

# Micologia: Fungos e/ou seus Metabólitos como Objeto de Estudo



Benedito Rodrigues da Silva Neto  
(Organizador)

# Micologia: Fungos e/ou seus Metabólitos como Objeto de Estudo

Benedito Rodrigues da Silva Neto  
(Organizador)

2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Diagramação:** Camila Alves de Cremo

**Edição de Arte:** Lorena Prestes

**Revisão:** Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

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

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa

Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia

Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá

Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima

Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões

Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros

Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice

Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão

Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará

Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste

Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador

Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia  
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará  
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília  
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília  
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira  
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Fernando José Guedes da Silva Júnior – Universidade Federal do Piauí  
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco  
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas  
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá  
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto

Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí  
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

### **Conselho Técnico Científico**

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo  
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza  
Prof. Me. Adalto Moreira Braz – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba  
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Andrezza Miguel da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia  
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais  
Prof<sup>a</sup> Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar  
Prof<sup>a</sup> Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos  
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas  
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará  
Prof<sup>a</sup> Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília  
Prof<sup>a</sup> Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco  
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás  
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil  
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases  
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita  
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí  
Prof<sup>a</sup> Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora  
Prof. Dr. Fabiano Lemos Pereira – Prefeitura Municipal de Macaé  
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo  
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária  
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina  
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro  
Prof<sup>a</sup> Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia  
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College  
Prof<sup>a</sup> Ma. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho  
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará  
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay  
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco

Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
 Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA  
 Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis  
 Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR  
 Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
 Profª Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará  
 Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ  
 Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás  
 Prof. Me. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe  
 Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados  
 Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná  
 Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos  
 Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior  
 Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo  
 Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
 Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco  
 Prof. Me. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados  
 Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal  
 Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo  
 Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana  
 Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)</b> (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
M619	<p>Micologia [recurso eletrônico] : fungos e/ou seus metabólitos como objeto de estudo / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.</p> <p>Formato: PDF            Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader            Modo de acesso: World Wide Web            Inclui bibliografia            ISBN 978-65-5706-161-9            DOI 10.22533/at.ed.619200207</p> <p>1. Micologia. 2. Fungos. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da.  <span style="float: right;">CDD 589.2</span></p>
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior   CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
 Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
 contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

Micologia é o estudo de microrganismos eucariontes que possuem parede celular rígida, membrana e organelas, apresentando aspectos leveduriformes e/ou filamentos morfológicamente. Trata-se, portanto, de uma área de estudo ampla que atrai diversos pesquisadores em diferentes campos científicos, tecnológicos e industriais.

Sabemos que os fungos são microrganismos que possuem uma diversidade de características únicas que refletem em seu modo de vida, nas suas interações e na sua aplicabilidade. A grande maioria das espécies fúngicas ainda é um vasto campo de estudo para os micologistas, assim como suas características individuais e formas de desenvolvimento no ambiente ou no hospedeiro

O Brasil é uma referência em se tratando de estudos em micologia, principalmente na subárea que denominamos micologia médica, tanto pelos pesquisadores precursores quanto pela nova geração armada com as evoluções biotecnológicas e moleculares. O uso de estratégias biotecnológicas tem sido primordial na pesquisa com fungos. A vasta diversidade fúngica apresenta grande potencial, principalmente associada à estudos de aplicações biotecnológicas, como no campo ambiental, farmacêutico, industrial, agrícola, alimentício, genômico dentre outros.

É um privilégio organizar e compartilhar conhecimento na obra “Micologia: fungos e/ou seus metabólitos como objeto de estudo” publicada pela editora Atena, por se tratar de um material extremamente interessante e muito bem produzido por seus autores que evidencia essa área tão importante. Como pesquisador da área desejo que esse primeiro volume seja apenas o início e que desperte o interesse dos acadêmicos atraindo pesquisadores da micologia médica e áreas correlatas para publicação em novos volumes com esse foco.

Desejo à todos uma excelente leitura!

