropicalis*.

Quanto à hemolisina, sabe-se que ela facilita a invasão de hifas na mucosa do paciente numa candidíase disseminada e tem capacidade de lisar hemáceas em busca de ferro para favorecer seu crescimento e disseminação, podendo causar anemia e déficit de transporte de oxigênio nos pacientes. Em um estudo realizado por França et al. (2010) com 28 amostras clínicas de *C. tropicalis*, 100% apresentaram atividade hemolítica, resultado semelhante foi encontrado por D'êça Júnior (2011) em suas amostras clínicas de *C. tropicalis*, com 100% de positividade, também encontrou a expressão desta enzima para *C. glabrata*, seguida de *C. albicans* (93,5%) e *C. parapsilosis* (28,6%). Em nosso estudo tivemos esta atividade expressa em 93,3% das *C. tropicalis*, 87,9% nas espécies de *C. albicans* e 37,5% nas de *C. parapsilopsis*.

Os biofilmes desempenham um papel importante na perpetuação de tais infecções, pela capacidade de aderir e se manter em superfícies dos dispositivos invasivos e órgãos do paciente, onde pode contribuir para a manutenção da infecção e reincidência. Nosso estudo encontrou espécies de *C. tropicalis* e *C. albicans* com a capacidade de produção de biofilme e manutenção da infecção positiva na corrente sanguínea por até 3 semanas após a instituição da terapia adequada, o que corrobora com a importância do biofilme para a manutenção da infecção e a importância da retirada dos dispositivos invasivos frente ao diagnóstico de infecções fúngicas sistêmicas. Sua importância é tanta que se buscam dispositivos invasivos com a capacidade de não permitir a formação deste. (Soll, 2008; Sardi, 2013).

As *Candida albicans* testadas nesse estudo foram caracterizadas quanto ao DST (Diploid Sequence Type) por Corrêa (2014), sendo estes pertencentes a 23 genótipos, mas o principal é o DST90 onde 9 isolados pertencem a esse genótipo e 5 isolados são do complexo do DST90. Verificou-se que as *C. albicans* do genótipo DST90 não produzem biofilme, mas a maioria é produtora de proteinase e hemolisina e fortemente produtora de fosfolipase. Quanto à resistência aos antifúngicos os 4 isolados de *Candida albicans* que apresentaram resistência são todos do DST 90. No entanto, para uma melhor caracterização dos genótipos que ocorrem em nossa região é necessário realizar estudos com um maior número de isolados.

A existência de perfil de resistência demonstrada neste trabalho e os fatores de virulência implicam diretamente no sucesso terapêutico pelas medidas de controle instituídas, pois isto implica em utilizar antifúngicos mais adequados e a importância da troca dos dispositivos invasivos, e pesquisa de focos secundários na candidemia persistente.

A taxa de mortalidade está diretamente associada ao atraso do início da terapia antimicrobiana acertiva em infecções sistêmicas. É importante estabelecer estratégias precoces de intervenção e ações de prevenção, já descritas nos guidelines, porém que necessitam ser

validadas referentes à aplicabilidade entre diferentes regiões demográficas e populações de estudo. Entretanto, novos estudos epidemiológicos devem ser realizados com a finalidade de se realizar a vigilância e identificar mudanças nas infecções hospitalares em nossa cidade, bem como verificar o impacto das intervenções na prevenção das Candidemias e na redução das taxas de mortalidade. Estudos epidemiológicos locais, associados as pesquisas laboratoriais, sejam genótípicas ou fenotípicas demonstram as particularidades de cada lugar e que implicam na construção de melhoria contínua, voltado ao apoio na tomada de decisões e para as ações educativas. Por fim, acredita-se que o presente estudo poderá servir como parâmetro para comparações com futuras vigilâncias epidemiológicas nos hospitais de Manaus/AM e do Brasil.

7. CONCLUSÃO

A epidemiologia das candidemias nos 11 hospitais de Manaus é semelhante ao encontrado em outros hospitais em muitos aspectos: ocorreram principalmente em pacientes severamente debilitados, submetidos a procedimentos invasivos e cirurgia de grande porte, que utilizaram antibióticos de amplo espectro e permaneceram internados por longos períodos. As faixas etárias mais acometidas foram as de RNs e crianças. As Candidemias estão associadas à alta letalidade, têm como agente mais freqüente a *C. albicans*, mas existe o predomínio de espécies de *Candida* não-*albicans*. As principais condições de risco foram: uso prévio de antibióticos, presença de cateter venoso central, internação em UTI, uso de gastroprotetores e uso de sondas.

Apesar de poucos isolados resistentes aos antifúngicos, se percebe o grande número de isolados resistentes e intermediários a Caspofungina, sendo a Micafungina a opção terapêutica que se mostrou mais adequada pelo baixo número de resistência e menor concentração de CIM.

Os fatores de virulência estão presentes em nossos isolados sendo o destaque a *C. albicans* na produção de fosfolipases e proteinase, e a *C. tropicalis* na produção de hemolisinas e biofilme. Tais fatores são importantes para o agravamento e permanência da infecção e nos remetem a importância de medidas de controle na iminência da Candidemia.

Estes dados abrangentes documentam a epidemiologia da candidemia no Amazonas de forma pioneira e serve de comparação com estudos de outras regiões, e percebemos que as Candidemias são uma fonte significativa de morbidade em Manaus e provavelmente elevados custos associados.

Com a conclusão deste trabalho foi possível identificar Unidades de saúde que necessitam de intervenções mais efetivas de prevenção e controle de Infecções relacionadas a

assistência a saúde, onde parece ser um agente de importância significativa, de ocorrência endêmica e onde a profilaxia pode levar a benefícios e redução da incidência destas infecções.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, S., MUSTAFA, A. S., KHAN, Z., AL-RIFAIY, A. I., KHAN, Z. U. – PCR-enzyme immunoassay of rDNA in the diagnosis of candidemia and comparison with amplicon detection by agarose gel electrophoresis. *Int. J. Med. Microbiol.* 294: 45-51, 2004.
- ALMIRANTE B et al. Candidemia Project Study Group. 2005. Epidemiology and predictors of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J. Clin. Microbiol.* 43:1829-1835.
- ALONSO- VALLE, H. et al. Candidemia in terciary care hospital: epidemiology and factors influencing motality. *Europeu Clinical Microbioly Infect Dis*, v. 22, p. 254-7, 2003.
- ANTUNES, A. G.; PASQUALOTTO, A. C.; DIAZ, M. C.; D'AZEVEDO, P. A.; SEVERO, L. C. Candidemia in a Brazilian tertiary care hospital: species distribution and antifungal susceptibility patterns. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, v.46, n.5, p.239-41, Sep-Oct, 2004.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Indicadores Nacionais de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde. 2010.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Boletim Informativo. Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde. Ano IV nº 08, Brasília: ANVISA; 2014.
- AQUINO, V. R.; LUNARDI, L. W.; GOLDANI, L. Z.; BARTH, A. L. Prevalence, susceptibility profile for fluconazole and risk factors for candidemia in a tertiary care hospital in southern Brazil. *Braz J Infect Dis*, v.9, n.5, p.411-8, Oct, 2005.
- ARAÚJO PASSOS, SM. Prevalência de *Candida* spp.na cavidade oral de pacientes com e sem prótese dentária atendidos nas Unidades Básicas de Saúde da Cidade de Manaus-AM. Dissertação de Mestrado. 2009. PPGSSEA.
- BAQUERO F. European standards for antibiotic susceptibility testing: Towards a theoretical consensus. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 1990, Volume 9, Number 7, Page 492
- BECERRA, MR et al. “Epidemiologic Surveillance of Nosocomial Infections in a Pediatric Intensive Care Unit of a Developing Country.” *BMC Pediatrics* 10 (2010): 66.
- BECK-SAGUÉ, C. M., JARVIS, W. R. – National Nosocomial Infections Surveillance System. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. *J. Infect Dis.* 167 : 1247-1251, 1993.
- BENETUCCI, A. et al. Factores de riesgo asociados a candidemias causadas por múltiples especies. *Rev. argent. microbiol.* [online]. 2008, vol.40, n.1 pp. 30-36. ISSN 1851-7617
- BODEY, G. P., ANAISSIE, E. J. & EDWARDS, J. E. – Definition of *Candida* infection In: Bodey, G.P, ed. *Candidiasis: pathogenesis, diagnosis and treatmnt.* New York: Raven Press, 1993: 407- 8.

- BORST A, et al. Detection of *Candida* spp in blood cultures using nucleic acid sequence-based amplification (NASBA). *Diagn Microbiol. Infect. Dis.* 39: 155-160, 2001.
- BORST A, FLUIT AC. High levels of hydrolytic enzymes secreted by *Candida albicans* isolates involved in respiratory infections. *J Med Microbiol* 52: 971-974, 2003.
- BOUZA E, MUÑOZ P. Epidemiology of candidemia in intensive care units. *Int J Antimicrob Agents* 2008; 32 Suppl 2: S87-91.
- BRANCO VGC, ANJOS DCV, NASCIMENTO FB, et al. Prevalência e produção de exoenzimas por espécies de *Candida* provenientes da mucosa oral em pacientes com AIDS e indivíduos hígidos. *Revista de Patologia Tropical*. Vol. 41(4):427-441, 2012.
- CALDERONE RA; FONZI WA. Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends in Microbiol*, 2001. v.9 p. 327-35.
- CANDIDO CR, AZEVEDO PVR, KOMESU CM. Enzimotipagem de espécies do gênero *Candida* isolados da cavidade bucal. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 33: 437-442, 2000.
- CANTON E, VIUDES A, PEMAN J. Systemic nosocomial infection by yeasts. *Rev Iberoam Micol* , v.18, n.2, p.51-5, Jun, 2001.
- CARDO D, DENNEHY PH, HALVERSON P, FISHMAN N, KOHN M, MURPHY CL, WHITLEY RJ, e group de relators do document para eliminação de IRAS. Moving toward elimination of healthcare –associated infections: a call to action. *Am J Infect Control* 2010; 1-3.
- CHAKRABATI A; NAVAK N; TALWAR P. *In vitro* proteinases production by *Candida* species. *Mycopathologia* 114:163-168, 1991.
- CHEN LC, et al. *Extracellular proteinase activity of Cryptococcus neoformans*. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. Sept, 1996. p. 570-574.
- CHENG MF, et al. Risk factors for fatal candidemia caused by *Candida albicans* and non-albicans *Candida* species. *BMC Infectious Diseases* 5:1-5, 2005.
- CHRISTENSEN GD, SIMPSON A, BISNO AL, BEACHEY EH. Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infection and Immunity* 37: 318-326, 1982.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE –CLSI. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; fourth Informational Supplement M27-S4 Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.2012.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE- CLSI. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard M27-A3. 3. ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
- COLOMBO AL. et al. Epidemiology of candidemia in Brazil: nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. *J Clin Microbiol*, v. 44, p. 2816-23, 2006.

