

Biomedicina e Farmácia: Aproximações 2

Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes
Tiago Sousa Melo
(Organizadores)



Atena
Editora

Ano 2019

Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes
Tiago Sousa Melo
(Organizadores)

Biomedicina e Farmácia: Aproximações 2

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Natália Sandrini e Lorena Prestes

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

B615 Biomedicina e farmácia [recurso eletrônico] : aproximações 2 /
Organizadores Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes, Tiago
Sousa Melo. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. –
(Biomedicina e Farmácia; v. 2)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-323-1

DOI 10.22533/at.ed.231191504

1. Biomedicina. 2. Ciências médicas. 3. Farmácia. I. Lopes,
Letícia Bandeira Mascarenhas. II. Melo, Tiago Sousa. III. Série.

CDD 610

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de
responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos
autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Farmácia e Biomedicina integram o time das ciências da saúde que constituem nas áreas que estudam sobre a vida, a saúde e a doença. No qual focam na manutenção e na melhoria da saúde para o indivíduo, grupos específicos e comunidades.

A obra “Biomedicina e Farmácia: Aproximações” consiste de uma série de livro (E-book) de publicação da Atena Editora, em seus 28 capítulos de artigos científicos do volume I, a qual abordam temáticas atualizadas de diferentes âmbitos que vão desde relatos de casos até a análise de medicamentos, plantas e microbiologia, entre outros.

Sendo assim, almejamos que este livro possa contribuir com informações pertinentes e atualizadas para os estudantes e profissionais da área de farmácia e biomedicina, oportunizando a ampliação dos conhecimentos sobre o tema.

Desejamos a todos uma boa leitura!

Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes

Tiago Sousa Melo

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
A IMPORTÂNCIA DA ASSISTÊNCIA FARMACÊUTICA PRESTADA AOS PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO 1	
Gisele Lopes Cavalcante Maria Camila Leal de Moura José Virgulino de Oliveira Lima Yara Maria da Silva Pires Aline Suelen Silva Maria Ana Rita de Sousa França Izabela Borges de Carvalho Polyanna dos Santos Negreiros	
DOI 10.22533/at.ed.2311915041	
CAPÍTULO 2	15
ANÁLISE BACTERIOLÓGICA DE QUEIJOS ARTESANAIS COMERCIALIZADOS NAS FEIRAS LIVRES DO MUNICÍPIO DE CARUARU-PE	
Jucélia Ivonete dos Santos Valéria da Silva Tabosa Agenor Tavares Jácome Júnior	
DOI 10.22533/at.ed.2311915042	
CAPÍTULO 3	26
ANÁLISE DA EFICÁCIA DE PROGRAMAS DE CONTROLE DA DENGUE NO MUNICÍPIO DE BOA VISTA DO ESTADO DE RORAIMA	
Fabiana Nakashima Ítallo de Souza Almeida Tulio Marroquim Galvão Iran Barros de Castro Nathalia Bittencourt Graciano Isabella Maravalha Gomes Ana Iara Costa Ferreira Bianca Jorge Sequeira Costa Leila Braga Ribeiro Wagner do Carmo Costa Fabiana Zimmermann dos Santos Luis Enrique Galan Bermejo Rodrigo de Barros Feltran	
DOI 10.22533/at.ed.2311915043	
CAPÍTULO 4	34
ANÁLISE DO PERFIL DOS PACIENTES SUBMETIDOS AO EXAME DE MICROALBUMINÚRIA REALIZADO NO LABORATÓRIO CENTRAL DE BIOMEDICINA NO PRIMEIRO TRIMESTRE DE 2018	
Flávia Karen Carvalho Garcia Marcos Emanuel Vilanova da Costa Jessica Santana de Oliveira Layanne Barbosa dos Santos Larissa Lisboa Rêgo Brito Rachel Freire Boaventura	
DOI 10.22533/at.ed.2311915044	

CAPÍTULO 5 40

ANÁLISE HISTOQUÍMICA DA LÂMINA FOLIAR DE *Azadirachta indica* A.Juss

Rafaela Damasceno Sá
Felipe Ribeiro da Silva
Girllene da Silva Cavalcanti
Karina Perrelli Randau

DOI 10.22533/at.ed.2311915045

CAPÍTULO 6 46

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA GOMA DE MANDIOCA COMERCIALIZADA NA FEIRA LIVRE DO BAIRRO ALVORADA II NA CIDADE DE MANAUS-AM

Uziel Ferreira Suwa
Elias da Silva Lemos
Andreia Ferreira Silva

DOI 10.22533/at.ed.2311915046

CAPÍTULO 7 53

APROVEITAMENTO DA SEMENTE DE ABÓBORA (*Cucurbita moschata*) NO DESENVOLVIMENTO DE CREME HIDRATANTE ESFOLIANTE

Mariana Gavioli dos Reis Pena
Tatiane Amorim Lima
Marcone Augusto Leal de Oliveira
Guilherme Diniz Tavares
Fabiano Freire Costa
Paula Rocha Chellini

DOI 10.22533/at.ed.2311915047

CAPÍTULO 8 68

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PLANTAS DE USO POPULAR NO BRASIL: CAMOMILA (*MATRICARIA CHAMOMILLA*), ERVA DOCE (*PIMPINELLA ANISUM*) E JUCÁ (*CAESALPINIA FERREA*)

Caroline Mendes Santos
Carina Assis Lima Da Silva
Carolina Azevedo Amaral
Joyce dos Santos Brasil
Daniela Soares Leite

DOI 10.22533/at.ed.2311915048

CAPÍTULO 9 82

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PLANTAS DE USO POPULAR NO BRASIL: GOIABA (*PSIDIUM GUAJAVA* L.) E MELÃO DE SÃO CAETANO (*MOMORDICA CHARANTIA*)

Daniela Soares Leite
Caroline Mendes Santos
Carina Assis Lima Da Silva
Carolina Azevedo Amaral

DOI 10.22533/at.ed.2311915049

CAPÍTULO 10 93

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO DA FOLHA DE *Bauhinia forficata* Link (PATA DE VACA)

Clara Santos Shen
Eduarda dos Santos Lima
Mariana Oliveira Arruda

DOI 10.22533/at.ed.23119150410

CAPÍTULO 11 104

AVALIAÇÃO DA CITOXIDADE, MUTAGENICIDADE E TOXICIDADE DO EXTRATO ETANÓLICO DOS FRUTOS DO *Lycium barbarum* (GOJI BERRY) POR MÉTODOS *Allium cepa* EM CÉLULAS EUCARIONTES

Ogenya Rafaela Bispo de Souza
Francisca dos Santos
Manoel Pinheiro Lúcio Neto

DOI 10.22533/at.ed.23119150411

CAPÍTULO 12 114

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO RASTREIO DA TOXOPLASMOSE DURANTE A GESTAÇÃO EM RORAIMA

Jéssyca Magalhães de Matos
Wagner do Carmo Costa
Ana Iara Costa Ferreira
Fabiana Nakashima
Leila Braga Ribeiro
José Geraldo Ticianeli
Camila Sampaio Florença Santana
Allaelson dos Santos de Moraes
Gabriela Moraes Gomes
Fernanda Zambonin
Bianca Jorge Sequeira

DOI 10.22533/at.ed.23119150412

CAPÍTULO 13 127

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS HEMOCOMPONENTES NO HEMOCENTRO COORDENADOR DE SERGIPE

Flávia Karen Carvalho Garcia
Fátima de Jesus Santos
Jéssica Araújo Menezes
Larissa Lisboa Rêgo Brito
João Victor Ferreira Santana
Raphael Davisson Lopes Santos
Weber De Santana Teles

DOI 10.22533/at.ed.23119150413

CAPÍTULO 14 139

AVALIAÇÃO DO PERFIL DE ANEMIAS EM EXAMES HEMATOLÓGICOS DE UMA POPULAÇÃO ATENDIDA POR PROJETO SOCIAL E SUA CORRELAÇÃO COM VALORES DE REFERÊNCIA