Benedito Rodrigues da Silva Neto

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
A DISSEMINAÇÃO DA ESPOROTRICOSE ZOONÓTICA PELO BRASIL E PELO NORDESTE BRASILEIRO: UMA REVISÃO INTEGRATIVA	
Jayane Omena de Oliveira Laís Nicolly Ribeiro da Silva Davi Porfírio da Silva Rodrigo José Nunes Calumby Rossana Teotônio de Farias Moreira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.6192002071</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>11</b>
AÇÃO DE COMPOSTOS DE <i>Piper aduncum</i> L. NA INIBIÇÃO DA GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS DE HORTALIÇAS	
Ananda dos Santos Vieira Solange de Mello Vêras André Correa de Oliveira Rita de Cassia Saraiva Nunomura	
<b>DOI 10.22533/at.ed.6192002072</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>22</b>
ANTIFUNGAL ACTIVITY OF MUSHROOM (AGARICALES) EXTRACTS FOR CONTROL OF <i>Fusarium graminearum</i>	
Marina Giombelli Rosenberger Roberta Paulert Vagner Gularte Cortez	
<b>DOI 10.22533/at.ed.6192002073</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>32</b>
ATIVIDADES BIOLÓGICAS E PROSPECÇÃO QUÍMICA DE EXTRATOS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE <i>Duroia macrophylla</i> HUBER (RUBIACEAE)	
Juliana Gomes de Souza Oliveira Cecilia Veronica Nunez	
<b>DOI 10.22533/at.ed.6192002074</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>44</b>
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LIPOLÍTICA DE <i>Monascus ruber</i> FRENTE AO RESÍDUO DE SORVETE	
Vitória Cristina Santiago Alves Emanuella Maria da Conceição Sarah Signe do Nascimento Thales Henrique Barbosa de Oliveira Luana Maria Cavalcanti Teixeira Hugo Marques Galindo Renata Aczza Alves Cândido Norma Buarque de Gusmão	
<b>DOI 10.22533/at.ed.6192002075</b>	
<b>CAPÍTULO 6</b> .....	<b>47</b>
AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE <i>Pleurotus eryngii</i> (DPUA 1816) A PARTIR DA BATATA-DOCE CASCA ROXA	
Cleudiane Pereira de Andrade Aldiane Passos de Oliveira	

Luana Araújo Martins  
Rafael Lopes e Oliveira  
Larissa de Souza Kirsch

**DOI 10.22533/at.ed.6192002076**

**CAPÍTULO 7 ..... 58**

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA SUSCEPTIBILIDADE DE *CANDIDA ALBICANS* AO FLUCONAZOL  
UTILIZANDO DIFERENTES MEIOS DE CULTURA

Edinaira Sulany Oliveira de Sousa  
Silviane Bezerra Pinheiro  
João Vicente Braga de Sousa  
Ana Cláudia Alves Cortez

**DOI 10.22533/at.ed.6192002077**

**CAPÍTULO 8 ..... 60**

CARACTERIZAÇÃO DE ESPÉCIES DE *Candida* ISOLADAS DA MUCOSA ORAL DE PACIENTES PRÉ E  
PÓS-CIRURGIA PARA IMPLANTE DENTÁRIO

Eulélia Antônio de Barros  
Vivianny Aparecida Queiroz Freitas  
Andressa Santana Santos  
Carolina Rodrigues Costa  
Antonio Márcio Teodoro Cordeiro Silva  
Milton Camplesi Junior  
Fábio Silvestre Ataides

**DOI 10.22533/at.ed.6192002078**

**CAPÍTULO 9 ..... 72**

CRESCIMENTO DE *CRYPTOCOCCUS GATTII* EM MEIO DE CULTURA FEITO A PARTIR DE  
SERRAPILHEIRA DO SOLO DA FLORESTA AMAZÔNICA

Silviane Bezerra Pinheiro  
Edinaira Sulany Oliveira de Sousa  
João Vicente Braga de Souza

**DOI 10.22533/at.ed.6192002079**

**CAPÍTULO 10 ..... 74**

ESTUDO SOBRE A DIVERSIDADE DE FUNGOS ZOOSPÓRICOS QUE OCORRERAM NO LAGO DO  
PURAQUEQUARA, MANAUS, AMAZONAS

Jean Ludger Barthelemy  
Maria Ivone Lopes Da Silva

**DOI 10.22533/at.ed.61920020710**

**CAPÍTULO 11 ..... 98**

FATORES DE VIRULÊNCIA DE LEVEDURAS DO GÊNERO *CANDIDA* EM CAVIDADE BUCAL E PRÓTESES  
DENTÁRIAS DE IDOSOS DE UMA UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE – TEFÉ – AM

Ellen Roberta Lima Bessa  
Daniela Marinho da Silva  
Giselle Diniz Guimarães da Silva  
Fernando José Herkrath  
Ormezinda Celeste Cristo Fernandes

**DOI 10.22533/at.ed.61920020711**

**CAPÍTULO 12 ..... 103**

ISOLAMENTO DE FUNGOS FILAMENTOSOS E PADRONIZAÇÃO DO CULTIVO DO MICRO-ORGANISMO ISOLADO *Aspergillus* sp. MB 2.7 PARA PRODUÇÃO DE LIPASES

Mábilli Mitalli Correia de Oliveira

Adeline Cristina Pereira Rocha

Barbhara Mota Marinho

Vivian Machado Benassi

**DOI 10.22533/at.ed.61920020712**

**CAPÍTULO 13 ..... 115**

OCORRÊNCIA DE FUNGOS ASSOCIADOS AO TRATO DIGESTIVO DE ABELHAS SEM FERRÃO *Melipona seminigra* MERRILLAE COCKERELL, 1919

João Raimundo Silva De Souza

Melquiades De Oliveira Costa

Maria Ivone Lopes Da Silva

Carlos Gustavo Nunes Da Silva

**DOI 10.22533/at.ed.61920020713**

**CAPÍTULO 14 ..... 123**

INFLUÊNCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *CYMBOPOGON FLEXUOSUS* SOBRE A SUSCETIBILIDADE E FATORES DE VIRULÊNCIA DE LEVEDURAS DO COMPLEXO *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS*

Lucas Daniel Quinteiro de Oliveira

Lúcia Kioko Hasimoto e Souza

Maria do Rosário Rodrigues Silva

Benedito Rodrigues da Silva Neto

**DOI 10.22533/at.ed.61920020714**

**CAPÍTULO 15 ..... 134**

PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE *Candida* sp.