- COLOMBO AL. et al. Prospective observational study of candidemia in São Paulo, Brazil: incidence rate, epidemiology, and predictors of mortality. *Infect Control Hosp Epidemiol*, v. 28, p. 570-6, 2007.
- COLOMBO AL. et al. Susceptibility profile of 200 bloodstream isolates of *Candida* spp collected from Brazilian tertiary care hospitals. *Medical Mycology* 41: 235-239, 2003.
- COLOMBO AL; GUIMARÃES T. Epidemiology of hematogenous infections due to *Candida* spp. *Rev Soc Bras Med Trop*, v. 36, p. 599-607, 2003.
- COLOMBO, A.L, et al. 1999 High rate of non-*albicans* candidemia in Brazilian tertiary care hospitals. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*. 34(4):281-286. 1999.
- CORNELY OA, Bassetti M, Calandra T *et al.*; ESCMID Fungal Infection Study Group. ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: non-neutropenic adult patients. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18(Suppl. 7): 19–37.
- CORRÊA M. A. E 2014. *Estudo da incidência de candidemia e diversidade genética de Candida em pessoas internadas em Unidades Hospitalares de Manaus-AM*, PhD Dissertação, Instituto Leônidas e Maria Deane/Fiocruz, Universidade Federal do Amazonas, Manaus.
- CORTES JA et al. Métodos diagnósticos en candidemia: una revisión sistemática de la literatura con meta-análisis. *Rev. chil. infectol. revista en la Internet*. 2011. Oct; 28(5): 423-428.
- COSTA SF; MARINHO I; ARAÚJO EA. et al. Nosocomial fungaemia: a 2-year prospective study. *J. Hosp. Infect.*, 45: 69-72, 2000.
- D'EÇA JÚNIOR A, et al. In vitro differential activity of phospholipases and acid proteinases of clinical isolates of *Candida*. *Rev Soc Bras Med Trop* 44: 334-338. 2011.
- DA MATTA, D A ; ALMEIDA, L. P. ; MACHADO, A. ; AZEVEDO, A. C. ; KUSANO, E. J. U. ; TRAVASSOS, N. F. ; SALOMAO, R. ; COLOMBO, A. L. . Antifungal susceptibility of 1000 *Candida* bloodstream isolates to 5 antifungal drugs: results of a multicenter study conducted in Sao Paulo, Brazil, 1995-2003. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* , v. 57, p. 399-404, 2007.
- DAGDEVIREN M et al. Acid proteinase, phospholipase and adherence properties of *C. Parapsilosis* strains isolat from clinical specimes of hospitalized patientes. *Mycoses* 48. 321-326. 2005.
- DAMBROSO, D. et al. Radiotherapy effect on frequency of *Candida* spp. and on virulence of *C. albicans* isolated from the oral cavity of head and neck cancer patients. *Rev Ciênc Farm Básica e Apl*. 2009. v. 30, p. 25-32.
- DEL NEGRO, BARBARO GM. Identificação de cinco espécies de *Candida* pela reação em cadeia da polimerase (PCR) e por hemoculturas em pacientes pediátricos com risco para candidemia / Identification of five *Candida* species by PCR and blood cultures pediatric patients at-risk of candidemia. São Paulo; s.n; 2008. [110].
- DIEKEMA DJ et al. *J. Clin. Microbiol.* Agosto de 2003. Vol,41 August 2003 vol. 41. Nº8; 3655-3660p

- DIGNANI MC et al. (Ed.). Med mycology. 1. ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2003. p. 195-239.
- DOYLE RJ, ROSENBERG M. Microbial cell surface hydrophobicity. American Society for Microbiology, Washington, 1990.
- EDMUND MB. et al. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis. Clin Infect Dis, v. 29, p. 239-44, 1999.
- FERNÁNDEZ-CRUZ A, MENÁRGUEZ MC, PEDROMINGO M et al. Candida endocarditis: yield of echocardiogram in patients with candidemia. 50th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Boston, MA, 2010; K-2172.
- FOTEDA R, AL-HEDAITHY SSA. Comparison of phospholipase and proteinase activity in *C. albicans* and *C. dubliniensis*. Mycoses. 48, 62-67. 2005.
- FRANÇA EJM, et al. Hemólise produzida por *Candida tropicalis* isoladas de amostras clínicas. Rev Soc Bras Med Trop 43: 318-321, 2010.
- FRANCA, J. C.; RIBEIRO, C. E.; QUEIROZ-TELLES, F. Candidemia in a Brazilian tertiary care hospital: incidence, frequency of different species, risk factors and antifungal susceptibility. Rev Soc Bras Med Trop, v.41, n.1, p.23-8, Jan-Feb, 2008.
- FRICKER-HIDALGO H, et al. Use of simulated blood cultures to compare a specific fungal medium with a standard microorganism medium for yeast detection. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 17:113-6, 1998.
- FUJITA SI, et al. Microtitration plate enzyme immunoassay to detect PCR-amplified DNA from *Candida* species in blood. J. Clin. Microbiol. 33 :962-967, 1995.
- FURLANETO MC. Species distribution and in vitro fluconazole susceptibility of clinical *Candida* isolates in a Brazilian tertiary-care hospital over a 3-year period. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 44(5):595-599, set-out, 2011.
- GEHA DJ; ROBERTS GD. Laboratory detection of fungemia. Clin Lab. Med. 14: 83-97, 1994.
- GIOLO MP; SVIDZINSKI TIE. Fisopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia. J Bras Patol Med Lab, 2010. v.46 (3): 225-234.
- GONCALVES, Jéssica et al . Perfil hematológico dos neonatos atendidos no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina. Rev. Bras. Hematol. Hemoterapia. São Paulo , v. 32, n. 3, p. 219-224, 2010.
- HASSAN I, et al. Excess mortality, length of stay and cost attributable to candidemia. J Infect 2009; 59: 360-5.
- HELLINGER WC, et al. Clinical comparison of the isolator and BacT/Alert aerobic blood systems. J. Clin. Microbiol. 33: 1787-1790, 1995.
- HENRIQUEZ MCA, et al. Perfil epidemiológico de la candidíases invasora em unidades de pacientes críticos em um hospital universitário. Rev Chil Infect 2011; 28 (2): 118-122.

- HINRICHSEN SL, et al. *Candida* isolates in tertiary hospitals in northeastern Brazil. *Bras J of Microbiology*.2009; 40: 325-328.
- HOOG G S, GUARRO J, GENÉ J, FIGUERAS MJ. *Atlas of Clinical Fungi*. 4 edição – Versão USB.Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2014.
- HOPE WW, CASTAGNOLA E, GROLL AH *et al.*; ESCMID Fungal Infection Study Group. ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: prevention and management of invasive infections in neonates and children caused by *Candida* spp. *Clin Microbiol Infect* 2012; **18**(Suppl. 7): 38–52.
- HOTA AB. Contamination, disinfection, and cross-colonization: are the hospital surface reservoirs for nosocomial infection? *Clinical Infectious Diseases* 39: 1182-1189, 2004.
- HUBE B, et al. Expression of seven members of the gene family encoding secretory aspartyl proteinases in *Candida albicans*. *Molecular Microbiology*, 14: 87–99. 1994
- KANBE T. et al. PCR-based identification of pathogenic *Candida* species using primer mixes specific to *Candida* DNA topoisomerase II genes. *Yeast*, v. 19, p. 973-89, 2002.
- KANTARCIOGLU AS, YUCEL A. Phospholipase and protease activity in clinical *Candida* isolates with reference to the sources of strains. *Mycoses* 5: 160-165, 2002.
- KLAN ZU, MUSTAFA AS – Detection of *Candida* species by polymerase chain reaction (PCR) in blood culture samples of experimentally infected mice and patients with suspected candidemia. *Microbiol. Res.*156: 95-102, 2001.
- KUMAR, CP Girish; KUMAR, S. Suresh Jothi; MENON, Thangam. Phospholipase and proteinase activities of clinical isolates of *Candida* from immunocompromised patients. *Mycopathologia*, v. 161, n. 4, p. 213-218, 2006.
- LACAZ CS, et al. *Tratado de Micologia Médica*. 9a. ed. São Paulo: Sarvier, 2002.
- LEDESMA DT. *Atividade enzimática e susceptibilidade antifúngica de Candida spp. Isoladas de pacientes com Candidemia em Hospital Universitário de Campo Grande-MS,1998-2010* PhD Dissertação, Faculdade de Medicina Doutor Hélio Mandetta, Universidade Federal do Mato Grosso do sul, 2011.
- LEIDICH SD. Et al. Cloning and disruption of caPLB1, a phospholipase B gene involved in the pathogenicity of *Candida albicans*. *The Journal Of Biological Chemistry*, 273(40): 26078-26086.1998.
- LIN SY, et al. TSARY Hospitals. Two closely related Fluconazole resistant *C. tropicalis* clones circulating in Taiwan from 199 to 2006. *Microbiol Drug Resist*. 2009; 15(3): 205-10.
- LLANOS R, et al. A comparison of clinical and food *Saccharomyces cerevisiae* isolates on the basis of potential virulence factors. *Antoine Van Leuwenhoek* 90: 221-231, 2006.
- LUO G, SAMARANAYAKE LP. *Candida glabrata*, an emerging fungal pathogen, exhibits superior relative cell surface hydrophobicity and adhesion to denture acrylic surfaces compared

with *Candida albicans*. Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica 110: 601-610, 2002.

LUO G. et al. *Candida* species exhibit differential *in vitro* hemolytic activities. Journal of Clinical Microbiology 39: 2971-2974, 2001.

LYON JP, et al. *Candida albicans*: genotyping methods and clade related phenotypic characteristics. Braz J Microbiol, 2010. v. 41: 841-849.

MANNS JM, MOSSER DM, BURCLEY HR. Production of a hemolytic factor by *Candida albicans*. Infection and Immunity 62: 5154-5156, 1994.

MARTIN GS. et al. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. The New Eng J Med, v. 348, p. 1546-54, 2003.

MERKEROVA M, et al. Cloning and characterization of Sapp2p, the second aspartic proteinase isoenzyme from *Candida parapsilosis*. FEMS Yeast Res 6: 1018-1026. 2006.

MERZ WG. *Candida albicans* strain delineation. Clinical Microbiology Reviews 3:321-334, 1990.

MIRANDA LN. Colonização por *Candida* em indivíduos com candidemia. 2008. Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas e Parasitárias) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

MOHAN V, BALLAL M. Proteinase and phospholipase activity as virulence factors in *Candida* species isolated from blood. Rev Iberoam Micol 25: 208-210, 2008.

MONDELLI AL, et al. Candidemia in a Brazilian tertiary hospital: microbiological and clinical features over a six year period. The J of Venomous animals and Toxins Includin Trop diseases, 2012. 18: 244-252.

MORACE G, et al. Strain differentiation of pathogenic yeast by the killer system. Mycopathologia 84:81-85, 1984.

MORGAN J, et al. Excess mortality, hospital stay, and cost due to candidemia: a case-control study using data from population- based candidemia surveillances. Infect Control Epidemiol.2005; 26(8):675.

MORRELL, M, RASER VJ, KOLLEF MH. Delaying the empiric treatment of *Candida* bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: a potential risk factor for hospital mortality. Antimicrob Agents Chemother , v.49, n.9, p.3640-5, Sep, 2005.

NAGLIK JR, CHALLACONBE ST, HUBE B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. Microbiol Mol Biol Rev 67: 400-428, 2003.

NATIONAL COMMITTEE CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved Standard. NCCLS document M27-A2, Wayne, PA, 2002.

NOBILE, J. C. et al. Complementary adhesin function in *C. albicans* biofilm formation. Curr Biol, v. 18, p. 1017-24, 2008.

NUCCI M, ANAISSIE E. Revisiting the source of candidemia: skin or gut? *Clin Infect Dis*, v.33, n.12, p.1959-67, Dec 15, 2001.

NUNES MO. Epidemiologia de Candidemias e perfil de susceptibilidade das Leveduras do genero *Candida* em Hospital Universitário de Mato grosso do Sul. Dissertação. (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste). Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Campo Grande 2009.

OLIVEIRA MT. Candidas não albicans: avaliação de fatores de virulência e perfil no estudo epidemiológico de candiúria/ Marcelo Tempesta Oliveira. –Londrina. 2011. 91f:il.

OSTROSKY-ZEICHNER L. New approaches to the risk of *Candida* in the intensive care unit. *Curr Open Infect Dis* 2003; 16:533-7

OUDE LASHOF AM, ROTHOVA A, SOBEL JD et al. Ocular manifestations of candidemia. *Clin Infect Dis* 2011; 53: 262–268.

OZKAN S et al. Slime production and proteinase activith of *Candida* species isolated from blood samples and the comparison of these activities with minimun inhibitory concentration values of antifungal agents. 2008.

PAPPAS PG et al. The NIAID Mycoses Study Group: a prospective observatinal study of candidemia, epidemiology, therapy, and influences on mortality in hospitalized adult and pediatric patients. *Clin Infect Dis*, v. 37, p. 634-43. 2003.

PAPPAS PG et al. Clinical Practice Guidelines for Management of Candidiasis: 2009 Updatete by the Infections Diseases Society of America. *Treatment Guidelines for Candidiasis CID* 2009:40 (1 march) p. 503-535

PARRA – ORTEGA B, Et al. Phylogeny and evolution of the aspartyl protease family from clinically relevant *Candida* species. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104: 505-512, 2009.

PASSOS, X. S.; COSTA, C. R.; ARAUJO, C. R.; NASCIMENTO, E. S.; E SOUZA, L. K.; FERNANDES ODE, F.; SALES, W. S.; SILVA MDO, R. Species distribution and antifungal susceptibility patterns of *Candida* spp. bloodstream isolates from a Brazilian tertiary care hospital. *Mycopathologia*, v.163, n.3, p.145-51, Mar, 2007.

PATEL GP et al. The effect of time to antifungal therapy on mortality in candidemia associated septic shock. *Am J Ther* 2009; 16: 508-11.

PEMÁN J, et al. Epidemiology, species distribution and in vitro antifungal susceptibility of fungemia in a Spanish multicentre prospective survey. *J Antimicrob Chemother*, 2012. 67: 1181-1187.

PEREIRA CAP. Impacto da implementação de métodos automatizados em hemoculturas na evolução clínica de pacientes com infecções da corrente sanguínea. São Paulo, 1997. Tese-Doutorado. Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina.

PFALLER MA, DIEKEMA DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev* , v.20, n.1, p.133-63, Jan, 2007.