Gleice dos Anjos Santos
Athos de Barros Vieira
Jonas Alves Paiva
Maria Helena Rodrigues De Mendonça

DOI 10.22533/at.ed.23119150414

CAPÍTULO 15 152

AVALIAÇÃO FENOTÍPICA E GENOTÍPICA DE ISOLADOS DO COMPLEXO *Candida parapsilosis* CAUSADORES DE CANDIDEMIA NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO (HC-FMRP)

Márcia Eliana da Silva Ferreira
Heliara Maria Spina Canela
Bárbara Cardoso

DOI 10.22533/at.ed.23119150415

CAPÍTULO 16 169

BIORREMEDIAÇÃO DE MANGUEZAL CONTAMINADO COM PETRÓLEO COM OBTENÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA EM BIOPOLÍMEROS E PEPTÍDIOS CRISTALIZADOS

Odete Gonçalves
Paulo Fernando de Almeida
Cristina Maria A. L. T. M. H. Quintella
Ana Maria Álvares Tavares da Mata

DOI 10.22533/at.ed.23119150416

CAPÍTULO 17 186

BIOTECHNOLOGICAL APPLICATIONS OF THE YEAST CELL WALL WITH EMPHASIS ON THE DEVELOPMENT OF FEED ADDITIVES

Carina Maricel Pereyra
Mariana Angélica Montenegro
Lilia Reneé Cavaglieri

DOI 10.22533/at.ed.23119150417

CAPÍTULO 18 204

CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DA LÂMINA FOLIAR DE *Calotropis procera* (Aiton) W.T.Aiton

Rafaela Damasceno Sá
Adolfo Santos da Silva
Deysielle Maria dos Santos
Karina Perrelli Randau

DOI 10.22533/at.ed.23119150418

CAPÍTULO 19 211

CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DE *Schinus molle* L.

Luciano de Medeiros Dantas
Rafaela Damasceno Sá
Larisse Bianca Soares Pereira
Karina Perrelli Randau
Flávia Carolina Lins da Silva

DOI 10.22533/at.ed.23119150419

CAPÍTULO 20 223

CARACTERIZAÇÃO FARMACOGNÓSTICA E DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE-DAD PARA *FINGERPRINT* DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM *Alternanthera brasiliana*

José Marcos Teixeira de Alencar Filho
Hyany Andreysa Pereira Teixeira
Iure Silva de Carvalho
Pedrita Alves Sampaio
Emanuella Chiara Valença Pereira
Isabela Araujo e Amariz
Larissa Araújo Rolim
Edigênia Cavalcante da Cruz Araújo

DOI 10.22533/at.ed.23119150420

CAPÍTULO 21 235

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE PLANTAS DO SEMIÁRIDO NORDESTINO COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Ítalo da Silva Batista
Francinalva Dantas de Medeiros

DOI 10.22533/at.ed.23119150421

CAPÍTULO 22 244

COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETORA DOS EXTRATOS DE *Averrhoa carambola* L.

Tálison Taylon Diniz Ferreira
Orlene Nascimento da Silva
Jéssyca Wan Lume da Silva Godinho
Kleyton Santos Veras
Denise Fernandes Coutinho
Flavia Maria Mendonça do Amaral

DOI 10.22533/at.ed.23119150422

CAPÍTULO 23 256

CONHECIMENTO DE MULHERES USUÁRIAS DE UMA UNIDADE DE ESTRATÉGIA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SOBRE A TRICOMONÍASE

Jessé Alves de Souza
Laís Marques da Silva Pedrosa
Evilma Nunes de Araújo
Alecio Marcelo Lima Dos Santos
Paulyanne Karlla Araújo Magalhães
Thiago José Matos Rocha

DOI 10.22533/at.ed.23119150423

CAPÍTULO 24 266

CONTROLE DE QUALIDADE DE MEDICAMENTOS A BASE DE ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIAS

Mariana Ribeiro Gonçalves Cordeiro Cruz
Bianca da Silva Cardoso
Luiza Helena Nascimento Lopes
Nadjanayra Soares Rodrigues
Nathália Gonçalves Silva
Thaísia Silva Pires
Tálison Taylon Diniz Ferreira
Maria dos Remédios Mendes de Brito
Angélica Gomes Coelho

DOI 10.22533/at.ed.23119150424

CAPÍTULO 25 275

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DA SITAGLIPTINA POR CLAE

Bruna de Carvalho Mapa
Jacqueline de Souza
Iara Devula Tiso Tana
Débora dos Santos da Silva
Neila Márcia Silva-Barcellos

DOI 10.22533/at.ed.23119150425

CAPÍTULO 26 287

DETECÇÃO, ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE DERMATÓFITOS EM UTENSÍLIOS DE CENTROS DE ESTÉTICA DA CIDADE DE MACEIÓ, ALAGOAS

Bárbara Letícia Figueiredo Fonseca
Marcus Vinícius de Andrade Silveir
Caroline Fernanda Andrade Gomes
Camila Neves de Melo Cavalcanti
Aryanna Kelly Pinheiro Souza
Gabriela Souto Vieira de Mello
Marina Valdez dos Santos
Ana Paula de Almeida Portela da Silva

DOI 10.22533/at.ed.23119150426

CAPÍTULO 27 293

DIVERSIDADE GENÉTICA DOS PAPILOMAVÍRUS HUMANOS DE ALTO RISCO 16, 53 E 66 EM ALAGOAS, BRASIL

Karwhory Wallas Lins da Silva
Márcia Adriana Pessoa de Oliveira Esteves
Sâmea Keise de Oliveira Silva
Velber Xavier Nascimento

DOI 10.22533/at.ed.23119150427

SOBRE OS ORGANIZADORES..... 305

AVALIAÇÃO FENOTÍPICA E GENOTÍPICA DE ISOLADOS DO COMPLEXO *CANDIDA PARAPSILOSIS* CAUSADORES DE CANDIDEMIA NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO (HC-FMRP)

Márcia Eliana da Silva Ferreira

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP)

Universidade de São Paulo (USP)

Ribeirão Preto – São Paulo

Heliara Maria Spina Canela

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP)

Universidade de São Paulo (USP)

Ribeirão Preto – São Paulo

Bárbara Cardoso

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP)

Universidade de São Paulo (USP)

Ribeirão Preto – São Paulo

RESUMO: *Candida* spp. está entre os principais causadores de infecções no sistema circulatório, com considerável taxa de mortalidade. Embora *C. albicans* seja a espécie mais prevalente, a incidência de *C. parapsilosis* (sensu lato) aumentou significativamente nos últimos 20 anos. Esse complexo compreende as espécies *C. parapsilosis*, *C. metapsilosis* e *C. orthopsilosis*, que são indistinguíveis fenotipicamente, mas apresentam diferenças na sensibilidade aos antifúngicos e produção de fatores de virulência. Esse estudo analisou fenotípica e genotipicamente 14 amostras pertencentes ao complexo *C. parapsilosis*,

isoladas de hemoculturas de pacientes internados no HC-FMRP. Foram avaliadas a produção de fatores de virulência; capacidade de formação de biofilmes; suscetibilidade a antifúngicos; e variabilidade genética dos isolados. *Candida parapsilosis* foi a espécie prevalente, responsável por 78,6% dos casos, *C. orthopsilosis* foi isolada em 21,4% dos pacientes e nenhum isolado de *C. metapsilosis* foi encontrado. Quanto à produção de fatores de virulência, poucos isolados foram capazes de produzir hemolisina e proteinase e nenhum isolado produziu fosfolipase. Quanto à formação de biofilme, cinco isolados de *C. parapsilosis* e dois isolados de *C. orthopsilosis* apresentaram capacidade de formação de biofilme. Quanto à sensibilidade aos antifúngicos, apenas um isolado de *C. parapsilosis* apresentou suscetibilidade dose-dependente ao fluconazol e a formação de biofilmes diminuiu a sensibilidade dos isolados aos antifúngicos testados. As técnicas de genotipagem apresentaram altos índices de discriminação e produziram resultados conflitantes. Os resultados obtidos são úteis no entendimento do perfil da candidemia causada por esse complexo no hospital estudado e contribuem para o conhecimento disponível sobre essa importante doença.