Regiane Nogueira Spalanzani

Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos-Weiss

**DOI 10.22533/at.ed.61920020715**

**CAPÍTULO 16 ..... 149**

SCREENING DE FUNGOS FILAMENTOSOS VOLTADO PARA A PRODUÇÃO DE ENZIMAS

Inaiá Ramos Aguiar

Mônica Stropa Ferreira-Nozawa

**DOI 10.22533/at.ed.61920020716**

**CAPÍTULO 17 ..... 157**

SELEÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS PRODUTORES DE LIPASE

Vitória Cristina Santiago Alves

Fábio Figueiredo de Oliveira

Marcela Vanessa Dias da Costa

Sarah Signe do Nascimento

Joenny Maria da Silveira de Lima

Cristina Maria de Souza-Motta

**DOI 10.22533/at.ed.61920020717**

**SOBRE O ORGANIZADOR..... 161**

**ÍNDICE REMISSIVO ..... 162**

## PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE *Candida* sp.

Data de aceite: 01/06/2020

Data de submissão: 29/04/2020

### Regiane Nogueira Spalanzani

Universidade Federal do Paraná, Departamento de Análises Clínicas.  
Curitiba, PR.

<http://lattes.cnpq.br/3073595609161469>

### Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos-Weiss

Universidade Federal do Paraná. Departamento de Análises Clínicas.  
Curitiba, PR.

<http://lattes.cnpq.br/2824121047365672>

**RESUMO:** Em indivíduos saudáveis, leveduras do gênero *Candida* fazem parte de microbiota gastrointestinal e genitourinária. Entretanto, em condições favoráveis, estes podem resultar em infecções fúngicas. Devido às diversas manifestações clínicas e dificuldades no diagnóstico e tratamento, as infecções fúngicas representam uma das infecções mais importantes entre pacientes hospitalizados e imunocomprometidos. Apesar de *Candida albicans* ser a principal espécie associada às infecções fúngicas, houve um aumento na incidência de espécies *Candida* não-*albicans*,

como *C. glabrata* e *C. krusei*, relatadas como menos sensíveis aos antifúngicos. Visto que o tratamento antifúngico varia de acordo com a espécie, a rápida identificação e a avaliação do perfil de susceptibilidade antifúngica podem auxiliar no manejo clínico do paciente com infecção, além de contribuir para o monitoramento de espécies resistentes. O objetivo deste trabalho foi descrever os principais métodos de identificação fenotípica e de avaliação da susceptibilidade antifúngica e, apresentar um fluxograma de orientação visando o rápido diagnóstico em casos de suspeita de infecções invasivas por *Candida* sp. Entre os métodos de identificação fenotípica, destacam-se os métodos convencionais, ágar cromogênico e os métodos automatizados, como o MALDI-TOF-MS. Apesar das vantagens da realização do teste de susceptibilidade antifúngica, o teste não é realizado com frequência na rotina laboratorial. A partir da padronização da avaliação da susceptibilidade antifúngica publicada pelo CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), diversos métodos foram desenvolvidos para reduzir custos, facilitar e adequar a rotina laboratorial, tais como o E-test, Sensititre YeastOne e Vitek 2.

**PALAVRAS-CHAVE:** Infecções fúngicas, *Candida* sp., Susceptibilidade antifúngica.

## MAIN METHODS OF LABORATORY DIAGNOSIS AND ANTIFUNGAL SUSCEPTIBILITY EVALUATION OF CANDIDA SP.

**ABSTRACT:** In healthy individuals, yeasts of the genus *Candida* are part of the gastrointestinal and genitourinary microbiota. However, under favorable conditions, it can result in fungal infections. Due to the diverse clinical manifestations and to the difficulties in diagnosis and treatment, fungal infections represent one of the most important infections among hospitalized and immunocompromised patients. Although *Candida albicans* is the main species associated with fungal infections, there was an increase in the incidence of non-*Candida albicans* species, such as *C. glabrata* and *C. krusei*, reported as less sensitive to antifungal agents. Since the antifungal treatment varies according to the species, the rapid identification and the antifungal susceptibility profile evaluation can help in the clinical management of the infected patient, besides contributing to the monitoring of resistant species. The objective of this work was to describe the main methods of phenotypic identification and evaluation of antifungal susceptibility and to present an orientation flowchart aimed at the rapid diagnosis in cases of suspected *Candida* sp. invasive infections. Among the main phenotypic identification methods, stand out the conventional methods, chromogenic agar and automated methods, as MALDI-TOF-MS. Despite the advantages of performing the antifungal susceptibility test, it's not often performed in a laboratory routine. After the antifungal susceptibility standardization published by CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), several methods have been developed to reduce costs, facilitate and adapt to laboratory routine, such as the E-test, Sensititre YeastOne and Vitek 2.