- PFALLER MA. Antifungal drug resistance: mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. *Am J Med* 125, S3– S13. 2012
- PINHAT EC. et al . Colonização fúngica em recém-natos de muito baixo peso: um estudo de coorte. *J. Pediatr. (Rio J.)*. Porto Alegre. v. 88, n. 3, June 2012.
- PRINCE MF, WILKINSON ID, GENTRY LO. Plate methods for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia* 20:7-14, 1982.
- REISS, E., MORRISON, C. J. – Nonculture methods for diagnosis of disseminated candidiasis. *Clin Microbiol. Rev.* 3: 311-325, 1993.
- REX, J. H.; WALSH, T. J.; SOBEL, J. D.; FILLER, S. G.; PAPPAS, P. G.; DISMUKES, W. E.; EDWARDS, J. E. Practice guidelines for the treatment of candidiasis. *Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis*, v.30, n.4, p.662- 78, Apr, 2000.
- RODRIGUES C. C. 2009. *Fatores de virulência de isolado de Candida de pacientes imunocomprometidos. Caracterização molecular de Candida albicans suscetíveis e resistentes ao Fluconazol*. PhD Tese, Universidade Federal de Goiás.
- ROILIDES E, et al. *Candida tropicalis* in a neonatal intensive care unit: epidemiologic and molecular analysis of an outbreak of infection with an uncommon neonatal pathogen. *J. Clin. Microbiol.*41:735–741.389.2003.
- RORIG KCO, CALACETE J, ABEGG MA. Produção de fatores de virulência *in vitro* por espécies patogênicas do gênero *Candida*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 42(2):225-227, mar-abr, 2009.
- ROSSONI DR, et al. Comparison of the hemolytic activity between *C. albicans* and non-albicans *Candida* species *Braz Oral Res.* (São Paulo) Nov-Dec;27(6):484-9, 2013.
- RUCHEL R, TEGELER R, TROST MA. A comparison of secretory proteinase from different strais of *Candida albicans*. *Sabouraudia* 20: 233-244, 1982.
- SAITO T et al. Detection of bacteria and fungi in BacT/Alert Standard blood-culture bottles. *J. Infect Chem.* 9: 227-232, 2003.
- SAMARANAYAKE YH; et al. Phospholipase B enzyme expression is not associated with other virulence attributes in *Candida albicans* isolates from patients with human immunodeficiency virus infection. *Journal of Medical Microbiology* 54: 583-593, 2005.
- SANCHEZ V. et al. Nosocomial acquisition of *Candida parapsilosis*: an epidemiologic study. *Am J Med* , v.94, n.6, p.577-82, Jun, 1993.
- SANDOVSKY-LOSICA H, SEGAL E. Infection of HEp-2 epithelial cells with *Candida albicans*: adherence and post adherence events. *FEMS Immunol Med Microbiol* 46: 470-475, 2006.
- SANDVEN P. Epidemiology of candidemia. *Rev Iberoam Micol* , v.17, n.3, p.73-81, Sep, 2000.
- SARDI JCO, et al. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *Journal of Medical Microbiology* 62, 10–24, 2013.

- SHIGEMURA K, et al. Comparison of the clinical risk factors between *Candida albicans* and *Candida non-albicans* species for bloodstream infection. *Journal Antibiot (Tokyo)* 10.1038/ja.2013.141, 2014.
- SHIMIZU MT. Fosfolipase em espécies de *Candida*. *Revista de Microbiologia* 20: 338, 1989.
- SHULTZ V, COLOMBO AL, PASQUALOTO AC. Invasive candidosis: contrasting the perceptions of infectious disease physicians and intensive care physicians. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* [online]. 2013, vol.46, n.4 [cited 2014-01-21], pp. 466-471 .
- SIDRIM JJC, Moreira JLBM. Micoses oportunistas. *Fundamentos Clínicos e Laboratoriais da Micologia Médica* . 1 a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999, cap.15, p.171-190.
- SIDRIM JJC, ROCHA MFG. *Micologia médica à luz de autores contemporâneos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 21, 266
- SILVA JO, FERREIRA JC, CANDIDO RC. Atividade enzimática, produção de slime e sensibilidade a antifúngicos de *Candida* sp. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, Uberaba , v. 40, n. 3, June 2007
- SILVA SCM. Virulence factors of non-*Candida albicans* *Candida* species. [dissertation for Phd degree in Biomedical Engineering. Universidade do Minho. Escola de Engenharia, 2010.
- SOLL, D. R. *Candida* biofilms: is adhesion sexy?. *Curr Biol* 18, R717–R720, 2008.
- ST-GERMAIN G, et al. Prevalence and antifungal susceptibility of 442 *Candida* isolates from blood and other normally sterile sites: results of a 2-year (1996 to 1998) Multicenter Surveillance Study in Quebec, Canada. *Journal of Clinical Microbiology* 39: 949-953, 2001.
- SWOBODA SM, MERZ WG, LIPSETTA PA. Candidemia: the impact of antifungal prophylaxis in a surgical intensive care unit. *Surg. Infect* 4: 345-354, 2003.
- TALARMIN, JP et al. Epidemiology of candidemia: a one-year prospective observational study in the west of France. *Med Mal Infect*, v. 39, p. 877-85, 2009.
- TARRAND JJ, et al. Clinical comparison of the resin-containing BACTEC 26 Plus and the Isolator 10 blood culture system. *J. Clin. Microbiol.* 29: 2245-2249, 1991.
- TELENTI A. et al. Quantitative blood cultures in candidemia. *Mayo Clin. Proc.* 60: 1120-1123, 1991.
- THEOKLIS E, et al. Risk Factors and Predictors for Candidemia in Pediatric Intensive Care Unit Patients: Implications for Prevention. *Clinical Infectious Diseases* 51: e38-e45. 2010.
- TOUFEN JR C, et al. Infection as an independent risk factor for mortality in the surgical intensive care unit. *Clinics*. 2013; 68(8):1103-1108.
- TRICK WE, et al. Secular trend of hospital-acquired candidemia among intensive care unit patients in the United States during 1989-1999. *Clin Infect Dis* , v.35, n.5, p.627-30, Sep 1, 2002.

WON EJ et al. Antifungal Susceptibilities of Blood stream Isolates of *Candida* Species from Nine Hospitals in Korea: Application of New Antifungal Breakpoints and Relation ship to Antifungal Usage. PLOS ONE DOI:10.1371/ journal.pone.0118770. February, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Practical Guidelines for Infection Control in Healthcare Facilities. WHO, 2004.

YANG YL. Virulence factors of *Candida* species. Journal of Microbiology Immunology and Infection 36: 223-228, 2003.

ZÖLLER L, et al. Enzyme immunoassays for invasive *Candida* infections: reactivity of somatic antigens of *Candida albicans*. J. Clin. Microbiol. 29: 1860-1867, 1991.

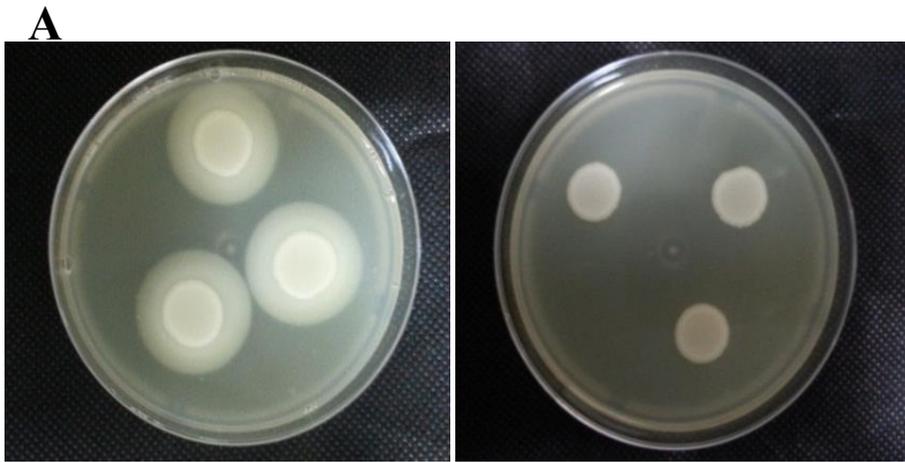
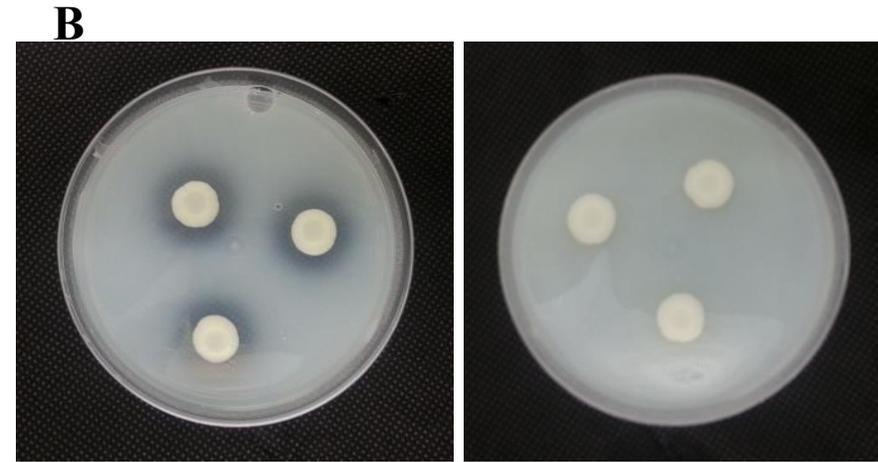
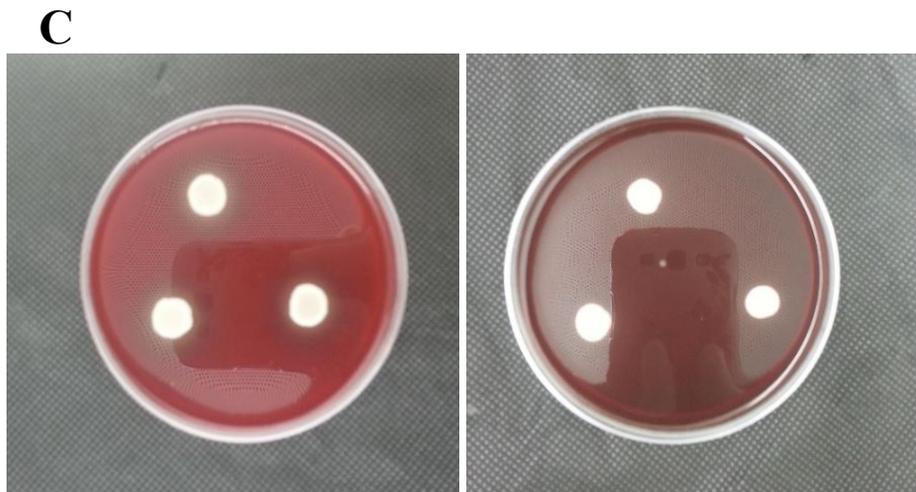
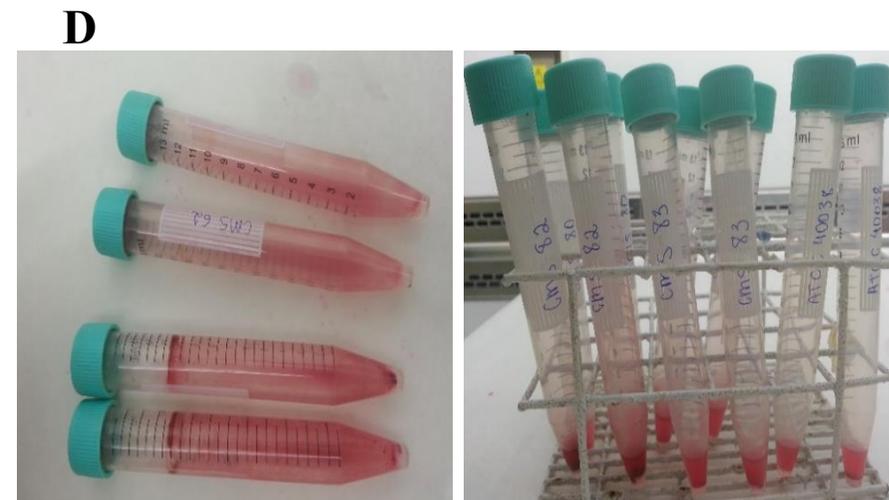
8. ANEXOS