PALAVRAS-CHAVE: Candidemia. Complexo *Candida parapsilosis*. Fatores de virulência. Genotipagem. Candidíase invasiva.

ABSTRACT: *Candida* spp. are a relevant cause of bloodstream infections and present high mortality rates. Although *C. albicans* remains the predominant species, the incidence of *C. parapsilosis* (sensu lato) has been rising in the last 20 years. This complex comprises the species *C. parapsilosis*, *C. metapsilosis* and *C. orthopsilosis*, which are indistinguishable phenotypically but can present differences in antifungal sensitivity and virulence attributes production. This study analyzed 14 bloodstream isolates of *C. parapsilosis* complex from patients of HC-FMRP. The virulence attributes production; biofilms formation; antifungal susceptibility and genetic variability were assessed. *Candida parapsilosis* was the predominant species, accounting for 78.6% of the cases, *C. orthopsilosis* was isolate from 21.4% of the patients and no one *C. metapsilosis* was isolated. Few isolates were able to produce hemolysin and proteinase and no one was able to produce phospholipase. Five isolates of *C. parapsilosis* and two isolates of *C. orthopsilosis* were able to form biofilms. One isolate of *C. parapsilosis* showed dose dependent susceptibility to fluconazol and the biofilm formation decrease the antifungal susceptibility. The genotyping showed high discrimination indexes and showed conflicting results. These results are useful to the understanding of candidemia profile in the studied hospital and contribute to the available knowledge of this important disease.

KEYWORDS: Candidemia. *Candida parapsilosis* complex. Virulence factors. Genotyping. Invasive candidiasis.

1 | INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, observou-se aumento no número de indivíduos imunocomprometidos, tais como aqueles que fazem uso de imunossupressores para a prevenção de rejeição de transplantes, que apresentam o vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) ou que fazem uso de quimio e radioterapia para o tratamento de neoplasias. Essa população é suscetível às doenças fúngicas oportunistas e, conseqüentemente, houve aumento da incidência das mesmas (PEMÁN; QUINDÓS, 2016; VALLABHANENI et al., 2016).

As leveduras do gênero *Candida* são responsáveis pela maioria das doenças fúngicas oportunistas (PEMÁN; QUINDÓS, 2016). Algumas espécies são parte da microbiota humana e podem provocar infecções que variam de superficiais a sistêmicas em casos de imunossupressão, desequilíbrio da microbiota, rompimento de barreiras anatômicas ou mesmo o uso prolongado de antibioticoterapia (SARDI et al., 2013; YAPAR, 2014; PEMÁN; QUINDÓS, 2016).

A candidemia, invasão do sistema circulatório por *Candida* spp., é a principal forma de candidíase invasiva e atinge principalmente pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI), nos quais é responsável por aproximadamente 17% das infecções (YAPAR, 2014; GONG et al., 2016). Essa doença pode ter origem endógena ou exógena e pode apresentar altas taxas de mortalidade e prolongar o tempo de hospitalização do paciente, o que resulta em aumento dos gastos (SARDI

et al., 2013; PEMÁN; QUINDÓS, 2016). A candidemia é uma importante infecção nosocomial no mundo todo; entretanto, sua incidência varia de acordo com o país, região, hospital e época, o que ressalta a importância da constante realização de estudos locais (QUINDÓS, 2014).

Apesar de *Candida albicans* ainda ser a espécie predominante em muitos hospitais e centros de saúde, observa-se aumento da incidência de infecções provocadas por *Candida não-albicans*, incluindo as espécies do complexo *Candida parapsilosis* (KATO et al., 2019).

O complexo *Candida parapsilosis* é composto por três espécies indistinguíveis fenotipicamente: *C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis* e *C. metapsilosis*, e foi descrito, em 2005, por Tavanti e colaboradores.

A espécie *C. parapsilosis* é a mais prevalente do complexo e, em alguns estudos, superou inclusive os episódios provocados por *C. albicans* (CHEN et al., 2010; ŞULAR et al., 2018; SUN et al., 2019). Essa espécie é frequente colonizadora da pele, o que contribui para infecções de origem exógena (PEMÁN; QUINDÓS, 2016). A espécie *C. orthopsilosis* é relacionada à candidemia em neonatos (BLANCO-BLANCO et al., 2014; PEMÁN; QUINDÓS, 2016). Por outro lado, *C. metapsilosis* é raramente isolada em episódios de candidemia (BLANCO-BLANCO et al., 2014; ZICCARDI et al., 2015).

Os fatores de virulência, tais como a produção de enzimas hidrolíticas extracelulares e a formação de biofilmes, e a suscetibilidade aos antifúngicos são fatores que influenciam no desfecho dos episódios de candidemia e que variam entre as espécies e até entre isolados de uma mesma espécie (DE LUCA et al.; 2012; MUTLU SARIGUZEL et al., 2015; TAY et al., 2011). As técnicas de genotipagem são úteis na análise da variabilidade genética de isolados e são baseadas em diferentes princípios (CHEN et al., 2005; SABINO et al., 2010).

Assim, o objetivo desse estudo foi analisar fenotípica e genotipicamente 14 amostras pertencentes ao complexo *C. parapsilosis*, isoladas de hemoculturas de pacientes internados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HC-FMRP). Foram avaliadas a produção de hemolisina, fosfolipase e proteinase; capacidade de formação de biofilmes; suscetibilidade aos antifúngicos anfotericina B, caspofungina, fluconazol e voriconazol; e as características clínicas dos pacientes acometidos. Além disso, foi realizada a genotipagem por *Pulsed-Field Gel Electrophoresis* (PFGE) e *Microsatellite Length Polymorphism* (MLP).

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Isolados

Os isolados utilizados nesse estudo foram obtidos de pacientes internados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HC – FMRP) e em

sua Unidade de Emergência (UE-HCFMRP), de junho de 2014 a novembro de 2015. Todos os pacientes com candidemia causada por *C. parapsilosis* (sensu lato) foram incluídos no estudo. Um episódio de candidemia foi definido como pelo menos uma hemocultura positiva para *Candida* spp. Somente o primeiro episódio de cada paciente foi considerado.

Durante o período do estudo, foi obtido um total de 14 isolados. As amostras foram mantidas em caldo Sabouraud dextrose (Oxoid, Hampshire, Inglaterra), suplementado com 20% de glicerol (Merck, Darmstadt, Alemanha), em freezer a -80°C .

A identificação das espécies foi realizada por métodos moleculares, segundo a metodologia desenvolvida por Feng e colaboradores (2014).

2.2 Testes de sensibilidade das células planctônicas aos antifúngicos

A sensibilidade aos antifúngicos foi determinada utilizando-se o método de microdiluição em caldo (*Clinical and Laboratory Standards Institute* - CLSI, documento M27-A3). A linhagem *C. parapsilosis* ATCC 22019 foi utilizada como controle de qualidade.

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada visualmente e definida como a menor concentração capaz de inibir 50% do crescimento para caspofungina, fluconazol e voriconazol e a menor concentração capaz de inibir qualquer crescimento visível para anfotericina B. Os pontos de corte foram determinados pelo documento M27-S4 do CLSI. Como não existem pontos de corte determinados para a anfotericina B, foram utilizados os *epidemiological cutoff value* (ECV) descritos no documento M59 do CLSI. Os ECVs de caspofungina, fluconazol e voriconazol para *C. orthopsilosis* foram os descritos por Pfaller e colaboradores (2011) e como não existem valores de corte ou ECV de anfotericina B para *C. orthopsilosis*, esses isolados não foram classificados.