**KEYWORDS:** Fungal Infections, *Candida* sp., Antifungal Susceptibility.

### 1 | INTRODUÇÃO

As infecções fúngicas são comumente ocasionadas por fungos oportunistas em função de um aumento na sua colonização aliado à baixa imunidade local ou geral do indivíduo, que podem levar a infecções graves com alto risco de mortalidade (PAPPAS et al., 2018). Apresentam diversas manifestações clínicas que dificultam o diagnóstico clínico e laboratorial e, conseqüentemente, o tratamento do paciente (GIACOMAZZI et al., 2016).

De acordo com Giacomazzi e colaboradores (2016), no Brasil, as infecções fúngicas podem afetar em torno de 3,8 milhões de indivíduos, incluindo infecções recorrentes e infecções invasivas. Entre os pacientes hospitalizados, as infecções fúngicas invasivas representam uma das infecções mais importantes, principalmente em pacientes internados em unidades de tratamento intensivo, devido à alta susceptibilidade e complexidade de outras doenças presentes (SINGH et al., 2016).

Os principais fatores de risco associados às infecções fúngicas invasivas são: o uso de antibióticos de amplo espectro e de imunossupressores, cateteres e instrumentos intravasculares, traqueostomia, cateteres urinários, assim como a infecção por HIV (*human immunodeficiency vírus*) e *diabetes mellitus* (DOI et al., 2016; SINGH et al., 2016; ALFOUZAN et al., 2017.).

As infecções fúngicas invasivas são caracterizadas pela obtenção do fungo a partir de cultura de sangue ou outra amostra estéril acompanhada de sinais de infecção (PAPPAS et al., 2018). A maioria destas infecções são causadas por espécies do gênero *Candida* (SINGH et al., 2016; SIQUEIRA et al., 2018). Leveduras do gênero *Candida* fazem parte da microbiota gastrointestinal e geniturinária de indivíduos saudáveis (ALFOUZAN et al., 2017). Entretanto, as espécies de *Candida* são patógenos oportunistas que em condições favoráveis podem causar infecções fúngicas, principalmente em pacientes imunocomprometidos ou hospitalizados, assim como em pacientes com doenças degenerativas ou neoplásicas (PUIG et al., 2017; SIQUEIRA et al., 2018). No Brasil, estima-se que em torno de 74% das infecções fúngicas sejam causadas por *Candida* sp. (GIACOMAZZI et al., 2016).

Apesar de *Candida albicans* ser a espécie frequentemente associada a infecções fúngicas, tem sido relatado um aumento na incidência de espécies *Candida* não-*albicans* (CNA), tais como *C. glabrata* e *C. krusei*, intrinsecamente menos sensíveis aos azóis (QUINDÓS et al., 2014; SINGH et al., 2016; GONZÁLEZ-LARA et al., 2017; SIQUEIRA et al., 2018).

Em um estudo multicêntrico retrospectivo realizado por Doi e colaboradores (2016) em 5 regiões diferentes no Brasil, de 2007 a 2010, as espécies CNA representaram 65,7% do total de espécies de *Candida* isoladas em casos de infecção invasiva. O aparecimento de espécies CNA com menor susceptibilidade a diversos antifúngicos destaca a importância da rápida identificação da espécie de *Candida* e do estudo do perfil de susceptibilidade em pacientes hospitalizados e imunocomprometidos devido à alta mortalidade associada (PUIG et al., 2017).

A identificação laboratorial de *Candida* sp. pode ser realizada por métodos convencionais, sorológicos e espectrometria de massa, assim como métodos moleculares tais como RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) e RAPD (*randomly amplified polymorphic DNA*) (ALAM et al., 2014).

Com a emergência de espécies resistentes aos antifúngicos disponíveis, a determinação do perfil de susceptibilidade torna-se cada vez mais importante e, com isso, a partir da padronização do teste de susceptibilidade antifúngica para leveduras pelo CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), novos métodos automatizados e semi-automatizados foram desenvolvidos para simplificar e diminuir custos do procedimento (CUENCA-ESTRELLA et al., 2010).

Métodos de identificação e avaliação da susceptibilidade *in vitro* auxiliam o manejo

clínico de pacientes com infecção, como também contribuem para o monitoramento da epidemiologia de espécies resistentes (SIQUEIRA et al., 2018). Apesar da disponibilidade de diversos antifúngicos, o risco de mortalidade varia de 30 a 70%, sendo a principal causa o diagnóstico tardio (GONZÁLEZ-LARA et al., 2017). Assim, são necessários métodos apropriados e mais rápidos de identificação da espécie de *Candida* e a avaliação da susceptibilidade antifúngica para definir o tratamento antifúngico adequado.

## 2 | OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho foi descrever os principais métodos de identificação e de avaliação da susceptibilidade antifúngica de espécies de *Candida* e ressaltar os métodos mais indicados para estes processos. Além disso, propor um fluxograma de orientação para o correto e rápido diagnóstico em casos de suspeita de infecção por *Candida* sp.