Amostra	Espécie	Caspofungina	Micafungina	Voriconazol
CMS01	<i>C. albicans</i>	0.38	0.032	0.25
CMS02	<i>C. albicans</i>	0.38	0.023	0.002
CMS03	<i>C. albicans</i>	0.064	0.023	0.023
CMS04	<i>C. tropicalis</i>	0.38	0.023	0.047
CMS05	<i>C. tropicalis</i>	0.50	0.047	0.064
CMS09	<i>C. tropicalis</i>	0.38	0.064	0.047
CMS10	<i>C. albicans</i>	0.19	0.023	0.032
CMS11	<i>C. parapsilosis</i>	3.0	1.0	0.125
CMS12	<i>C. tropicalis</i>	0.125	0.064	0.032
CMS13	<i>C. parapsilosis</i>	2.0	1.5	0.023
CMS14	<i>C. parapsilosis</i>	4.0	0.75	0.023
CMS15	<i>C. albicans</i>	0.19	0.032	0.064
CMS17	<i>C. guillermondii</i>	3.0	0.50	0.125
CMS18	<i>C. tropicalis</i>	0.125	0.032	0.064
CMS19	<i>C. parapsilosis</i>	4.0	6.0	0.016
CMS20	<i>C. parapsilosis</i>	2.0	1.5	0.016
CMS21	<i>C. tropicalis</i>	0.125	0.047	0.125
CMS22	<i>C. haemulonii</i>	0.38	0.38	0.50
CMS23	<i>C. albicans</i>	0.25	0.032	0.012
CMS24	<i>C. albicans</i>	0.094	0.032	0.094
CMS25	<i>C. albicans</i>	0.38	0.032	0.094
CMS26	<i>C. tropicalis</i>	0.38	0.032	0.094
CMS27	<i>C. albicans</i>	0.38	0.023	0.012
CMS28	<i>C. albicans</i>	0.38	0.032	0.008
CMS29	<i>C. albicans</i>	0.50	0.032	0.032
CMS30	<i>C. tropicalis</i>	0.50	0.047	0.047
CMS31	<i>C. albicans</i>	32	0.38	2
CMS32	<i>C. parapsilosis</i>	3.0	1.0	0.125
CMS33	<i>C. albicans</i>	0.012	0.032	0.064
CMS34	<i>C. glabrata</i>	1.5	0.75	0.75
CMS35	<i>C. albicans</i>	0.50	0.032	0.19

CMS36	<i>C. tropicalis</i>	0.50	0.032	0.012
CMS37	<i>C. tropicalis</i>	0.50	0.023	0.047
CMS38	<i>C. tropicalis</i>	0.50	0.047	0.023
CMS39	<i>C. orthopsilosis</i>	1.0	0.50	0.047
CMS40	<i>C. albicans</i>	0.50	0.064	0.25
CMS41	<i>C. haemulonii</i>	0.38	0.19	0.125
CMS42	<i>C. tropicalis</i>	0.064	0.047	0.094
CMS43	<i>C. parapsilosis</i>	12.0	4.0	0.50
CMS45	<i>Candida</i>	1.0	0.032	1.5
CMS46	<i>C. tropicalis</i>	0.38	0.047	0.032
CMS47	<i>Candida</i>	3.0	0.38	0.50
CMS48	<i>C. parapsilosis</i>	3.0	2.0	1.0
CMS49	<i>C. albicans</i>	0.38	0.032	0.023
CMS50	<i>C. glabrata</i>	0.012	0.023	1.0
CMS51	<i>C. albicans</i>	0.038	0.047	0.094
CMS52	<i>C. haemulonii</i>	1.5	0.75	0.38
CMS53	<i>C. tropicalis</i>	0.38	0.032	0.032
CMS54	<i>C. tropicalis</i>	0.38	0.064	0.064
CMS55	<i>C. tropicalis</i>	0.38	0.032	0.032
CMS56	<i>C. parapsilosis</i>	3.0	1.0	0.38
CMS57	<i>C. parapsilosis</i>	4.0	1.5	0.125
CMS58	<i>C. parapsilosis</i>	4.0	2.0	0.38
CMS59	<i>C. parapsilosis</i>	3.0	1.5	0.047
CMS60	<i>C. tropicalis</i>	6.0	0.38	0.75
CMS61	<i>C. parapsilosis</i>	4.0	1.5	0.008
CMS62	<i>C. tropicalis</i>	0.50	0.047	0.38
CMS63	<i>C. albicans</i>	0.38	0.023	0.006
CMS64	<i>C. albicans</i>	0.38	0.064	0.006
CMS66	<i>C. albicans</i>	0.38	0.032	0.008
CMS67	<i>C. orthopsilosis</i>	2.0	0.38	0.032
CMS68	<i>C. tropicalis</i>	0.50	0.032	0.032
CMS69	<i>C. albicans</i>	0.38	0.032	0.004
CMS70	<i>C. tropicalis</i>	0.38	0.064	0.032
CMS71	<i>C. tropicalis</i>	0.75	0.064	0.047

CMS72	<i>C. parapsilosis</i>	2.0	0.012	1.5
CMS73	<i>C. albicans</i>	0.047	0.016	0.012
CMS74	<i>C. tropicalis</i>	0.38	0.047	0.094
CMS75	<i>C. albicans</i>	0.50	0.064	0.094
CMS76	<i>C. albicans</i>	0.047	0.016	0.006
CMS77	<i>C. metapsilosis</i>	0.38	0.38	0.047
CMS78	<i>C. famata</i>	1.0	0.38	0.25
CMS79	<i>C. parapsilosis</i>	3.0	3.0	0.25
CMS80	<i>C. albicans</i>	0.50	0.064	0.008
CMS82	<i>C. tropicalis</i>	0.25	0.047	0.094
CMS83	<i>C. tropicalis</i>	0.032	0.032	0.064
CMS84	<i>C. glabrata</i>	0.19	0.012	2.0
CMS85	<i>C. albicans</i>	3.0	1.5	0.19
CMS86	<i>C. tropicalis</i>	0.50	0.047	0.023
CMS87	<i>C. albicans</i>	0.19	0.023	0.047
CMS88	<i>C. albicans</i>	0.125	0.032	0.012
CMS89	<i>C. albicans</i>	0.38	0.032	0.008
CMS90	<i>C. albicans</i>	0.004	0.012	0.006
CMS91	<i>C. orthopsilosis</i>	3.0	0.50	0.064
CMS92	<i>C. tropicalis</i>	0.25	0.047	0.047
CMS93	<i>C. tropicalis</i>	0.25	0.032	0.125
CMS94	<i>C. parapsilosis</i>	2.0	0.75	0.094
CMS95	<i>C. albicans</i>	8.0	0.38	0.094
CMS96	<i>C. albicans</i>	0.094	0.032	0.016
CMS97	<i>C. albicans</i>	0.25	0.032	0.006
CMS98	<i>C. tropicalis</i>	0.25	0.047	0.016
CMS99	<i>C. tropicalis</i>	0.50	0.047	0.125
CMS101	<i>C. guillermondii</i>	1.5	1.0	0.094
CMS102	<i>C. albicans</i>	1.5	0.75	0.064

Anexo 01 - Resultados dos testes de Sensibilidade aos Antifúngicos de Isolados de hemoculturas dos pacientes internados em 11 unidades hospitalares do município de Manaus-AM no ano de 2013. Os valores compreendem a leitura do CIM.

**Controle-positivo****Controle-negativo****Controle-positivo****Controle-negativo****Controle-positivo****Controle-negativo****Controle-positivo****Controle-negativo**

Anexo 02 - Fotos dos fatores de Virulência. A - Produção de fosfolipase - Fosfolipase positiva com formação do halo opaco ao redor da colônia à esquerda e negativo à direita; B - Produção de proteinase - Proteinase positiva com formação do halo transparente ao redor da colônia à esquerda e negativa à direita; C - Produção de hemolisinas. Expressão positiva com formação do halo escuro ao redor da colônia à esquerda e negativa à direita; D - Produção de biofilme - Formação de Biofilme positiva com formação de aderência ao tubo à esquerda e negativa à direita.

N	Espécie	DC 1	DC 2	DC 3	DC+H1	DC+H2	DC+H3	PZ 1	PZ 2	PZ 3	Média	Classificação
CMS01	<i>C. albicans</i>	1	1	1	2	2	2	0,5	0,5	0,5	0,5	alta
CMS02	<i>C. albicans</i>	0,9	0,9	0,9	1,8	2	2	0,5	0,45	0,45	0,46	alta
CMS03	<i>C. albicans</i>	1	1	1	2	1,9	1,9	0,5	0,52	0,52	0,51	alta
CMS04	<i>C. tropicalis</i>	1,8	1,8	1,8	2,3	2,2	2,2	0,78	0,81	0,81	0,8	pouca
CMS05	<i>C. tropicalis</i>	1,3	1,3	1,4	1,8	1,8	1,8	0,72	0,72	0,77	0,73	pouca
CMS09	<i>C. tropicalis</i>	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1	1	1	1	SA
CMS10	<i>C. albicans</i>	1,1	1	1,1	1,1	1	1,1	1	1	1	1	SA
CMS11	<i>C. parapsilosis</i>	0,7	0,7	0,8	0,7	0,7	0,8	1	1	1	1	SA
CMS12	<i>C. tropicalis</i>	1,5	1,4	1,4	1,5	1,4	1,4	1	1	1	1	SA
CMS13	<i>C. parapsilosis</i>	1,3	1,2	1	1,5	1,5	1,5	0,86	0,8	0,66	0,77	pouca
CMS14	<i>C. parapsilosis</i>	1	1	1	1,2	1,2	1,2	0,83	0,83	0,83	0,83	pouca
CMS15	<i>C. albicans</i>	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	1	1	1	1	SA
CMS17	<i>C. guilliermondii</i>	1,4	1,5	1,5	2	2	1,8	0,7	0,75	0,75	0,73	pouca
CMS18	<i>C. tropicalis</i>	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1	1	1	1	SA
CMS19	<i>C. parapsilosis</i>	1,1	1,2	1,1	1,4	1,4	1,4	0,78	0,85	0,78	0,8	pouca
CMS20	<i>C. parapsilosis</i>	1	1	1	1,6	1,5	1,5	0,62	0,66	0,66	0,64	pouca
CMS21	<i>C. tropicalis</i>	1,6	1,5	1,5	1,9	1,9	1,9	0,84	0,78	0,78	0,8	pouca
CMS22	<i>C. haemulonii</i>	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1	1	1	1	SA
CMS23	<i>C. albicans</i>	0,9	1	1	0,9	1	1	1	1	1	1	SA
CMS24	<i>C. albicans</i>	1,2	1,2	1,2	1,7	1,6	1,6	0,7	0,75	0,75	0,73	pouca
CMS25	<i>C. albicans</i>	1	1,2	1,2	2,1	2,1	2,1	0,47	0,57	0,57	0,53	alta
CMS26	<i>C. tropicalis</i>	1,7	1,8	1,5	1,7	1,8	1,1	1	1	1	1	SA
CMS27	<i>C. albicans</i>	1	1,1	1,1	1,7	1,8	1,7	0,58	0,61	0,64	0,61	alta
CMS28	<i>C. albicans</i>	1	1,2	1,2	1,8	1,8	1,9	0,55	0,66	0,63	0,61	alta
CMS29	<i>C. albicans</i>	1,2	1,2	1,2	1,8	2	2	0,66	0,66	0,6	0,62	alta
CMS30	<i>C. tropicalis</i>	1,6	1,6	1,7	1,7	1,8	1,8	0,94	0,88	0,94	0,92	pouca
CMS31	<i>C. albicans</i>	1	1	1	1,9	2	1,9	0,52	0,5	0,52	0,51	alta