2.3 Produção de proteinase

A pesquisa de proteinase foi realizada de acordo com Mane e colaboradores (2012). Todos os experimentos foram realizados em duplicata. A atividade de proteinase (Pr_z) foi caracterizada pela presença de halo claro, correspondente à degradação de proteínas ao redor da colônia, e calculada pela razão do diâmetro da colônia e o diâmetro do halo. A atividade de proteinase foi considerada negativa quando $\text{Pr}_z = 1$, positiva quando $0,64 < \text{Pr}_z < 0,99$ e fortemente positiva quando $\text{Pr}_z \leq 0,64$. As linhagens *C. albicans* ATCC 14053 e *C. parapsilosis* ATCC 22019 foram utilizadas como controle positivo e negativo, respectivamente.

2.4 Pesquisa de fosfolipase

A pesquisa de fosfolipase foi feita de acordo com Mane e colaboradores (2012). Todos os experimentos foram realizados em duplicata. A atividade de fosfolipase (P_z)

foi caracterizada pela presença de halo opaco, correspondente à degradação de fosfolípidos ao redor da colônia, e calculada pela razão do diâmetro da colônia e o diâmetro do halo. A interpretação da P_z foi igual à de proteinase e foram utilizados os mesmos controles.

2.5 Pesquisa de hemolisina

A pesquisa de hemolisina foi realizada de acordo com Luo, Samaranayake e Yau (2001). Todos os experimentos foram realizados em duplicata. A atividade hemolítica (H_z) foi caracterizada pela presença de halo de hemólise ao redor da colônia e calculada pela razão do diâmetro da colônia e o diâmetro do halo. A interpretação da H_z foi igual à de proteinase e foram utilizados os mesmos controles.

2.6 Capacidade de formação de biofilmes

A capacidade de formação de biofilmes foi avaliada de acordo com Pierce e colaboradores (2010). Para a quantificação dos biofilmes, foram utilizados dois métodos colorimétricos: o método de estimativa da biomassa total por coloração com cristal violeta, de acordo com Silva e colaboradores (2009); e o método da determinação da atividade metabólica pela redução do sal tetrazólio XTT, de acordo com Pierce e colaboradores (2010). Os testes foram realizados em quatro replicatas e uma coluna sem inóculo foi utilizada como controle negativo e branco. A classificação foi realizada de acordo com Pannanusorn, Fernandez e Römling (2013), a qual utiliza os valores de absorvância da atividade metabólica.

2.7 Testes de sensibilidade de biofilmes aos antifúngicos

A sensibilidade dos biofilmes aos antifúngicos foi determinada utilizando-se a metodologia de redução do XTT (PIERCE et al., 2010), em biofilmes maduros (24h). Assim, foi determinada a Concentração Inibitória Mínima de Biofilme (CIMb) para os antifúngicos anfotericina B, caspofungina, fluconazol e voriconazol, definida como a concentração mínima da droga capaz de reduzir a atividade metabólica do biofilme em 50% (CIMb₅₀) e em 80% (CIMb₈₀), considerando-se o controle de crescimento, sem a presença dos antifúngicos, como 100%. Os testes foram realizados em duplicata.

2.8 Pulsed-field Gel Electrophoresis (PFGE)

A técnica de PFGE utilizada foi baseada em Miranda e colaboradores (2012), Chen e colaboradores (2005) e Shin e colaboradores (2001).

Resumidamente, as suspensões foram confeccionadas em água estéril e lavadas duas vezes. A seguir, água foi retirada por aspiração e suspensões de concentração equivalente a 1mg de células por microlitro foram confeccionadas em EDTA (50 mM, pH 8), homogeneizadas e 50 μ L foram transferidos para novos microtubos contendo 150 μ L de EDTA. A essas suspensões foram adicionados 40 μ L de liticase e 240 μ L de

agarose *Seakem gold* (Lonza, Suíça). As soluções foram transferidas para os moldes de bloco de agarose (CHEF DRIII); estes foram incubados em câmara úmida a 4°C durante 15 minutos e, posteriormente, a 37°C durante 2 horas. Após a incubação, os blocos foram transferidos para tubos contendo 1,9 mL de tampão NET (1 mL Tris 1 M pH 7,5; 90 mL EDTA 0,5 M pH 8; 10 mL Laurilsarcosine 10%) e proteinase K (1 mg/mL), e incubados de 8 a 16 horas, a 56°C. Após a incubação, os blocos foram lavados 5 vezes com 2 mL de tampão CHEF TE 1x (13 mL EDTA 0,5 M pH 7; 13 mL EDTA 0,5 M pH 8; 6,5 mL Tris 1 M pH 7; 6,5 mL Tris 1 M pH 8; água deionizada q.s.p. 130 mL) durante 15 minutos, sob agitação, à temperatura ambiente. Entre cada lavagem, os blocos foram incubados durante 1 hora em repouso, também à temperatura ambiente.

Para a digestão, cada bloco foi lavado 5 vezes com tampão DNS (10 mL Tris 1 M pH 8; 500 µL MgCl₂; água deionizada q.s.p. 100 mL) durante 30 minutos sob agitação, à temperatura ambiente. Após as lavagens, os blocos foram transferidos para tubos contendo tampão de digestão e a enzima *Paul* (20 U) e incubados a 37°C, de 8 a 16 horas.

Após a digestão, o tampão foi removido, os blocos foram lavados com TE durante 2 horas à temperatura ambiente, sob agitação, e aplicados em gel de agarose *Seakem gold* (1% em TBE). A eletroforese em campo pulsado foi realizada no aparelho CHEF DR® III (Bio-Rad, França). O tampão utilizado para a corrida foi TBE 0,5x (0,5 mM EDTA; 50 mM Tris; 50 mM ácido bórico; água deionizada) e as condições foram: 10 s de pulso inicial, 90 s de pulso final, 14°C, 6 V/cm, 120° de ângulo, 29 horas. O marcador de peso molecular utilizado foi *Salmonella* Braenderup H9812 digerida com 30 unidades de *Xba*I, a 37°C, durante 2 horas (HUNTER et al., 2005). O gel foi corado com brometo de etídeo (0,5 µg/mL) durante 30 minutos, descorado com água destilada durante 1 hora e 30 minutos e documentado em luz ultravioleta.

Os dados foram analisados utilizando-se o *software* BioNumerics 7.6 (AppliedMaths, Bélgica). Cada banda gerada foi identificada de acordo com o tamanho e foi utilizada para a construção do dendrograma de similaridade genética, construído pelo método de *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA).

2.9 Microsatellite Length Polymorphism (MLP)

Os marcadores CP1, CP4 e CP6 foram utilizados para *C. parapsilosis*, de acordo com Sabino e colaboradores (2010). Como foram obtidas somente três linhagens de *C. orthopsilosis* e não existem marcadores de microssatélite descritos para essa espécie, essas linhagens não foram submetidas ao MLP.

Os dados foram analisados utilizando-se o *software* BioNumerics 7.6 (AppliedMaths, Bélgica). Cada pico gerado foi identificado de acordo com o tamanho e marcação utilizada. O tamanho dos fragmentos foi utilizado para a construção do dendrograma de similaridade genética, construído pelo método de UPGMA.

2.10 Classificação dos isolados

Os isolados foram classificados como geneticamente idênticos (100% de similaridade), geneticamente relacionados (90 a 99.9% de similaridade) ou geneticamente não relacionados (<89.9% de similaridade) (ABDELJELIL et al., 2011; HEO et al., 2011).

2.11 Cálculo do índice de discriminação

O índice de discriminação das técnicas de genotipagem foi calculado utilizando-se o índice de diversidade de Simpson (HUNTER; GASTON, 1988).