## 3 | METODOLOGIA

O levantamento bibliográfico foi realizado através de publicações sobre os principais métodos de identificação de *Candida* sp. e de avaliação da susceptibilidade antifúngica, mediante consulta às bases de dados Medline PubMed (*US. National Library of Medicine National Institutes of Health*), ScienceDirect (Elsevier), SpringerLink (Springer) e SciELO (*Scientific Electronic Library Online*).

## 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO

Após a obtenção de colônias puras de leveduras, sem contaminação bacteriana ou com mais de uma espécie, deve-se realizar o repique em meio de cultura ASD (ágar Sabouraud-Dextrose) para sua identificação. O ASD é comumente utilizado nos laboratórios de micologia por ser relativamente barato e permitir o crescimento e isolamento das leveduras (ANVISA, 2013). Os testes fenotípicos são comumente utilizados para identificação das diferentes espécies de *Candida* na rotina laboratorial, com base na morfologia, fisiologia e propriedades bioquímicas. Entretanto, os resultados obtidos são presuntivos, sendo necessário mais de um teste para que a identificação seja precisa (NEPPELENBROEK et al., 2014).

Para espécies do gênero *Candida*, os métodos de identificação mais comuns são: pesquisa de tubo germinativo e microcultivo em ágar fubá + tween 80 (ANVISA, 2013), além disso, a ANVISA destaca o uso de ágares cromogênicos para isolamento e identificação

presuntiva de *Candida* sp.

#### 4.1.1 4Métodos Convencionais

Os testes convencionais de identificação são baseados nas características morfológicas e fisiológicas, e podem levar de 24 a 48h, ou até mais, para completa identificação (ALAM et al., 2014). São incluídos neste grupo os testes: pesquisa de tubo germinativo, microcultivo em ágar fubá + tween 80 e auxanograma (prova de assimilação de açúcares) (LACAZ et al., 2002; DEORUKHKAR et al., 2018).

A pesquisa do tubo germinativo é baseada na detecção de projeções da levedura sem constrição no ponto de inserção da célula, denominada tubo germinativo, produzido por *Candida albicans* ao ser incubado com soro humano por 2h a 37°C (NEPPELENBROEK et al., 2014; DEORUKHKAR et al., 2018). Este teste é considerado simples, econômico, eficiente e permite a rápida diferenciação de *C. albicans* de espécies CNA. Entretanto, este teste nem sempre é preciso visto que em torno de 5% das cepas de *Candida albicans* podem não produzir tubo germinativo, enquanto espécies como *C. tropicalis* e *C. dubliniensis* também podem produzir (ALAM et al., 2014).

As características morfológicas de hifas e pseudo-hifas, assim como a formação de clamidósporos, podem ser observadas ao inocular a levedura em ágar fubá + tween 80. Por ser um meio de cultura límpido, o ágar fubá permite a visualização das características morfológicas diretamente no microscópio (LACAZ et al., 2002), o que torna possível a diferenciação das espécies de *Candida*. Além disso, a adição de tween 80 (polissorbato) no meio de cultura facilita a formação de clamidósporos, hifas e pseudo-hifas (DEORUKHKAR et al., 2018). Apesar de ser um método relativamente de baixo custo, está em desuso para identificação de espécies de *Candida*, sendo mais utilizado para identificação de fungos filamentosos.

Devido a capacidade de *Candida* sp. assimilar um carboidrato específico como única fonte de carbono, é possível realizar a identificação da espécie por meio da prova de assimilação de carboidratos (DEORUKHKAR et al., 2018). Este teste utiliza um meio de cultura à base de nitrogênio que permite o crescimento de leveduras após a adição e difusão local de açúcar no meio. A assimilação de carboidrato é verificada se houver halo produzido ao redor do local onde o açúcar foi adicionado (NEPPELENBROEK et al., 2014). Apesar da simplicidade, este método é demorado, sendo necessário até 72h de incubação para avaliação dos resultados.

Algumas espécies podem ser facilmente confundidas no momento da identificação. *Candida dubliniensis*, por exemplo, pode ser identificada erroneamente como *C. albicans* devido à produção de clamidósporos e à capacidade de formar tubo germinativo (DEORUKHKAR et al., 2018). O teste de temperatura poderia ser empregado para a sua diferenciação. É um teste fácil e de baixo custo para a identificação de *C. dubliniensis*,

que apresenta pouco crescimento ou nenhum crescimento a 42°C, enquanto *C. albicans* apresenta bom crescimento nesta temperatura (ALAM et al., 2014; NEPPELENBROEK et al., 2014).

#### 4.1.2 Ágar Cromogênico

Os ágar cromogênicos mais utilizados são: CHROMagar™ *Candida* e CandiSelect-4™. Ambos permitem a diferenciação entre as espécies de *Candida*, tais como *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. krusei*, baseada na ação de enzimas em diversos substratos cromogênicos, que por sua vez produzem colorações variadas (ZHAO et al., 2016; WOHLMEISTER et al., 2017; DEORUKHKAR et al., 2018).