CMS32	<i>C. parapsilosis</i>	0,7	0,7	0,8	0,7	0,8	0,8	1	1	1	1	SA
CMS33	<i>C. albicans</i>	1	1,2	1,1	1,7	1,7	1,7	0,58	0,7	0,64	0,64	pouca
CMS34	<i>C. glabrata</i>	1,2	1,2	1,1	1,2	1,2	1,1	1	1	1	1	SA
CMS35	<i>C. albicans</i>	1	1,1	1,1	1	1,1	1,1	1	1	1	1	SA
CMS36	<i>C. tropicalis</i>	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1	1	1	1	SA
CMS37	<i>C. tropicalis</i>	1,5	1,5	1,8	1,7	1,7	2	0,88	0,88	0,9	0,88	pouca
CMS38	<i>C. tropicalis</i>	1,3	1,4	1,4	1,3	1,4	1,4	1	1	1	1	SA
CMS39	<i>C. orthopsilosis</i>	1,1	1	1	1,1	1	1	1	1	1	1	SA
CMS40	<i>C. albicans</i>	1,3	1,2	1,3	2	2	2	0,65	0,6	0,65	0,63	alta
CMS41	<i>C. haemulonii</i>	1,1	1	1	1,1	1	1	1	1	1	1	SA
CMS42	<i>C. tropicalis</i>	1,8	1,7	1,7	1,8	1,7	1,7	1	1	1	1	SA
CMS43	<i>C. parapsilosis</i>	1	1	1	1,2	1,2	1,2	0,83	0,83	0,83	0,83	pouca
CMS45	<i>Candida sp</i>	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2	1	1	1	1	SA
CMS46	<i>C. tropicalis</i>	2,3	2,2	2,2	2,3	2,2	2,2	1	1	1	1	SA
CMS47	<i>Candida sp</i>	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1	1	1	1	SA
CMS48	<i>C. parapsilosis</i>	1,2	1,1	1,1	2,1	2,1	2,1	0,57	0,52	0,52	0,53	alta
CMS49	<i>C. albicans</i>	0,6	0,6	0,6	1	1	1	0,6	0,6	0,6	0,6	alta
CMS50	<i>C. glabrata</i>	0,6	0,5	0,7	0,6	0,5	0,7	1	1	1	1	SA
CMS51	<i>C. albicans</i>	2	2	2	2,5	2,5	2,5	0,8	0,8	0,8	0,8	pouca
CMS52	<i>C. haemulonii</i>	0,8	0,8	0,8	1,2	1,2	1,2	0,66	0,66	0,66	0,66	pouca
CMS53	<i>C. tropicalis</i>	2,4	2,4	2,5	3	2,9	3	0,8	0,82	0,83	0,81	pouca
CMS54	<i>C. tropicalis</i>	2,7	2,6	2,6	2,9	2,9	2,9	0,9	0,89	0,89	0,89	pouca
CMS55	<i>C. tropicalis</i>	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1	1	1	1	SA
CMS56	<i>C. parapsilosis</i>	1	1	1	1,2	1,2	1,2	0,83	0,83	0,83	0,83	pouca
CMS57	<i>C. parapsilosis</i>	1,1	1,2	1,1	1,4	1,4	1,4	0,78	0,85	0,78	0,8	pouca
CMS58	<i>C. parapsilosis</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	SA
CMS59	<i>C. parapsilosis</i>	1	1	1	1,3	1,3	1,3	0,76	0,76	0,76	0,76	pouca
CMS60	<i>C. tropicalis</i>	1,3	1,3	1,3	1,7	1,7	1,7	0,76	0,76	0,76	0,76	pouca

CMS61	<i>C. parapsilosis</i>	1,1	1,1	1,1	1,3	1,3	1,3	0,84	0,84	0,84	0,84	pouca
CMS62	<i>C. tropicalis</i>	1,5	1,4	1,3	1,5	1,4	1,3	1	1	1	1	SA
CMS63	<i>C. albicans</i>	0,7	0,8	0,8	0,7	0,8	0,8	1	1	1	1	SA
CMS64	<i>C. albicans</i>	1,1	1,1	1,2	1,8	1,8	2	0,61	0,61	0,6	0,6	alta
CMS65	<i>C. tropicalis</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	pouca
CMS66	<i>C. albicans</i>	1,1	1,2	1,2	2,5	2,5	2,5	0,44	0,48	0,48	0,46	alta
CMS67	<i>C. orthopsilosis</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	SA
CMS68	<i>C. tropicalis</i>	1,8	1,9	1,8	1,8	1,9	1,8	1	1	1	1	SA
CMS69	<i>C. albicans</i>	0,9	0,8	0,8	0,9	0,8	0,8	1	1	1	1	SA
CMS70	<i>C. tropicalis</i>	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1	1	1	1	SA
CMS71	<i>C. tropicalis</i>	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1	1	1	1	SA
CMS72	<i>C. parapsilosis</i>	1	1	1	1,3	1,3	1,3	0,76	0,76	0,76	0,76	pouca
CMS73	<i>C. albicans</i>	1,1	1,1	1	1,6	1,5	1,4	0,68	0,73	0,71	0,7	pouca
CMS74	<i>C. tropicalis</i>	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1	1	1	1	SA
CMS75	<i>C. tropicalis</i>	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1	1	1	1	SA
CMS76	<i>C. albicans</i>	0,9	0,8	0,8	0,9	0,8	0,8	1	1	1	1	SA
CMS77	<i>C. metapsilosis</i>	1	1	1	1,5	1,4	1,4	0,66	0,71	0,71	0,69	pouca
CMS78	<i>C. famata</i>	1,7	1,8	1,8	2	2,2	2,2	0,85	0,81	0,81	0,82	pouca
CMS79	<i>C. parapsilosis</i>	1	1	1	1,3	1,3	1,3	0,76	0,76	0,76	0,76	pouca
CMS80	<i>C. albicans</i>	1,2	1,2	1,2	1,5	1,6	1,6	0,8	0,75	0,75	0,76	pouca
CMS82	<i>C. tropicalis</i>	1,6	1,6	1,6	1,9	1,8	1,8	0,84	0,88	0,88	0,86	pouca
CMS83	<i>C. tropicalis</i>	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1	1	1	1	SA
CMS84	<i>C. glabrata</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	SA
CMS85	<i>C. albicans</i>	1,2	1,2	1,2	1,7	1,8	1,7	0,7	0,66	0,7	0,68	pouca
CMS86	<i>C. tropicalis</i>	1,5	1,2	1,5	1,5	1,2	1,5	1	1	1	1	SA
CMS87	<i>C. albicans</i>	1,2	1,2	1,2	1,6	1,5	1,5	0,75	0,8	0,8	0,78	pouca
CMS88	<i>C. albicans</i>	1,1	1,1	1,1	1,6	1,6	1,5	0,68	0,68	0,73	0,69	pouca
CMS89	<i>C. albicans</i>	1,2	1,2	1,2	1,7	1,7	1,7	0,7	0,7	0,7	0,7	pouca

CMS90	<i>C. albicans</i>	1,1	1,1	1,1	1,6	1,6	1,6	0,68	0,68	0,68	0,68	pouca
CMS91	<i>C. orthopsilosis</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	SA
CMS92	<i>C. tropicalis</i>	1,8	1,7	1,8	2,2	2	2,1	0,81	0,85	0,85	0,83	pouca
CMS93	<i>C. tropicalis</i>	1,7	1,6	1,6	1,7	1,6	1,6	1	1	1	1	SA
CMS94	<i>C. parapsilosis</i>	1,2	1,1	1	1,4	1,4	1,3	0,85	0,78	0,76	0,79	pouca
CMS95	<i>C. albicans</i>	1	1	1	1,5	1,4	1,5	0,66	0,71	0,66	0,67	pouca
CMS96	<i>C. albicans</i>	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1	1	1	1	SA
CMS97	<i>C. albicans</i>	1,2	1,1	1,1	1,5	1,4	1,5	0,8	0,78	0,8	0,79	pouca
CMS98	<i>C. tropicalis</i>	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1	1	1	1	SA
CMS99	<i>C. tropicalis</i>	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1	1	1	1	SA
CMS101	<i>C. guilliermondii</i>	1,1	1,2	1,2	1,1	1,2	1,2	1	1	1	1	SA
CMS102	<i>C. albicans</i>	1,1	1,2	1,2	1,6	1,7	1,7	0,68	0,7	0,7	0,69	pouca

Anexo 03 - Resultados dos testes de Proteinases de Isolados de hemoculturas dos pacientes internados em 11 unidades hospitalares do município de Manaus-AM no ano de 2013. DC= diâmetro da colônia, DC+H= diâmetro da colônia + halo, Pz=atividade enzimática, SA= sem atividade.

N.	Espécie	DC 1	DC 2	DC 3	DC+H 1	DC+H 2	DC+H 3	PZ 1	PZ 2	PZ 3	Média	Classificação
CMS01	<i>C. albicans</i>	1,4	1,2	1,4	2,4	2,2	2,4	0,58	0,54	0,58	0,56	alta
CMS02	<i>C. albicans</i>	1	1,1	1,1	1,8	2,2	1,9	0,55	0,5	0,57	0,54	alta
CMS03	<i>C. albicans</i>	1,4	1,4	1,4	2,6	2,5	2,5	0,53	0,56	0,56	0,55	alta
CMS04	<i>C. tropicalis</i>	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1	1	1	1	SA
CMS05	<i>C. tropicalis</i>	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1	1	1	1	SA
CMS09	<i>C. tropicalis</i>	1,6	1,6	1,7	1,6	1,6	1,7	1	1	1	1	SA
CMS10	<i>C. albicans</i>	1,4	1,3	1,3	1,7	1,9	1,7	0,82	0,68	0,76	0,75	pouca
CMS11	<i>C. parapsilosis</i>	1,3	1,2	1,3	1,3	1,2	1,3	1	1	1	1	SA
CMS12	<i>C. tropicalis</i>	1,3	1,2	1,4	1,3	1,2	1,4	1	1	1	1	SA
CMS13	<i>C. parapsilosis</i>	1,4	1,2	1,2	1,4	1,2	1,2	1	1	1	1	SA
CMS14	<i>C. parapsilosis</i>	1	1	1,1	1	1	1,1	1	1	1	1	SA
CMS15	<i>C. albicans</i>	1,4	1,5	1,4	2,4	2,5	2,4	0,58	0,6	0,58	0,58	alta
CMS17	<i>C. guilliermondii</i>	1,5	1,4	1,5	1,5	1,4	1,5	1	1	1	1	SA
CMS18	<i>C. tropicalis</i>	1,5	1,6	1,6	1,5	1,6	1,6	1	1	1	1	SA
CMS19	<i>C. parapsilosis</i>	1,5	1,4	1,4	1,5	1,4	1,4	1	1	1	1	SA
CMS20	<i>C. parapsilosis</i>	1,3	1,2	1,3	1,3	1,2	1,3	1	1	1	1	SA
CMS21	<i>C. tropicalis</i>	1,5	1,4	1,5	1,5	1,4	1,5	1	1	1	1	SA
CMS22	<i>C. haemulonii</i>	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1	1	1	1	SA
CMS23	<i>C. albicans</i>	1,4	1,3	1,3	2,6	2,5	2,5	0,53	0,52	0,52	0,52	alta
CMS24	<i>C. albicans</i>	1,3	1,2	1,3	2,5	2,4	2,5	0,52	0,5	0,52	0,51	alta
CMS25	<i>C. albicans</i>	1,5	1,4	1,5	2,5	2,5	2,6	0,6	0,56	0,57	0,57	alta
CMS26	<i>C. tropicalis</i>	1,4	1,5	1,7	1,4	1,5	1,7	1	1	1	1	SA
CMS27	<i>C. albicans</i>	1,5	1,4	1,5	2,5	2,4	2,5	0,6	0,58	0,6	0,59	alta
CMS28	<i>C. albicans</i>	1,4	1,2	1,2	2,6	2,4	2,4	0,53	0,5	0,5	0,51	alta
CMS29	<i>C. albicans</i>	1,5	1,4	1,4	2,9	2,8	2,8	0,51	0,5	0,5	0,5	alta
CMS30	<i>C. tropicalis</i>	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1	1	1	1	SA
CMS31	<i>C. albicans</i>	1,3	0,9	1	2,3	2	2	0,56	0,45	0,5	0,5	alta
CMS32	<i>C. parapsilosis</i>	1,3	1,2	1,3	1,3	1,2	1,3	1	1	1	1	SA

CMS33	<i>C. albicans</i>	1,4	1,4	1,4	2,7	2,8	2,8	0,51	0,5	0,5	0,5	alta
CMS34	<i>C. glabrata</i>	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1	1	1	1	SA
CMS35	<i>C. albicans</i>	1,4	1,3	1,5	2,7	2,5	2,7	0,51	0,52	0,55	0,52	alta
CMS36	<i>C. tropicalis</i>	1,5	1,4	1,4	1,5	1,4	1,4	1	1	1	1	SA
CMS37	<i>C. tropicalis</i>	1,4	1,4	1,3	1,4	1,4	1,3	1	1	1	1	SA
CMS38	<i>C. tropicalis</i>	1,4	1,5	1,5	1,4	1,5	1,5	1	1	1	1	SA
CMS39	<i>C. orthopsilosis</i>	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1	1	1	1	SA
CMS40	<i>C. albicans</i>	1,5	1,5	1,5	2,9	2,9	2,9	0,51	0,51	0,51	0,51	alta
CMS41	<i>C. haemulonii</i>	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1	1	1	1	SA
CMS42	<i>C. tropicalis</i>	1,1	1,1	1,3	1,1	1,1	1,3	1	1	1	1	SA
CMS43	<i>C. parapsilosis</i>	1,3	1,3	1,4	1,3	1,3	1,4	1	1	1	1	SA
CMS45	<i>C. sp</i>	1,5	1,4	1,5	2,2	2,1	2,2	0,68	0,66	0,68	0,67	pouca
CMS46	<i>C. tropicalis</i>	1,6	1,3	1,5	1,6	1,3	1,5	1	1	1	1	SA
CMS47	<i>C. sp</i>	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1	1	1	1	SA
CMS48	<i>C. parapsilosis</i>	1,2	1,4	1,5	1,2	1,4	1,5	1	1	1	1	SA
CMS49	<i>C. albicans</i>	1,2	1,2	1,3	1,9	1,8	1,9	0,63	0,66	0,68	0,65	pouca
CMS50	<i>C. glabrata</i>	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1	1	1	1	SA
CMS51	<i>C. albicans</i>	1,5	1,4	1,2	1,5	1,4	1,2	1	1	1	1	SA
CMS52	<i>C. haemulonii</i>	1,4	1,5	1,4	1,4	1,5	1,4	1	1	1	1	SA
CMS53	<i>C. tropicalis</i>	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1	1	1	1	SA
CMS54	<i>C. tropicalis</i>	1,3	1,2	1,2	1,3	1,2	1,2	1	1	1	1	SA
CMS55	<i>C. tropicalis</i>	1,6	1,5	1,4	1,6	1,5	1,4	1	1	1	1	SA
CMS56	<i>C. parapsilosis</i>	1,4	1,4	1,5	1,4	1,4	1,5	1	1	1	1	SA
CMS57	<i>C. parapsilosis</i>	1,2	1,4	1,2	1,2	1,4	1,2	1	1	1	1	SA
CMS58	<i>C. parapsilosis</i>	1,4	1,4	1,3	1,4	1,4	1,3	1	1	1	1	SA
CMS59	<i>C. parapsilosis</i>	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1	1	1	1	SA
CMS60	<i>C. tropicalis</i>	1,3	1,5	1,2	1,3	1,5	1,2	1	1	1	1	SA
CMS61	<i>C. parapsilosis</i>	1,4	1,5	1,4	1,4	1,5	1,4	1	1	1	1	SA
CMS62	<i>C. tropicalis</i>	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1	1	1	1	SA