2.12 Análise dos prontuários

Os prontuários dos pacientes foram analisados em busca de informações como fatores de risco. Para isso, os seguintes dados foram extraídos dos prontuários dos pacientes: sexo, idade, ala hospitalar de admissão, internação na UTI, diagnóstico, tratamento com antibióticos, nutrição parenteral, presença de cateter venoso central, neutropenia, diabetes, doença de base e características clínico-evolutivas da candidemia. Os dados obtidos foram analisados utilizando-se o software Epi Info™ versão 7 (Centers for Disease Control and Prevention - CDC, EUA) e os testes de χ^2 e Fisher. Valores de $P \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

2.13 Ética

Esse estudo foi aprovado pelos comitês de ética da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto e do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (número CAAE 26123913.9.0000.5403).

3 | RESULTADOS

Durante o período do estudo, 14 episódios de candidemia provocada por *C. parapsilosis* (sensu lato) foram identificados, o que corresponde a uma incidência de 0,27 episódios a cada 1000 admissões. Como esperado, *C. parapsilosis* foi a espécie predominante, responsável por 78,6% dos casos, *C. orthopsilosis* foi isolada em 21,4% dos pacientes e nenhum isolado de *C. metapsilosis* foi encontrado.

A média de idade dos pacientes foi de $32 \pm 26,7$ anos e variou de seis dias a 72 anos. A média de idade dos pacientes acometidos por *C. orthopsilosis* foi menor ($0,58 \pm 0,32$ anos). A maioria dos pacientes acometidos por *C. parapsilosis* foi admitida em unidades de cirurgia, enquanto todos os pacientes acometidos por *C. orthopsilosis* eram provenientes de UTIs.

A maioria dos pacientes apresentou um ou mais fatores de risco para candidemia, sendo que os fatores de risco mais comuns foram antibioticoterapia e acesso venoso

central. Não houve relação entre os fatores de risco e o desfecho da candidemia ($P>0,05$). Todos os pacientes apresentaram doenças de base, sendo que as doenças gastrointestinais, tais como apendicite, foram as mais comuns. Nos pacientes acometidos por *C. orthopsilosis*, as doenças genéticas e malformações congênitas foram as mais frequentes.

A taxa de mortalidade total foi de 35,7%, sendo que *C. parapsilosis* apresentou uma taxa de 36,4% e *C. orthopsilosis*, 33,3%. Não houve diferença significativa entre as espécies ($P=0,92$). A distribuição das espécies e as características dos pacientes estão resumidas na Tabela 1.

Características dos pacientes	Espécies		
	<i>C. parapsilosis</i> n=11	<i>C. orthopsilosis</i> n=3	Todas n=14
Sexo n (%)			
Feminino	5 (45,5)	2 (66,7)	7 (50)
Masculino	6 (54,5)	1 (33,3)	7 (50)
Média de idade em anos (DP)	40 (24,8)	0,58 (0,32)	32 (26,7)
Taxa de mortalidade total# (%)	36,4	33,3	35,7
Unidades hospitalares n (%)			
Unidades médicas	3 (27,3)	0	3 (21,4)
Unidades de cirurgia	5 (45,4)	0	5 (35,7)
UTIs*	3 (27,3)	3 (100)	6 (42,9)
Fatores de risco n (%)			
Antibioticoterapia	10 (90,9)	3 (100)	13 (92,9)
Acesso venoso central	8 (72,7)	3 (100)	11 (78,6)
Cirurgia	7 (63,6)	2 (66,7)	9 (64,3)
Neutropenia	2 (18,2)	0	2 (14,3)
Nutrição parenteral	6 (54,5)	2 (66,7)	8 (57,4)
Sonda vesical	5 (45,4)	2 (66,7)	7 (50)
Doenças de base n (%)			
Câncer sólido	2 (18,2)	0	2 (14,3)
Prematuridade	0	1 (33,3)	1 (7,1)
Neoplasia hematológica	1 (9,1)	0	1 (7,1)
Doenças cardíacas	1 (9,1)	0	1 (7,1)
Doenças gastrointestinais	4 (36,4)	0	4 (28,6)
Doenças pulmonares	0	1 (33,3)	1 (7,1)
Doenças vasculares	1 (9,1)	0	1 (7,1)
Trauma	2 (18,2)	0	2 (14,3)
Doenças genéticas / Malformação congênita	1 (9,1)	2 (66,7)	3 (21,4)
Doenças renais	1 (9,1)	0	1 (7,1)
Diabetes Mellitus	2 (18,2)	0	2 (14,3)

Tabela 1. Unidades hospitalares, fatores de risco, doenças de base e características dos pacientes acometidos por candidemia causada por *C. parapsilosis* (sensu lato) no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto no período entre junho de 2014 e novembro de 2015. *Unidade de terapia intensiva. # A mortalidade da candidemia foi calculada 14 dias após o diagnóstico.

Quanto à sensibilidade aos antifúngicos, apenas um isolado de *C. parapsilosis* apresentou suscetibilidade dose-dependente ao fluconazol. Os demais isolados foram suscetíveis aos antifúngicos testados. Os resultados dos testes de sensibilidade estão resumidos na Tabela 2.

Espécie	Antifúngico	CIM ($\mu\text{g/mL}$)			
		Intervalo	CIM média* \pm DP	CIM 50	CIM 90
<i>C. parapsilosis</i> n=11	Anfotericina B	0,25 – 1	0,64 \pm 0.3	0,5	1
	Caspofungina	0,25 – 1	0,50 \pm 0.24	0,5	1
	Fluconazol	0,25 – 4	0,53 \pm 1.2	0,5	2
	Voriconazol	0,0313 – 0.0625	0,03 \pm 0.01	0,0313	0,0625
<i>C. orthopsilosis</i> n=3	Anfotericina B	0,5 – 1	0,63 \pm 0.29	0,5	1
	Caspofungina	0,125 – 0.25	0,20 \pm 0.07	0,25	0,25
	Fluconazol	0,5	0,5 \pm 0	0,5	0,5
	Voriconazol	0,0313	0,0313 \pm 0	0,0313	0,0313

Tabela 2. CIM, intervalo e média, de isolados de *C. parapsilosis* (sensu lato) frente aos antifúngicos anfotericina B, caspofungina, fluconazol e voriconazol. *Média geométrica

Quanto à produção de fatores de virulência, somente dois isolados de *C. parapsilosis* e dois de *C. orthopsilosis* foram capazes de produzir hemolisina; três isolados de *C. parapsilosis* e um de *C. orthopsilosis* foram capazes de produzir proteinase e nenhum isolado produziu fosfolipase. A produção dos fatores de virulência pode ser visualizada na Figura 1.

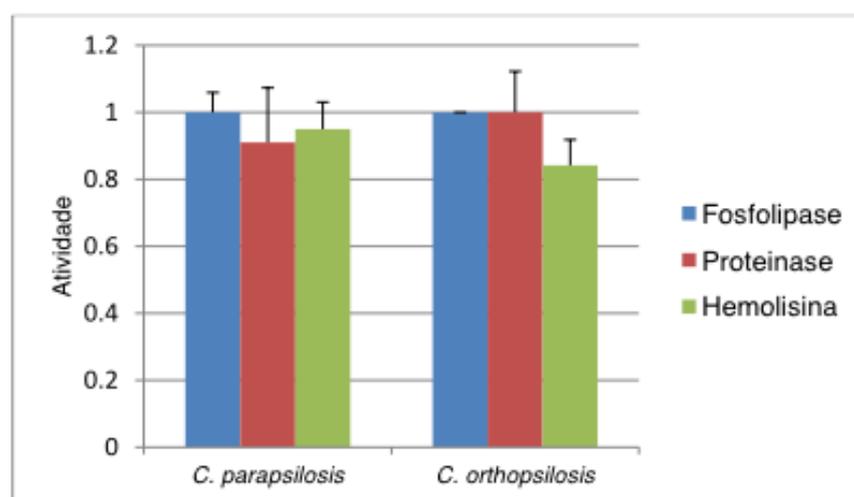


Figura 1 - Atividade das enzimas hidrolíticas extracelulares dos isolados de *C. parapsilosis* (sensu lato) obtidos de pacientes internados no Hospital das Clínicas da FMRP – USP. Fonte: o autor.