Este método é considerado simples, apresenta boa especificidade e permite avaliação dos resultados após 24 a 48h de incubação (NEPPELENBROEK et al., 2014). Apesar dos resultados obtidos serem fenotípicos, a identificação é presuntiva, relativamente rápida, e pode favorecer o paciente visto que a terapia inicial pode ser direcionada para a espécie em potencial. Além disso, o uso de ágar cromogênico é importante para detectar coinfeção por mais de uma espécie de *Candida* ou até mesmo evitar mais de uma espécie na mesma amostra durante a avaliação da susceptibilidade (ROSENVINGE et al., 2012; ZHAO et al., 2016).

#### 4.1.3 Métodos Semi-Automatizados

Entre os sistemas semi-automatizados destacam-se os sistemas API *Candida* e o sistema AUXACOLOR, ambos relatados como sistemas comerciais simples, de rápida e precisa identificação de espécies de *Candida* (CAMPBELL et al., 1999).

O sistema API *Candida* consiste na utilização de uma tira de plástico descartável que contém 10 poços para a realização de 12 testes bioquímicos e colorimétricos: 5 testes de assimilação de açúcares e 7 testes enzimáticos. A inoculação baseia-se na reidratação dos substratos nos poços com a suspensão da amostra. Após 18 a 24h de incubação, os resultados são lidos e é obtido um perfil numérico com 4 dígitos que variam de acordo com as reações enzimáticas produzidas, e assim, um *software* disponibilizado pelo fabricante realiza a identificação (CAMPBELL et al., 1999).

Quanto ao sistema AUXACOLOR, consiste basicamente de uma microplaca de plástico descartável com 16 poços, sendo um o controle negativo. Os poços restantes são utilizados para realização dos testes bioquímicos colorimétricos. São eles: 13 testes de assimilação de açúcares, um teste de resistência a cicloheximida e um teste para detecção da enzima fenol-oxidase. A inoculação é feita com a reidratação dos substratos com a suspensão da amostra e, em seguida, incubados por 24 a 48h. Os resultados obtidos são lidos de acordo o perfil de dígitos numéricos obtidos comparados com a lista de referência disponibilizada pelo fabricante (CAMPBELL et al., 1999).

Podem ser utilizados na rotina de laboratórios microbiológicos devido à facilidade de realização do procedimento, fácil leitura e o baixo custo por teste (CAMPBELL et al., 1999).

#### 4.1.4 MALDI-TOF-MS (*Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry*)

Este método é baseado em feixes de laser que ionizam partículas previamente inseridas em uma matriz polimérica. As partículas, por sua vez, atravessam um analisador, atingem um detector e criam um espectro de massa, o qual é comparado com um espectro de referência. O tempo de chegada ao detector (*time of flight*) entre as moléculas ionizadas é diferente, isto é colocado em gráfico gerando diversos picos. Para cada espécie, o detector cria um padrão de picos, denominado espectro de massa. O espectro formado é, então, comparado à espectros de referência, resultando na identificação da espécie (PASTERNAK, 2012; ALAM et al., 2014; PUIG et al., 2017). Entre os sistemas comerciais MALDI-TOF-MS, os mais conhecidos e utilizados pelos laboratórios clínicos são: MALDI-Sepsityper, MALDI-Biotyper e Vitek-MS™. No Brasil, apenas o sistema MALDI-Sepsityper não está registrado na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2018) e, portanto, não é liberado para uso.

Em estudo realizado por Puig e colaboradores (2017), o sistema Vitek-MS identificou corretamente 89.9% das amostras a nível de espécie e 10.1% a nível de gênero. De acordo com Tran e colaboradores (2015), apesar do alto custo de investimento para obtenção do equipamento, estima-se uma economia de até 51,5% anualmente, incluindo gastos com reagentes, manutenção do equipamento e pessoal técnico.

Devido à rápida identificação, alta sensibilidade e especificidade, os métodos MALDI-TOF-MS podem ser uma boa alternativa frente aos métodos convencionais (ROSENVINGE et al., 2012). Entretanto, Puig e colaboradores (2017) destacam a necessidade de aprimorar estudos com espécies menos frequentemente encontradas, como *C. lusitaniae*, assim como espécies do complexo *C. parapsilosis*. Além disso, erros na identificação de espécies fenotipicamente semelhantes, como *C. albicans* e *C. dubliniensis*, têm sido relatados na literatura, sendo necessário utilizar outro método para diferenciação (HOF et al., 2012).

Bal e McGill (2018) associaram a rápida identificação de espécies de *Candida* com a melhora da resposta no tratamento antifúngico, visto que, dependendo da espécie identificada, o perfil de susceptibilidade antifúngica é previsível. Assim, o tratamento adequado é administrado rapidamente, o que leva à redução da mortalidade.