CMS63	<i>C. albicans</i>	1,3	1,4	1,4	2,9	2,9	2,9	0,44	0,48	0,48	0,46	alta
CMS64	<i>C. albicans</i>	1,4	1,3	1,5	2,6	2,6	2,8	0,53	0,5	0,53	0,52	alta
CMS66	<i>C. albicans</i>	1,3	1	1,3	2,2	2,1	2,2	0,59	0,47	0,59	0,55	alta
CMS67	<i>C. orthopsilosis</i>	1,2	1,2	1,1	1,2	1,2	1,1	1	1	1	1	SA
CMS68	<i>C. tropicalis</i>	1	1	1	1,4	1,4	1,4	0,71	0,71	0,71	0,71	pouca
CMS69	<i>C. albicans</i>	1,4	1,4	1,5	2,6	2,6	2,7	0,53	0,53	0,55	0,53	alta
CMS70	<i>C. tropicalis</i>	1,3	1,4	1,4	1,3	1,4	1,4	1	1	1	1	SA
CMS71	<i>C. tropicalis</i>	1,7	1,5	1,6	1,7	1,5	1,6	1	1	1	1	SA
CMS72	<i>C. parapsilosis</i>	1,3	1,2	1,4	1,3	1,2	1,4	1	1	1	1	SA
CMS73	<i>C. albicans</i>	1,2	1,3	1,3	2,4	2,5	2,5	0,5	0,52	0,52	0,51	alta
CMS74	<i>C. tropicalis</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	SA
CMS75	<i>C. tropicalis</i>	1,7	1,5	1,5	1,7	1,5	1,5	1	1	1	1	SA
CMS76	<i>C. albicans</i>	1,2	1,3	1,2	2	2,3	2	0,6	0,56	0,6	0,58	alta
CMS77	<i>C. metapsilosis</i>	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1	1	1	1	SA
CMS78	<i>C. famata</i>	1,6	1,6	1,5	1,6	1,6	1,5	1	1	1	1	SA
CMS79	<i>C. parapsilosis</i>	1,4	1,4	1,3	1,4	1,4	1,3	1	1	1	1	SA
CMS80	<i>C. albicans</i>	1,4	1,4	1,4	2,8	2,8	2,8	0,5	0,5	0,5	0,5	alta
CMS82	<i>C. tropicalis</i>	1,4	1,4	1,3	1,4	1,4	1,3	1	1	1	1	SA
CMS83	<i>C. tropicalis</i>	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1	1	1	1	SA
CMS84	<i>C. glabrata</i>	1,4	1,4	1,3	1,4	1,4	1,3	1	1	1	1	SA
CMS85	<i>C. albicans</i>	1,2	1,4	1,4	2,4	2,5	2,6	0,5	0,56	0,53	0,53	alta
CMS86	<i>C. tropicalis</i>	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1	1	1	1	SA
CMS87	<i>C. albicans</i>	1,4	1,2	1,4	2,8	2,6	2,6	0,5	0,46	0,53	0,49	alta
CMS88	<i>C. albicans</i>	1,1	1	1,2	2,1	2	2,2	0,52	0,5	0,54	0,5	alta
CMS89	<i>C. albicans</i>	1,2	1,4	1,2	2,5	2,6	2,5	0,48	0,53	0,48	0,49	alta
CMS90	<i>C. albicans</i>	1	1,1	1,1	2,1	2,1	2,2	0,47	0,52	0,5	0,49	alta
CMS91	<i>C. orthopsilosis</i>	1,4	1,5	1,5	1,4	1,5	1,5	1	1	1	1	SA
CMS92	<i>C. tropicalis</i>	1,4	1,4	1,3	1,4	1,4	1,3	1	1	1	1	SA
CMS93	<i>C. tropicalis</i>	1,4	1,5	1,4	1,4	1,5	1,4	1	1	1	1	SA

CMS94	<i>C. parapsilosis</i>	1,4	1,3	1,4	1,4	1,3	1,4	1	1	1	1	SA
CMS95	<i>C. albicans</i>	1,4	1,4	1,4	2,2	2,2	2	0,63	0,63	0,7	0,65	pouca
CMS96	<i>C. albicans</i>	1,2	1,3	1,3	2,4	2,5	2,5	0,5	0,52	0,52	0,51	alta
CMS97	<i>C. albicans</i>	1,2	1,4	1,4	2,7	2,6	2,5	0,44	0,53	0,56	0,51	alta
CMS98	<i>C. tropicalis</i>	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1	1	1	1	SA
CMS99	<i>C. tropicalis</i>	1,6	1,8	1,7	1,6	1,8	1,7	1	1	1	1	SA
CMS101	<i>C. guilliermondii</i>	1,5	1,5	1,4	1,5	1,5	1,4	1	1	1	1	SA
CMS102	<i>C. albicans</i>	1,2	1,2	1,2	2	2	2	0,6	0,6	0,6	0,6	alta

Anexo 04 - Resultados dos testes de fosfolipases de isolados de hemoculturas dos pacientes internados em 11 unidades hospitalares do município de Manaus-AM no ano de 2013. DC= diâmetro da colônia, DC+H= diâmetro da colônia + halo, Pz=atividade enzimática, SA= sem atividade.

N.	Espécie	DC 1	DC 2	DC 3	DC+H 1	DC+H 2	DC+H 3	PZ 1	PZ 2	PZ 3	Média	Classificação
CMS01	<i>C. albicans</i>	1	0,8	0,9	2,3	2,1	2,3	0,43	0,38	0,39	0,4	alta
CMS02	<i>C. albicans</i>	0,9	0,7	0,9	2,3	2,3	2,4	0,39	0,3	0,37	0,35	alta
CMS03	<i>C. albicans</i>	1	1	0,9	2,5	2,4	2,2	0,4	0,41	0,4	0,4	alta
CMS04	<i>C. tropicalis</i>	0,8	0,8	0,8	1,5	1,3	1,4	0,53	0,61	0,57	0,57	alta
CMS05	<i>C. tropicalis</i>	0,9	0,9	0,8	1,7	1,7	1,6	0,52	0,52	0,5	0,51	alta
CMS09	<i>C. tropicalis</i>	0,7	0,7	0,9	1,5	1,2	1,6	0,46	0,58	0,35	0,46	alta
CMS10	<i>C. albicans</i>	0,9	0,9	1	2,1	2,1	2,3	0,42	0,42	0,43	0,42	alta
CMS11	<i>C. parapsilosis</i>	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	1	1	1	1	SA
CMS12	<i>C. tropicalis</i>	0,8	0,7	0,9	1,5	1,5	1,5	0,53	0,46	0,6	0,53	alta
CMS13	<i>C. parapsilosis</i>	0,7	0,7	0,8	0,7	0,7	0,8	1	1	1	1	SA
CMS14	<i>C. parapsilosis</i>	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1	1	1	1	SA
CMS15	<i>C. albicans</i>	0,7	1	1	2,3	2,1	2,5	0,3	0,47	0,4		alta
	<i>C.</i>											
CMS17	<i>guilliermondii</i>	1,1	1	1	2,3	2,3	2,2	0,47	0,43	0,45	0,45	alta
CMS18	<i>C. tropicalis</i>	1,4	1,2	1,3	2,5	2,5	2,5	0,56	0,48	0,52	0,52	alta
CMS19	<i>C. parapsilosis</i>	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	1	1	1	1	SA
CMS20	<i>C. parapsilosis</i>	1	0,9	1	1	0,9	1	1	1	1	1	SA
CMS21	<i>C. tropicalis</i>	1	1	1	2,5	2,5	2,5	0,4	0,4	0,4	0,4	alta
CMS22	<i>C. haemulonii</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	SA
CMS23	<i>C. albicans</i>	1	1	1	1,8	1,6	1,8	0,55	0,62	0,55	0,57	alta
CMS24	<i>C. albicans</i>	0,9	1	1	2	2	1,7	0,45	0,5	0,58	0,51	alta
CMS25	<i>C. albicans</i>	1,1	1,1	1	2	2	2	0,55	0,55	0,5	0,53	alta
CMS26	<i>C. tropicalis</i>	1,2	1,2	1,3	2,5	2,5	2,5	0,48	0,48	0,52	0,49	alta
CMS27	<i>C. albicans</i>	1,1	1,1	1	1,9	2	1,9	0,57	0,55	0,52	0,54	alta
CMS28	<i>C. albicans</i>	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	1	1	1	1	SA
CMS29	<i>C. albicans</i>	0,6	0,6	0,8	1	1	1	0,6	0,6	0,8	0,66	pouca
CMS30	<i>C. tropicalis</i>	0,8	0,9	0,9	1,6	1,6	1,6	0,5	0,56	0,56	0,54	alta
CMS31	<i>C. albicans</i>	0,9	1	0,9	1,5	1,6	1,6	0,6	0,62	0,56	0,59	alta

CMS32	<i>C. parapsilosis</i>	0,7	0,7	0,6	0,7	0,7	0,6	1	1	1	1	SA
CMS33	<i>C. albicans</i>	0,9	1	0,9	0,9	1	0,9	1	1	1	1	SA
CMS34	<i>C. glabrata</i>	0,9	0,8	0,8	1,1	1,5	1,3	0,81	0,53	0,61	0,65	pouca
CMS35	<i>C. albicans</i>	1	1	1	1,4	1,5	1,4	0,71	0,66	0,71	0,69	pouca
CMS36	<i>C. tropicalis</i>	1	1	1	2	2	2	0,5	0,5	0,5	0,5	alta
CMS37	<i>C. tropicalis</i>	1,2	1,1	1,1	2,2	2	2	0,54	0,55	0,55	0,54	alta
CMS38	<i>C. tropicalis</i>	1,1	1	1	1,5	1,5	1,5	0,73	0,66	0,66	0,68	pouca
CMS39	<i>C. orthopsilosis</i>	0,7	0,8	0,6	1	1,1	1	0,7	0,72	0,6	0,67	pouca
CMS40	<i>C. albicans</i>	0,9	0,8	1	1,5	1,4	1,4	0,6	0,57	0,71	0,62	alta
CMS41	<i>C. haemulonii</i>	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	1	1	1	1	SA
CMS42	<i>C. tropicalis</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	SA
CMS43	<i>C. parapsilosis</i>	0,8	0,8	0,8	1,2	1,2	1,2	0,66	0,66	0,66	0,66	pouca
CMS45	<i>C. sp</i>	1	1	1	1,8	1,8	2	0,55	0,55	0,5	0,53	alta
CMS46	<i>C. tropicalis</i>	1	1	1	2,1	2	2	0,47	0,5	0,5	0,49	alta
CMS47	<i>C. sp</i>	1	1	1	2,4	2,2	2,5	0,41	0,45	0,4	0,42	alta
CMS48	<i>C. parapsilosis</i>	1	1	1	2,5	2,4	2,5	0,4	0,41	0,4	0,4	alta
CMS49	<i>C. albicans</i>	0,7	0,7	0,7	1	1	1	0,7	0,7	0,7	0,7	pouca
CMS50	<i>C. glabrata</i>	1	1	1	2,1	2	1,5	0,47	0,5	0,66	0,54	alta
CMS51	<i>C. albicans</i>	1,2	1,1	1,1	1,5	1,6	1,5	0,8	0,68	0,73	0,73	pouca
CMS52	<i>C. haemulonii</i>	0,6	0,6	0,6	1,1	1,1	1,1	0,54	0,54	0,54	0,54	alta
CMS53	<i>C. tropicalis</i>	1,1	1	1	1,5	1,5	1,5	0,73	0,66	0,66	0,68	pouca
CMS54	<i>C. tropicalis</i>	1,1	1,1	1	1,7	1,5	1,5	0,64	0,73	0,66	0,67	pouca
CMS55	<i>C. tropicalis</i>	1,1	1,1	1,1	1,5	1,7	1,5	0,73	0,64	0,73	0,7	pouca
CMS56	<i>C. parapsilosis</i>	0,9	0,8	0,9	0,9	0,8	0,9	1	1	1	1	SA
CMS57	<i>C. parapsilosis</i>	1	1	1	2,1	2,1	2,1	0,47	0,47	0,47	0,47	alta
CMS58	<i>C. parapsilosis</i>	0,8	0,8	0,8	1,1	1,1	1,1	0,72	0,72	0,72	0,72	pouca
CMS59	<i>C. parapsilosis</i>	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	1	1	1	1	SA
CMS60	<i>C. tropicalis</i>	1	1	1	1,4	1,2	1,3	0,71	0,83	0,76	0,76	pouca
CMS61	<i>C. parapsilosis</i>	1	1	1	1,5	1,4	1,5	0,66	0,71	0,66	0,67	pouca