Quanto à formação de biofilme, cinco isolados de *C. parapsilosis* e dois isolados de *C. orthopsilosis* apresentaram capacidade de formação de biofilme em placas de

poliestireno, em 24h. Os valores de absorvância da atividade metabólica foram de 0,0021 a 0,0619; e os valores correspondentes à biomassa dos biofilmes foram de 0,0220 a 0,7925.

Após a formação de biofilme, a sensibilidade aos antifúngicos foi reduzida, e em muitos casos os isolados se tornaram resistentes. Os resultados estão descritos na tabela 3.

Espécie	Antifúngico	CIMb ($\mu\text{g/mL}$)	
		Intervalo CIMb 50	Intervalo CIMb 80
<i>C. parapsilosis</i> n=5	Anfotericina B	0,5 - 128	4 - 128
	Caspofungina	0,5 - 8	2 - 128
	Fluconazol	32- 2018	64 - >2018
	Voriconazol	0,5 - > 512	1 - > 512
<i>C. orthopsilosis</i> n=2	Anfotericina B	1 - 8	8 - 32
	Caspofungina	0,25 - 2	0,5 - 128
	Fluconazol	32 - 128	64 - 1024
	Voriconazol	32 - 128	128

Tabela 3. Intervalo de CIMb para isolados de *C. parapsilosis* (sensu lato) aos antifúngicos anfotericina B, caspofungina, fluconazol e voriconazol.

Agenotipagem por PFGE gerou 17 PFGE-tipos, com um Índice de Discriminação de 1,0. Um limite de similaridade de 75% dividiu os isolados em três grupos, correspondentes às três espécies do complexo. Dois grupos de isolados de *C. parapsilosis* e um grupo de isolados de *C. orthopsilosis* foram considerados geneticamente relacionados: PFGE-A (isolados 5 e 6), PFGE-B (isolados 3, 8, 10, 11, 14) e PFGE-C (isolados 12 e 13) (Figura 2). Os isolados do grupo PFGE-A foram isolados no mesmo mês, de pacientes do sexo feminino que apresentaram antibioticoterapia e cirurgia como fatores de risco. Os isolados do grupo PFGE-B foram isolados de pacientes que fizeram uso de acesso venoso central. Já os isolados do grupo PFGE-C foram isolados de pacientes do sexo feminino, internadas em UTIs (em unidades diferentes), que fizeram uso de antibioticoterapia, acesso venoso central e nutrição parenteral e apresentaram um desfecho positivo para o episódio de candidemia.

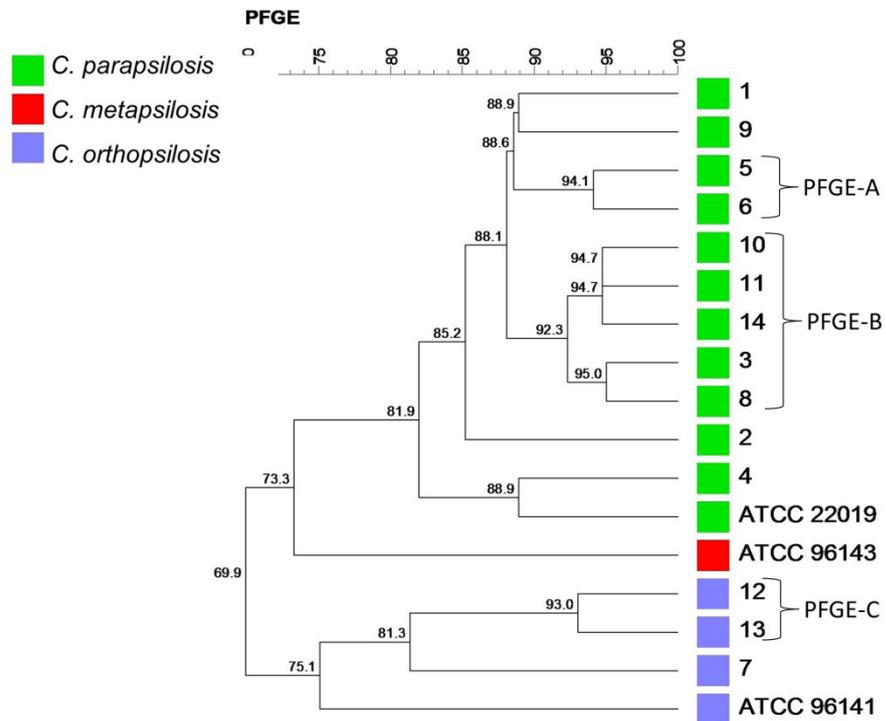


Figura 2 – Dendrograma de similaridade genética gerado a partir do perfil de bandas, obtido pela técnica de PFGE, para os 14 isolados de *C. parapsilosis* (sensu lato) estudados. Fonte: o autor

Os resultados de MLP não indicaram isolados geneticamente idênticos ou relacionados (Figura 3). O índice de discriminação dessa técnica foi 1.

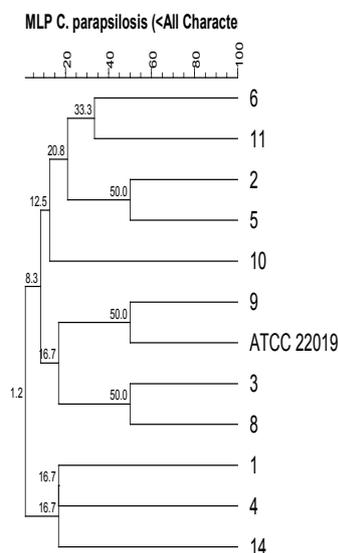


Figura 3 - Dendrograma de similaridade genética, gerado a partir do polimorfismo de microssatélites, para os 11 isolados de *C. parapsilosis* estudados. Fonte: o autor

4 | DISCUSSÃO

A candidemia é uma doença importante no mundo todo e é associada a altas taxas de mortalidade, prolongamento do tempo de hospitalização e altos custos

hospitalares (SARDI et al., 2013; PEMÁN; QUINDÓS, 2016). As infecções provocadas por *C. parapsilosis*, tornaram-se mais frequentes nos últimos anos e superaram aquelas provocadas por *C. albicans* em alguns locais (ŞULAR et al., 2018; KATO et al., 2019; SUN et al., 2019). As práticas hospitalares, bem como o perfil dos pacientes atendidos, influenciam na incidência de candidemia, o que torna os estudos locais fundamentais (YAPAR, 2014; VALLABHANENI et al., 2016).

Como esperado, a incidência de *C. parapsilosis* foi maior do que de *C. orthopsilosis*. Ainda, não houve candidemia provocada por *C. metapsilosis*. O mesmo foi observado por Blanco-Blanco e colaboradores (2014) e Taj-Aldeen e colaboradores (2014). Entretanto, Chen e colaboradores (2010) relataram incidência semelhante entre *C. metapsilosis* e *C. orthopsilosis*. No estudo de Tsai e colaboradores (2018), em um hospital pediátrico, a incidência de *C. metapsilosis* foi maior que de *C. orthopsilosis*.

A média de idade dos pacientes acometidos por *C. orthopsilosis* foi menor que um ano e, apesar do número reduzido de isolados, esse resultado é semelhante a estudos anteriores (BLANCO-BLANCO et al., 2014, TAJ-ALDEEN et al., 2014). Já os pacientes acometidos por *C. parapsilosis* apresentaram média de idade superior, 32 anos. Sun e colaboradores (2019) observaram uma média de idade de 55,5 anos em pacientes com câncer acometidos por candidemia por *C. parapsilosis*. Entretanto, no estudo de Şular e colaboradores (2018), a incidência de *C. parapsilosis* foi maior entre os pacientes pediátricos.