#### 4.1.5 Métodos Automatizados

Nos últimos anos, foram desenvolvidos diversos métodos automatizados para utilização em laboratórios microbiológicos, como o sistema Vitek YBC (Yeast Biochemical Card), Vitek 2 ID-YST e o sistema BD Phoenix Yeast ID, ambos desenvolvidos para acelerar a identificação de leveduras de interesse clínico (MARUCCO et al., 2018). O sistema BD Phoenix Yeast ID utiliza painéis que realizam testes bioquímicos de fermentação, oxidação, degradação e hidrólise de vários substratos, incluindo substratos cromogênicos e fluorogênicos, além de substratos que contêm apenas uma fonte de carbono.

De acordo com Posteraro e colaboradores (2013), os resultados do sistema BD Phoenix são disponibilizados entre 4 a 12h, enquanto o sistema de identificação Vitek 2 ID-YST leva até 18h para liberação, o que permite economia de tempo de 6 até 14h quando o sistema BD Phoenix é utilizado em vez do sistema Vitek 2.

A identificação pelo sistema BD Phoenix é uma alternativa efetiva para laboratórios que não possuem a tecnologia MALDI-TOF-MS por permitir rapidez e confiabilidade na identificação de leveduras na rotina laboratorial (POSTERARO et. al., 2013; MARUCCO et al., 2018).

## 4.2 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA

Devido ao aumento das infecções fúngicas e à emergência da resistência às drogas antifúngicas, os testes de susceptibilidade tem se tornado cada vez mais importantes (SIQUEIRA et al., 2018). Apesar da existência de um método padronizado, métodos alternativos de avaliação da susceptibilidade foram desenvolvidos com o objetivo de diminuir o tempo de procedimento e de liberação dos resultados.

### 4.2.1 Microdiluição em caldo

Entre os diversos métodos disponíveis, a microdiluição em caldo padronizada e publicada pelo CLSI em 2008, é o padrão-ouro para avaliação da susceptibilidade antifúngica de *Candida* sp. Este teste permite avaliar o crescimento de espécies de *Candida* em diferentes concentrações de antifúngicos preparadas por diluições seriadas. A menor concentração que inibe ou diminui em até 50% do crescimento fúngico comparado ao controle, sem antifúngico, é determinada de concentração inibitória mínima (CIM).

As etapas são realizadas manualmente, divididas principalmente entre preparação das diluições dos antifúngicos e soluções a serem utilizadas, preparo do inóculo, leitura e interpretação da CIM (SIQUEIRA et al., 2018). A leitura da CIM é subjetiva se realizada visualmente, porém, para contornar essa desvantagem, a inibição do crescimento fúngico pode ser avaliada em espectrofotômetro e quantificada em porcentagem em relação ao crescimento controle (PAPPAS et al., 2018).

A microdiluição em caldo é um excelente teste para determinar o perfil de susceptibilidade de *Candida* sp. e, principalmente, para identificar espécies resistentes

(PAPPAS et al., 2018). Entretanto, por apresentar custo elevado e por demandar tempo, não é frequentemente utilizada nos laboratórios microbiológicos. Além disso, nem todos os antifúngicos estão disponíveis comercialmente.

A partir da padronização realizada pelo CLSI, métodos comerciais automatizados e semi-automatizados foram desenvolvidos com o objetivo de simplificar a avaliação da susceptibilidade antifúngica, além de diminuir custos e permitir a obtenção de resultados mais rápidos (CUENCA-ESTRELLA et al., 2010). Entre os métodos desenvolvidos, destacam-se os métodos E-test, Vitek 2 e Sensititre YeastOne.

#### 4.2.2 E-test

Apesar da padronização da microdiluição em caldo pelo CLSI, muitos laboratórios não realizam a avaliação da susceptibilidade antifúngica na rotina em função da metodologia ser trabalhosa e demorada. Com princípio similar ao método de difusão em disco, o E-test é um método alternativo que permite avaliar a susceptibilidade antifúngica de maneira prática e menos demorada que o padrão-ouro (ABBES et al., 2012; KUMAR et al., 2015).

O método é baseado no inóculo de uma suspensão da amostra em placa com meio de cultura, seguida da aplicação de uma tira impregnada com concentrações predefinidas e crescentes de um único antifúngico (POSTERARO e SANGUINETTI, 2014). Posteriormente, a placa é incubada a 35°C por 24-48h. O halo formado representa a zona de inibição de crescimento de *Candida* sp. e permite identificar a CIM quando este toca na fita (SONG et al., 2015).

Entre os meios de cultura utilizados, o Agar Casitona é considerado o melhor meio para E-test por apresentar resultados semelhantes ao método de microdiluição em caldo. Entretanto, o meio de cultura com melhor reprodutibilidade interlaboratorial e recomendado para esta metodologia é o meio RPMI 1640 (ABBES et al., 2012).

Entre os antifúngicos disponíveis destacam-se o posaconazol, a anfotericina B, o fluconazol, o itraconazol, o voriconazol e a caspofungina (ABBES et al., 2012; KUMAR et al., 2015).

Por apresentar uma metodologia mais simples, rápida e com resultados compatíveis com o método de microdiluição em caldo, o E-test pode ser uma alternativa ao padrão-ouro (KOGA-ITO et al., 2008; POSTERARO & SANGUINETTI, 2014; KUMAR et al., 2015; SONG et al., 2015). Entretanto, a subjetividade é inevitável na leitura da CIM obtida e nem todos os antifúngicos estão disponíveis para esta metodologia (PAPPAS et al., 2018).