CMS62	<i>C. tropicalis</i>	1	1	1	2,4	2,3	2	0,41	0,43	0,5	0,44	alta
CMS63	<i>C. albicans</i>	1,1	1,1	1,1	2,4	2,3	2,3	0,45	0,47	0,47	0,46	alta
CMS64	<i>C. albicans</i>	1,2	1,1	1,2	2,5	2,1	2,1	0,48	0,52	0,57	0,52	alta
CMS66	<i>C. albicans</i>	1,2	1,2	1,2	2,3	2,3	2,3	0,52	0,52	0,52	0,52	alta
CMS67	<i>C. orthopsilosis</i>	1	1	1	1,3	1,2	1,2	0,76	0,83	0,83	0,8	pouca
CMS68	<i>C. tropicalis</i>	0,9	0,9	0,9	1,2	1,2	1,2	0,75	0,75	0,75	0,75	pouca
CMS69	<i>C. albicans</i>	0,8	0,8	0,8	1,3	1,3	1,3	0,61	0,61	0,61	0,61	alta
CMS70	<i>C. tropicalis</i>	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	1	1	1	1	SA
CMS71	<i>C. tropicalis</i>	0,8	0,8	0,8	1,1	1,1	1,1	0,72	0,72	0,72	0,72	pouca
CMS72	<i>C. parapsilosis</i>	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	1	1	1	1	SA
CMS73	<i>C. albicans</i>	1	1	1	1,4	1,4	1,4	0,71	0,71	0,71	0,71	pouca
CMS74	<i>C. tropicalis</i>	0,8	0,8	0,8	1,1	1	1,1	0,72	0,8	0,72	0,74	pouca
CMS75	<i>C. tropicalis</i>	0,7	0,7	0,7	1	1	1	0,7	0,7	0,7	0,7	pouca
CMS76	<i>C. albicans</i>	1	1	1	1,4	1,4	1,4	0,71	0,71	0,71	0,71	pouca
CMS77	<i>C. metapsilosis</i>	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	1	1	1	1	SA
CMS78	<i>C. famata</i>	0,8	0,7	0,7	0,8	0,7	0,7	1	1	1	1	SA
CMS79	<i>C. parapsilosis</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	SA
CMS80	<i>C. albicans</i>	1	1	1	2	2	2	0,5	0,5	0,5	0,5	alta
CMS82	<i>C. tropicalis</i>	1,1	1,1	1,1	3	2,8	2,8	0,36	0,39	0,39	0,38	alta
CMS83	<i>C. tropicalis</i>	1,2	1,2	1,3	2,8	2,8	3	0,42	0,42	0,43	0,42	alta
CMS84	<i>C. glabrata</i>	1,2	1,2	1,1	2	2,1	2	0,6	0,57	0,55	0,57	alta
CMS85	<i>C. albicans</i>	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	1	1	1	1	SA
CMS86	<i>C. tropicalis</i>	0,9	0,9	1	1,7	1,7	1,7	0,52	0,52	0,58	0,54	alta
CMS87	<i>C. albicans</i>	0,9	0,9	0,9	1,7	1,5	1,7	0,52	0,6	0,52	0,54	alta
CMS88	<i>C. albicans</i>	0,8	0,8	0,8	1,7	1,4	1,4	0,47	0,57	0,57	0,53	alta
CMS89	<i>C. albicans</i>	1	1	1	1,9	2	2	0,52	0,5	0,5	0,5	alta
CMS90	<i>C. albicans</i>	1	1	1	1,8	1,5	1,7	0,55	0,6	0,58	0,59	alta
CMS91	<i>C. orthopsilosis</i>	1	1	1	1,8	2	2	0,55	0,5	0,5	0,51	alta
CMS92	<i>C. tropicalis</i>	1,4	1,2	1,2	2,3	2,4	2,3	0,6	0,5	0,52	0,54	alta

CMS93	<i>C. tropicalis</i>	1,3	1,3	1,3	2,6	2,7	2,5	0,5	0,48	0,52	0,5	alta
CMS94	<i>C. parapsilosis</i>	0,7	0,7	0,7	1	1	1	0,7	0,7	0,7	0,7	pouca
CMS95	<i>C. albicans</i>	1,1	1,2	1,2	2,4	2,2	2,2	0,45	0,54	0,54	0,51	alta
CMS96	<i>C. albicans</i>	1,1	1	1	1,1	1	1	1	1	1	1	SA
CMS97	<i>C. albicans</i>	1,1	1,1	1,1	1,8	1,8	1,9	0,61	0,61	0,57	0,59	alta
CMS98	<i>C. tropicalis</i>	1,2	1,1	1,1	2,4	2,2	2,2	0,5	0,5	0,5	0,5	alta
CMS99	<i>C. tropicalis</i>	1,5	1,2	1,4	2,7	2,6	2,8	0,55	0,46	0,5	0,5	alta
CMS101	<i>C. guilliermondii</i>	0,9	1	0,9	2,5	2,6	2	0,36	0,38	0,45	0,39	alta
CMS102	<i>C. albicans</i>	0,9	1	1	1,7	1,9	1,7	0,52	0,52	0,58	0,54	alta

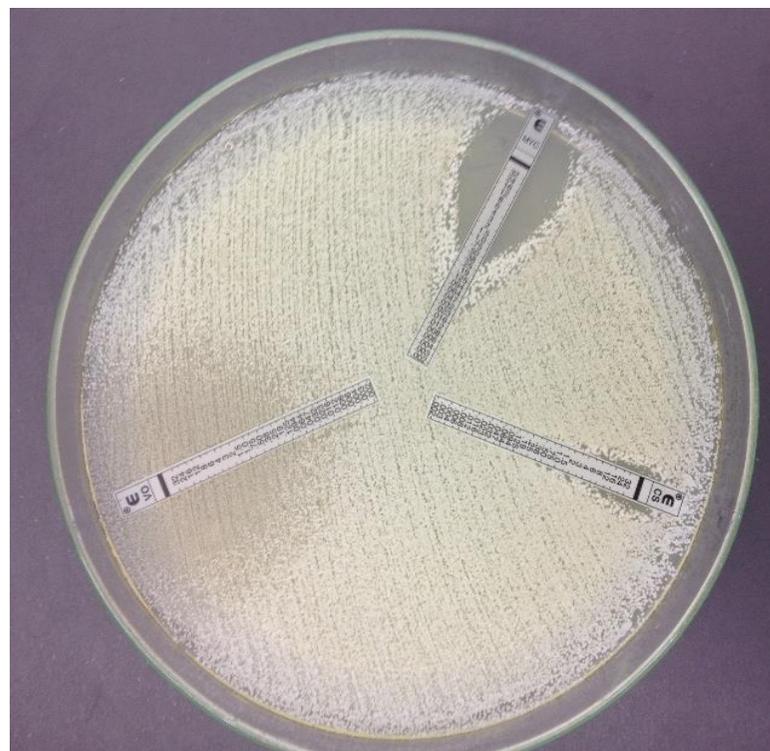
Anexo 05 - Resultados dos testes de Hemolisina de Isolados de hemoculturas dos pacientes internados em 11 unidades hospitalares do município de Manaus-AM no ano de 2013. DC= diâmetro da colônia, DC+H= diâmetro da colônia + halo, Pz=atividade enzimática, SA= sem atividade.

N.	Espécie	Resultado
CMS01	<i>Candida albicans</i>	negativo
CMS02	<i>Candida albicans</i>	negativo
CMS03	<i>Candida albicans</i>	negativo fracamente
CMS04	<i>Candida tropicalis</i>	positivo fracamente
CMS05	<i>Candida tropicalis</i>	positivo fracamente
CMS09	<i>Candida tropicalis</i>	positivo
CMS10	<i>Candida albicans</i>	negativo fortemente
CMS11	<i>Candida parapsilosis</i>	positivo
CMS12	<i>Candida tropicalis</i>	negativo
CMS13	<i>Candida parapsilosis</i>	negativo
CMS14	<i>Candida parapsilosis</i>	negativo
CMS15	<i>Candida albicans</i>	negativo fracamente
CMS17	<i>Candida guilliermondii</i>	positivo fracamente
CMS18	<i>Candida tropicalis</i>	positivo
CMS19	<i>Candida parapsilosis</i>	negativo
CMS20	<i>Candida parapsilosis</i>	negativo fracamente
CMS21	<i>Candida tropicalis</i>	positivo
CMS22	<i>Candida haemulonii</i>	negativo
CMS23	<i>Candida albicans</i>	negativo
CMS24	<i>Candida albicans</i>	negativo
CMS25	<i>Candida albicans</i>	negativo fortemente
CMS26	<i>Candida tropicalis</i>	positivo
CMS27	<i>Candida albicans</i>	negativo
CMS28	<i>Candida albicans</i>	negativo
CMS29	<i>Candida albicans</i>	negativo
CMS30	<i>Candida tropicalis</i>	negativo
CMS31	<i>Candida albicans</i>	negativo fracamente
CMS32	<i>Candida parapsilosis</i>	positivo
CMS33	<i>Candida albicans</i>	negativo
CMS34	<i>Candida glabrata</i>	negativo
CMS35	<i>Candida albicans</i>	negativo fortemente
CMS36	<i>Candida tropicalis</i>	positivo fortemente
CMS37	<i>Candida tropicalis</i>	positivo fortemente
CMS38	<i>Candida tropicalis</i>	positivo
CMS39	<i>Candida orthopsilosis</i>	negativo

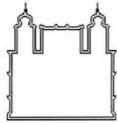
CMS40	<i>Candida albicans</i>	fortemente positivo fracamente
CMS41	<i>Candida haemulonii</i>	positivo fortemente
CMS42	<i>Candida tropicalis</i>	positivo
CMS43	<i>Candida parapsilosis</i>	negativo fracamente
CMS46	<i>Candida tropicalis</i>	positivo
CMS47	<i>Candida sp</i>	negativo
CMS48	<i>Candida parapsilosis</i>	negativo fracamente
CMS49	<i>Candida albicans</i>	positivo
CMS50	<i>Candida glabrata</i>	negativo
CMS51	<i>Candida albicans</i>	negativo fracamente
CMS52	<i>Candida haemulonii</i>	positivo fracamente
CMS53	<i>Candida tropicalis</i>	positivo
CMS54	<i>Candida tropicalis</i>	negativo fortemente
CMS55	<i>Candida tropicalis</i>	positivo
CMS56	<i>Candida parapsilosis</i>	negativo
CMS57	<i>Candida parapsilosis</i>	negativo
CMS58	<i>Candida parapsilosis</i>	negativo fortemente
CMS59	<i>Candida parapsilosis</i>	positivo fortemente
CMS60	<i>Candida tropicalis</i>	positivo
CMS61	<i>Candida parapsilosis</i>	negativo fortemente
CMS62	<i>Candida tropicalis</i>	positivo
CMS63	<i>Candida albicans</i>	negativo
CMS64	<i>Candida albicans</i>	negativo
CMS66	<i>Candida albicans</i>	negativo
CMS67	<i>Candida orthopsilosis</i>	negativo
CMS68	<i>Candida tropicalis</i>	negativo
CMS69	<i>Candida albicans</i>	negativo fortemente
CMS70	<i>Candida tropicalis</i>	positivo fortemente
CMS71	<i>Candida tropicalis</i>	positivo
CMS72	<i>Candida parapsilosis</i>	negativo
CMS73	<i>Candida albicans</i>	negativo fortemente
CMS74	<i>Candida tropicalis</i>	positivo fortemente
CMS75	<i>Candida tropicalis</i>	positivo
CMS76	<i>Candida albicans</i>	negativo