Os fatores de risco são comuns em pacientes com candidemia e, no presente estudo, a maioria dos pacientes apresentou um ou mais desses fatores. No estudo de Sun e colaboradores (2019), neutropenia e uso de nutrição parenteral foram relacionados como fatores de risco para o desenvolvimento de candidemia por *C. parapsilosis* e a presença de neoplasias hematológicas também foi relacionada com episódios de candidemia provocados por essa espécie. A relação entre uso de nutrição parenteral e o desenvolvimento de candidemia por *C. parapsilosis* já foi reconhecido em vários estudos: essa espécie apresenta facilidade de desenvolvimento em soluções para nutrição parenteral (BLANCO-BLANCO et al., 2014). No presente estudo, mais da metade dos pacientes acometidos por *C. parapsilosis* fizeram uso de nutrição parenteral, entretanto, somente um paciente apresentava neoplasia hematológica como doença de base. Quanto aos pacientes acometidos por *C. orthopsilosis*, dois terços fizeram uso de nutrição parenteral. No estudo de Blanco-Blanco e colaboradores (2014), todos os pacientes acometidos por *C. orthopsilosis* fizeram uso desse tipo de nutrição; entretanto, menos da metade dos pacientes acometidos por *C. parapsilosis* apresentaram esse fator de risco.

A taxa de mortalidade total não apresentou diferença significativa entre as duas espécies e foi de 35,7%. A espécie *C. parapsilosis* já foi relacionada a menores taxas de mortalidade quando comparadas a outras espécies envolvidas em episódios de candidemia (KATO et al., 2019). A taxa de mortalidade obtida para *C. orthopsilosis* foi igual à obtida no estudo de Tsai e colaboradores (2018).

A suscetibilidade aos antifúngicos é essencial para o sucesso do tratamento. No presente estudo, apenas um isolado de *C. parapsilosis* apresentou suscetibilidade dose-dependente ao fluconazol. No estudo de Sun e colaboradores (2019), todos os isolados dessa espécie apresentaram-se suscetíveis aos antifúngicos testados. Alguns estudos com *C. parapsilosis* reportaram diminuição da atividade dos antifúngicos azólicos frente a essa espécie (PERLIN; SHOR; ZHAO, 2015; SANGUINETTI; POSTERARO; LASS-FLÖRL, 2015). Tsai e colaboradores (2018) observaram boa atividade de anfotericina B, caspofungina e voriconazol frente aos isolados de *C. orthopsilosis*, entretanto, um isolado dessa espécie apresentou sensibilidade reduzida ao itraconazol.

A produção de fatores de virulência é parte importante do processo de infecção. No presente estudo, poucos isolados foram capazes de produzir hemolisina e proteinase e nenhum foi capaz de produzir fosfolipase. A produção desses fatores é bem estabelecida em *C. albicans*, que é relatada em vários estudos como a principal produtora dos mesmos (TAY et al., 2011; DE LUCA et al.; 2012; MUTLU SARIGUZEL et al., 2015).

Acredita-se que a maioria das infecções causadas por *Candida* spp. envolva a formação de biofilme na superfície de tecidos e em implantes médicos (ROSATO et al., 2016). No presente estudo, 50% dos isolados foram classificados como formadores de biofilme. Os resultados da atividade metabólica de biofilmes de *C. parapsilosis* (*latu sensu*) podem ser difíceis de discutir devido à alta variabilidade intrínseca, e o fato de que a atividade metabólica não reflete necessariamente a quantidade de biomassa (BRILHANTE et al., 2019). Quando em biofilmes, a maioria dos isolados clínicos foi resistente aos antifúngicos testados, considerando-se os valores de pontos de corte determinados pelo CLSI para células planctônicas, já que não há, até o momento, valores estabelecidos para biofilmes fúngicos.

As técnicas de genotipagem são utilizadas para a elucidação de rotas de transmissão, bem como para avaliar a variabilidade genética dos isolados. No presente estudo, as técnicas de PFGE e MLP geraram resultados conflitantes: enquanto a técnica de PFGE gerou grupos de isolados geneticamente relacionados, a técnica de MLP resultou em alta variabilidade genética. Enquanto alguns relataram menor variabilidade genética entre isolados de *C. parapsilosis*, outros encontraram maior variabilidade entre isolados dessa espécie (CHEN et al., 2010; MIRANDA et al., 2012; Da SILVA RUIZ et al., 2013; BARBEDO et al., 2015; MAGOBO et al., 2017). Esses resultados divergentes mostram a importância de se utilizar técnicas baseadas em diferentes princípios para avaliar a variabilidade genética dos isolados.

5 | CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesse estudo mostram que a espécie *Candida parapsilosis* é a mais frequente do complexo em episódios de candidemia no hospital estudado.

Entretanto, estudos contínuos são necessários para monitorar e investigar a epidemiologia e sensibilidade das espécies do complexo *Candida parapsilosis*, uma vez que as mesmas são fenotipicamente indistinguíveis e podem ser erroneamente identificadas. Ainda, o uso de diferentes técnicas é importante quando a variabilidade genética dos isolados for pesquisada. Finalmente, apesar de muitos dos resultados obtidos serem semelhantes aos de outros estudos, diferenças foram encontradas, confirmando que estudos locais são essenciais para o desenvolvimento de estratégias que contribuam para a diminuição da incidência dessa doença, bem como técnicas de manejo para a mesma.

6 | AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP-2013/23485-0 e 2014/10628-0) pelo suporte financeiro, à Coleção de Micro-organismos de Referência em Vigilância Sanitária (CMRVS) pela cessão da linhagem *C. metapsilosis* INCQS 40329 (ATCC 96143), ao Professor Doutor Roberto Martinez e à farmacêutica Lúcia Vitali pela cessão dos isolados clínicos, e à Professora Doutora Juliana Pfrimer Falcão e à Doutora Miliane Rodrigues Frazão pelo auxílio na realização das técnicas de genotipagem.

REFERENCIAS

ABDELJELIL, J. et al. Molecular typing of *Candida albicans* isolates from patients and health care workers in a neonatal intensive care unit. **Journal of Applied Microbiology**, v. 111, n. 5, p. 1235-1249, 2011.

BARBEDO, L. S. et al. Different scenarios for *Candida parapsilosis* fungaemia reveal high numbers of mixed *C. parapsilosis* and *Candida orthopsilosis* infections. **Journal of Medical Microbiology**, v. 64, n. Pt 1, p. 7-17, 2015.

BLANCO-BLANCO, M. T. et al. *Candida orthopsilosis* fungemias in a Spanish tertiary care hospital: incidence, epidemiology and antifungal susceptibility. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 31, n. 2, p. 145-148, 2014.

BRILHANTE, R. S. N et al. Exposure of *Candida parapsilosis* complex to agricultural azoles : An overview of the role of environmental determinants for the development of resistance. **Science of the Total Environment**, v. 650, n. Pt 1, p. 1231-1238, 2019.

CHEN, K. W et al. Comparison of four molecular typing methods to assess genetic relatedness of *Candida albicans* clinical isolates in Taiwan. **Journal of Medical Microbiology**, v. 54, n. Pt 3, p. 249-258, 2005.

CHEN, Y. C. et al. Molecular epidemiology and antifungal susceptibility of *Candida parapsilosis* sensu stricto, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* in Taiwan. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 68, n. 3, p. 284-292, 2010.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts**. Approved Standard M27-A3. Wayne: CLSI, 2008.

_____. **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Forth Informational Supplement.** CLSI document M27-S4. Wayne: CLSI, 2012.

_____. **Epidemiological Cutoff Values for Antifungal Susceptibility Testing.** CLSI document M59. Wayne: CLSI, 2016.

DA SILVA RUIZ, L. et al. Outbreak of fungemia caused by *Candida parapsilosis* in a neonatal intensive care unit: molecular investigation through microsatellite analysis. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 30, n. 2, p. 112-115, 2013.

DE LUCA, C. et al. Candidemia: species involved, virulence factors and antimycotic susceptibility. **New Microbiologica**, v. 35, n. 4, p. 459-468, 2012.

FENG, X. et al. Identification and differentiation of *Candida parapsilosis* complex species by use of exon-primed intron-crossing PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, n. 5, p. 1758-1761, 2014.

GONG, X. et al. Invasive candidiasis in intensive care units in China: Risk factors and prognoses of *Candida albicans* and non-*albicans* *Candida* infections. **American Journal of Infection Control**, v. 44, n. 5, p. e59-63, 2016.

HEO, S. M. et al. Genetic relationships between *Candida albicans* strains isolated from dental plaque, trachea, and bronchoalveolar lavage fluid from mechanically ventilated intensive care unit patients. **Journal of Oral Microbiology**, v. 3, 2011.

HUNTER, P. R.; GASTON, M. A. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 26, n. 11, p. 2465-2466, 1988.

KATO, H. et al. Mortality and risk factor analysis for *Candida* blood stream infection: A multicenter study. **Journal of Infection and Chemotherapy**, 2019.

LUO, G.; SAMARANAYAKE, L. P.; YAU, J. Y. *Candida* species exhibit differential in vitro hemolytic activities. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 8, p. 2971-2974, 2001.

MAGOBO, R. E. et al. Detection of neonatal unit clusters of *Candida parapsilosis* fungaemia by microsatellite genotyping: Results from laboratory-based sentinel surveillance, South Africa, 2009-2010. **Mycoses**, v. 60, n. 5, p. 320-327, 2017.

MANE, A. et al. Increased expression of virulence attributes in oral *Candida albicans* isolates from human immunodeficiency virus-positive individuals. **Journal of Medical Microbiology**, v. 61, n. Pt 2, p. 285-290, 2012.

MIRANDA, L. et al. *Candida parapsilosis* candidaemia in a neonatal unit over 7 years: a case series study. **BMJ Open**, v. 2, n. 4, 2012.

MUTLU SARIGUZEL, F. et al. Investigation of the relationship between virulence factors and genotype of *Candida* spp. isolated from blood cultures. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 9, n. 8, p. 857-864, 2015.

PANNANUSORN, S.; FERNANDEZ, V.; RÖMLING, U. Prevalence of biofilm formation in clinical isolates of *Candia* species causing bloodstream infection. **Mycoses**, v. 56, p. 264-272, 2013.

PEMÁN, J.; QUINDÓS, G. Current aspects of invasive diseases caused by *Candida* and other yeast fungi. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 33, n. 3, p. 133-139, 2016.

PERLIN, D. S.; SHOR, E.; ZHAO, Y. Update on Antifungal Drug Resistance. **Current Clinical Microbiology Reports**, v. 2, n. 2, p. 84-95, 2015.

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

PIERCE, C. G. et al. A 96 well microtiter plate-based method for monitoring formation and antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* biofilms. **Journal of Visualized Experiments**, v. 44, p. e.2287, 2010.

QUINDÓS, G. Epidemiology of candidaemia and invasive candidiasis. A changing face. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 31, p. 42-48, 2014.

ROSATO, A. et al. In vitro interactions between anidulafingina and nonsteroidal anti-inflammatory drugs on biofilms of *Candida* spp. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 24, v. 5, p. 1002-1005, 2016.

SABINO, R. et al. New Polymorphic Microsatellite Markers Able to Distinguish among *Candida parapsilosis* Sensu Stricto Isolates. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 5, p. 1677-1682, 2010.

SANGUINETTI, M.; POSTERARO, B.; LASS-FLÖRL, C. Antifungal drug resistance among *Candida* species: mechanisms and clinical impact. **Mycoses**, v. 58, Suppl 2, p. 2-13, 2015.

SARDI, J. C. O. et al. A Mini Review of *Candida* Species in Hospital Infection: Epidemiology, Virulence Factor and Drugs Resistance and Prophylaxis. **Tropical Medicine & Surgery**, v. 1, n. 5, p. 141, 2013.

SHIN, J. H. et al. Electrophoretic karyotype analysis of sequential *Candida parapsilosis* isolates from patients with persistent or recurrent fungemia. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 4, p. 1258-1263, 2001.

SILVA, S. et al. Biofilms of non-*Candida albicans* *Candida* species: quantification, structure and matrix composition. **Medical Mycology**, v. 47, n. 7, p. 681-689, 2009.

ŞULAR, F. L. et al. Invasive Fungal Infection in Romania: Changing Incidence and Epidemiology During Six Years of Surveillance in a Tertiary Hospital. **Mycopathologia**, v. 183, n. 6, p. 967-972, 2018.

SUN, M. et al. Increase in *Candida parapsilosis* Candidemia in Cancer Patients. **Mediterranean Journal of Hematology and Infection Disease**, v. 11, n. 1, p. e2019012, 2019.

TAJ-ALDEEN, S. J. et al. Epidemiology of candidemia in Qatar, the Middle East: performance of MALDI-TOF MS for the identification of *Candida* species, species distribution, outcome, and susceptibility pattern. **Infection**, v. 42, n. 2, p. 393-404, 2014.

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

TAY, S. T. et al. Proteinase, phospholipase, biofilm forming abilities and antifungal susceptibilities of Malaysian *Candida* isolates from blood cultures. **Medical Mycology**, v. 49, n. 5, p. 556-560, 2011.

TSAI, M. H. et al. Candidemia due to uncommon *Candida* species in children: new threat and impacts on outcomes. **Scientific Reports**, v. 8, p. 15239, 2018.

VALLABHANENI, S. et al. The Global Burden of Fungal Diseases. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 30, n. 1, p. 1-11, 2016.

YAPAR, N. Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, v. 10, p. 95-105, 2014.

ZICCARDI, M. et al. *Candida parapsilosis* (sensu lato) isolated from hospitals located in the Southeast of Brazil: Species distribution, antifungal susceptibility and virulence attributes. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 305, n. 8, p. 848-859, 2015.

SOBRE OS ORGANIZADORES

LETÍCIA BANDEIRA MASCARENHAS LOPES Farmacêutica, Graduada em Farmácia pelo Centro Universitário INTA (UNINTA). Especialista em caráter de Residência Multiprofissional em Urgência e Emergência (SCMS e UNINTA), especialista em Gestão e Logística Hospitalar pela Universidade Cândido Mendes (UCAM), pós - graduanda em Farmácia Clínica e Cuidados Farmacêutico, pela Escola Superior da Amazônia (ESAMAZ), pós - graduanda em Análises Clínicas e Microbiologia pela Universidade Cândido Mendes (UCAM).

TIAGO SOUSA MELO Possui graduação em FARMÁCIA pela Universidade Federal do Ceará (2009). Doutor em Biotecnologia em Saúde pela Rede Nordeste de Biotecnologia RENORBIO. Atualmente é professor dos Cursos de Farmácia e Odontologia e gestor de pesquisa do curso de Farmácia do Centro Universitário INTA. Também exerce atividade como tutor da Residência Multiprofissional em Urgência e Emergência da Santa Casa de Misericórdia de SobralCE. Tem experiência na área de Farmacologia Pré-Clínica de Produtos Naturais, com ênfase no estudo de plantas medicinais com ação em distúrbios metabólicos (diabetes, dislipidemia e obesidade) e Farmacologia Clínica.

Agência Brasileira do ISBN

ISBN 978-85-7247-323-1



9 788572 473231