CMS77	<i>Candida metapsilosis</i>	negativo fortemente
CMS78	<i>Candida famata</i>	positivo
CMS79	<i>Candida parapsilosis</i>	negativo
CMS80	<i>Candida albicans</i>	negativo fracamente
CMS82	<i>Candida tropicalis</i>	positivo
CMS83	<i>Candida tropicalis</i>	negativo
CMS84	<i>Candida glabrata</i>	negativo
CMS85	<i>Candida albicans</i>	negativo
CMS86	<i>Candida tropicalis</i>	negativo
CMS87	<i>Candida albicans</i>	negativo
CMS88	<i>Candida albicans</i>	negativo fracamente
CMS89	<i>Candida albicans</i>	positivo
CMS90	<i>Candida albicans</i>	negativo
CMS91	<i>Candida orthopsilosis</i>	negativo
CMS92	<i>Candida tropicalis</i>	negativo fortemente
CMS93	<i>Candida tropicalis</i>	positivo
CMS94	<i>Candida parapsilosis</i>	negativo
CMS95	<i>Candida albicans</i>	negativo
CMS96	<i>Candida albicans</i>	negativo
CMS97	<i>Candida albicans</i>	negativo
CMS98	<i>Candida tropicalis</i>	negativo
CMS99	<i>Candida tropicalis</i>	negativo
CMS101	<i>Candida guilliermondii</i>	negativo
CMS102	<i>Candida albicans</i>	negativo

Anexo 06 - Resultados dos testes de Biofilme na de Isolados de hemoculturas dos pacientes internados em 11 unidades hospitalares do município de Manaus-AM no ano de 2013.

A**B**

Anexo 07 – Avaliação dos Antifúngicos utilizando fita de E test®. A – Perfil de Sensibilidade; B – Perfil de Resistência.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

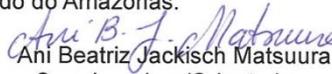
Instituto Leônidas e Maria Deane

CARTA DE AUTORIZAÇÃO

Ao Dr. Marcus Luiz Barroso Barros
Presidente da CCIH - UNIMED Manaus

Vimos solicitar autorização para utilizar as leveduras *Candida* isoladas de hemoculturas e uroculturas de pessoas internadas no Hospital Geral e Maternidade da UNIMED no período de janeiro a dezembro de 2013 e ter acesso as informações dos pacientes com candidemia que consentirem fazer parte do estudo após a apresentação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

A utilização das amostras e o acesso as informações solicitadas são fundamentais para a realização do Projeto de Pesquisa "**Estudo epidemiológico e molecular de *Candida* causadoras de candidemias em pessoas internadas em Unidades Hospitalares de Manaus - AM**". Informo ainda que esse trabalho será desenvolvido por mestrandos do Programa Multiinstitucional de Pós-graduação em Saúde, Sociedade e Endemias na Amazônia da UFAM, ILMD/FIOCRUZ e UFPA em parceria com a CECIHA- Comissão Estadual de Controle de Infecção do Estado do Amazonas.

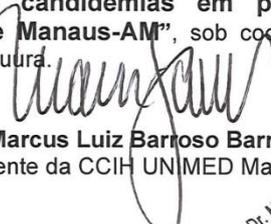

Ani Beatriz Jackisch Matsuura
Coordenadora/Orientadora

Ani Beatriz Jackisch Matsuura
Inst. Leônidas e Maria Deane/FIOCRUZ
Pesquisadora
Slape 1218680

Manaus, 19 de dezembro de 2012.

AUTORIZAÇÃO

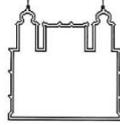
O Presidente da CCIH - UNIMED Manaus, no uso de suas atribuições, autoriza a utilização das amostras de *Candida* isoladas de hemoculturas e uroculturas de pessoas internadas no período de janeiro a dezembro de 2013 e permite o acesso as informações dos pacientes com candidemia que consentirem fazer parte da pesquisa intitulada "**Estudo epidemiológico e molecular de *Candida* causadoras de candidemias em pessoas internadas em Unidades Hospitalares de Manaus-AM**", sob coordenação da Pesquisadora Dra. Ani Beatriz Jackisch Matsuura.


Dr. Marcus Luiz Barroso Barros
Presidente da CCIH UNIMED Manaus


UNIMED MANAUS
Dr. Marcus Luiz Barroso Barros
CRM 664
Coordenador da CCIH

Manaus, 20/12/2012

Ministério da Saúde



Oswaldo Cruz

Leônidas e Maria Deane

CARTA DE AUTORIZAÇÃO

À V. Ex^a. Sr. Wilson Duarte Alecrim
Secretário de Estado da Saúde do Amazonas

Vimos solicitar autorização para utilizar as leveduras *Candida* isoladas de hemoculturas e uroculturas de pessoas internadas em Unidades de Saúde do Estado do Amazonas no período de janeiro a dezembro de 2013 e ter acesso as informações dos pacientes com candidemia que consentirem a fazer parte do estudo após a apresentação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

A utilização das amostras e o acesso as informações solicitadas são fundamentais para a realização do Projeto de Pesquisa **“Estudo epidemiológico e molecular de *Candida* causadoras de candidemias em pessoas internadas em Unidades Hospitalares de Manaus - AM”**. Um Plano de Trabalho sucinto está em anexo para vossa ciência. Informo ainda que esse trabalho será desenvolvido por mestrandos do Programa Multiinstitucional de Pós-graduação em Saúde, Sociedade e Endemias na Amazônia da UFAM, ILMD/FIOCRUZ e UFPA em parceria com a CECIHA- Comissão Estadual de Controle de Infecção do Estado do Amazonas.

Ani B. J. Matsuura
Ani Beatriz Jackisch Matsuura
Coordenadora/Orientadora

Ani Beatriz Jackisch Matsuura
Inst. Leônidas e Maria Deane/FIOCRUZ
Pesquisadora
Siape 1218580

Manaus, 21 de novembro de 2012.

AUTORIZAÇÃO

O Secretário de Estado da Saúde do Amazonas, no uso de suas atribuições, autoriza a utilização das amostras de *Candida* isoladas de hemoculturas e uroculturas de pessoas internadas em Unidades de Saúde do Estado do Amazonas no período de janeiro a dezembro de 2013 e permite o acesso as informações dos pacientes com candidemia que consentirem a fazer parte da pesquisa intitulada **“Estudo epidemiológico e molecular de *Candida* causadoras de candidemias em pessoas internadas em Unidades Hospitalares de Manaus-AM”**, sob coordenação da Pesquisadora Dra. Ani Beatriz Jackisch Matsuura.

Secretário de Estado da Saúde do Amazonas
Wilson Duarte Alecrim

Manaus, 12/12/2012

Rua Teresina, 476 - Adrianópolis, CEP 69.057-070 – Manaus/AM
Tel: (092) 3621-2337 / Fax (092) 3621-2377
<http://www.amazonia.fiocruz.br>

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos o (a) Sr (a) para participar da Pesquisa “**Estudo epidemiológico e molecular de *Candida* causadoras de candidemias em pessoas internadas em Unidades Hospitalares de Manaus - AM**”, sob a responsabilidade da pesquisadora ANI BEATRIZ JACKISCH MATSUURA, a qual pretende conhecer quais as leveduras *Candida* que são as maiores causadoras da infecção do sangue (candidemia) em pessoas internadas em Unidades Hospitalares de Manaus, bem como conhecer as diferenças destas geneticamente, a resistência ou não aos antifúngicos, o que as torna mais virulentas do que outras e quais os fatores de risco para a pessoa apresentar uma candidemia.

Sua participação é voluntária e se dará por meio da utilização das leveduras isoladas a partir do sangue coletado pelo hospital, não sendo necessária uma nova coleta, ou seja, trabalharemos com o material previamente coletado de acordo com a necessidade do paciente. Essas leveduras serão preservadas e colocadas na Coleção Biológica do ILMD/Fiocruz para que todos os estudos possam ser feitos com as amostras já isoladas. Se você aceitar participar, estará contribuindo para obter dados para auxiliar no tratamento e na prevenção das candidemias. Informamos ainda, que os riscos inerentes que houverem neste projeto serão minimizados pelos pesquisadores.

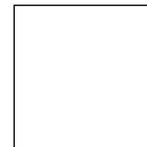
Se depois de consentir em sua participação o Sr(a) desistir de continuar participando, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, seja antes ou depois da coleta dos dados, independente do motivo e sem nenhum prejuízo a sua pessoa. O (a) Sr (a) não terá nenhuma despesa e também não receberá nenhuma remuneração. Os resultados da pesquisa serão analisados e publicados, mas sua identidade não será divulgada, sendo guardada em sigilo. Para qualquer outra informação, o (a) Sr (a) poderá entrar em contato com a pesquisadora no endereço Rua Teresina, 476, Adrianópolis, Manaus/AM, pelo telefone (92) 3621-2337, ou poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/UFAM, na Rua Teresina, 495, Adrianópolis, Manaus-AM, telefone (92) 3305-5130.

Consentimento Pós–Informação

Eu, _____, fui informado sobre o que o pesquisador quer fazer e porque precisa da minha colaboração, e entendi a explicação. Por isso, eu concordo em participar do projeto, sabendo que não vou ganhar nada e que posso sair quando quiser. Este documento é emitido em duas vias que serão ambas assinadas por mim e pelo pesquisador, ficando uma via com cada um de nós.

_____ Data: ___/___/___

Assinatura do participante ou responsável



Impressão do dedo polegar
Caso não saiba assinar

_____ Assinatura do Pesquisador Responsável

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos o(a) seu(sua) filho(a) para participar da Pesquisa “**Estudo epidemiológico e molecular de *Candida* causadoras de candidemias em pessoas internadas em Unidades Hospitalares de Manaus - AM**”, sob a responsabilidade da pesquisadora ANI BEATRIZ JACKISCH MATSUURA, a qual pretende conhecer quais as leveduras *Candida* que são as maiores causadoras da infecção do sangue (candidemia) em pessoas internadas em Unidades Hospitalares de Manaus, bem como conhecer as diferenças destas geneticamente, a resistência ou não aos antifúngicos, o que as torna mais virulentas do que outras e quais os fatores de risco para a pessoa apresentar uma candidemia.

A participação do(a) seu(sua) filho(a) é voluntária e se dará por meio da utilização das leveduras isoladas a partir do sangue coletado pelo hospital, não sendo necessária uma nova coleta, ou seja, trabalharemos com o material previamente coletado de acordo com a necessidade do paciente. Essas leveduras serão preservadas e colocadas na Coleção Biológica do ILMDF/Fiocruz para que todos os estudos possam ser feitos com as amostras já isoladas. Se for aceitar participar, estará contribuindo para obter dados para auxiliar no tratamento e na prevenção das candidemias. Informamos ainda, que os riscos inerentes que houverem neste projeto serão minimizados pelos pesquisadores.

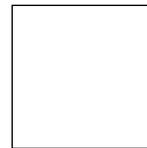
Se depois de consentir na participação do(a) seu(sua) filho(a) e desistir de continuar participando, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, seja antes ou depois da coleta dos dados, independente do motivo e sem nenhum prejuízo para seu(sua) filho. Seu(sua) filho(a) não terá nenhuma despesa e também não receberá nenhuma remuneração. Os resultados da pesquisa serão analisados e publicados, mas a identidade do(a) seu(sua) filho(a) não será divulgada, sendo guardada em sigilo. Para qualquer outra informação, o (a) Sr (a) poderá entrar em contato com a pesquisadora no endereço Rua Teresina, 476, Adrianópolis, Manaus/AM, pelo telefone (92) 3621-2337, ou poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/UFAM, na Rua Teresina, 495, Adrianópolis, Manaus-AM, telefone (92) 3305-5130.

Consentimento Pós-Infirmação

Eu, _____, fui informado sobre o que a pesquisadora quer fazer e porque precisa da colaboração do(a) meu(minha) filho(a), e entendi a explicação. Por isso, eu concordo na participação do(a) meu(minha) filho(a) no projeto, sabendo que ele(a) não vai ganhar nada e que poderá sair quando quiser. Este documento é emitido em duas vias que serão ambas assinadas por mim e pelo pesquisador, ficando uma via com cada um de nós.

_____ Data: ___/___/___

Assinatura do responsável



Impressão do dedo polegar

Caso não saiba assinar

Assinatura do Pesquisador Responsável