#### 4.2.3 Sensititre YeastOne

Baseado na microdiluição em caldo, o Sensititre YeastOne é um método colorimétrico comercial, que dispõe placas de 96 poços com diversos antifúngicos em diferentes concentrações juntamente com o indicador colorimétrico de crescimento, alamarBlue™ (Thermo Fisher), ambos liofilizados (ABBES et al., 2012; POSTERARO & SANGUINETTI,

2014).

Entre os antifúngicos disponíveis neste teste, destacam-se: fluconazol, voriconazol, posaconazol, ravuconazol, anidulafungina, caspofungina e micafungina (PFALLER et al., 2004; PFALLER et al., 2008). Comercialmente, é possível adquirir placa com 8 antifúngicos: 5-flucitosina, anfotericina B, caspofungina, cetoconazol, fluconazol, itraconazol, voriconazol e posaconazol (ABBES et al., 2012). Além desta opção, é disponibilizado também placa com anidulafungina e micafungina.

O procedimento baseia-se na reidratação do liofilizado com a suspensão da levedura a ser identificada. Em seguida, a placa é selada e incubada por 24h a 35°C. A leitura da CIM é feita visualmente ao verificar a alteração da cor azul para rosa, se houver crescimento fúngico nos poços das placas (SIQUEIRA et al., 2018). Por ser relativamente mais rápido de executar e de alta correlação com o padrão-ouro (PFALLER et al., 2004; PFALLER, et al., 2008), o Sensititre YeastOne pode ser um método alternativo para avaliação da susceptibilidade antifúngica. Entre as desvantagens, destaca-se a subjetividade do analisador na interpretação da CIM e possíveis variações de temperatura no armazenamento, além de poucos antifúngicos disponíveis (PAPPAS et al., 2018).

#### 4.2.4 Método Automatizado

Comumente utilizados nos laboratórios de microbiologia, o Vitek 2 é um sistema comercial automatizado que, por meio da espectrofotometria, detecta crescimento fúngico, realiza a identificação e a determinação da CIM simultaneamente (CUENCA-ESTRELLA et al., 2010). Este método requer pouca manipulação da amostra. A leitura do resultado é automaticamente determinada e interpretada pelo *software* do sistema. Apesar da facilidade de realizar o procedimento, este método permite avaliação de somente três diluições no teste de susceptibilidade antifúngica (SIQUEIRA et al., 2018). Em estudo sobre comparação da susceptibilidade antifúngica de *Candida* sp., Alfouzan e colaboradores (2017) destacaram que o sistema Vitek 2 pode substituir o E-test, o que permite a avaliação *in vitro* da susceptibilidade antifúngica mais rapidamente.

Segundo González-Lara e colaboradores (2017), os resultados obtidos na avaliação da susceptibilidade antifúngica realizada no Vitek 2 são semelhantes ao método de microdiluição em caldo do CLSI. O mesmo foi destacado por Cuenca-Estrella e colaboradores (2010) ao encontrar alta correlação com o CLSI, estatisticamente significativa ( $p < 0.01$ ). Além disso, o método direto Vitek 2 identifica com precisão a maioria das espécies de *Candida* e pode reduzir tempo (13h a 18h) de obtenção dos resultados preliminares (GONZÁLEZ-LARA et al., 2017).

### 4.3 FLUXOGRAMA

Conforme revisão de literatura realizada e o que foi apresentado neste trabalho,

propomos um fluxograma para auxiliar e direcionar o profissional do laboratório em casos de suspeita de infecção por *Candida* sp., visando o rápido diagnóstico em infecções invasivas. A partir de colônias isoladas em ágar Sabouraud Dextrose, recomenda-se realizar repique em ágar cromogênico, visto que este permite uma identificação presuntiva da espécie de *Candida*, e partir para identificação e avaliação da susceptibilidade antifúngica. Os ágar cromogênicos, como o CHROMagar® *Candida*, permitem a visualização de múltiplas espécies em casos de coinfeção e auxiliam no direcionamento do tratamento antifúngico inicial a partir da espécie identificada. A recomendação proposta neste trabalho é apresentada na **Figura 1**.

Entre os métodos automatizados recomenda-se o Vitek 2, visto que este realiza ambos os testes: de identificação fenotípica e de avaliação da susceptibilidade antifúngica. Já para metodologias não automatizadas, recomenda-se identificação da espécie por métodos convencionais e, para avaliar a susceptibilidade antifúngica, recomenda-se a utilização do método Sensitre YeastOne, devido maior praticidade e simplicidade da técnica.

Os métodos convencionais representam um marco na identificação de *Candida* sp. Apesar de demandarem em torno de 72h para obtenção de resultados, estes métodos são comumente utilizados na rotina com o auxílio das novas metodologias para diagnóstico complementar. Em razão das limitações dos testes convencionais, diferentes métodos comerciais foram desenvolvidos para facilitar a identificação de espécies de *Candida*.

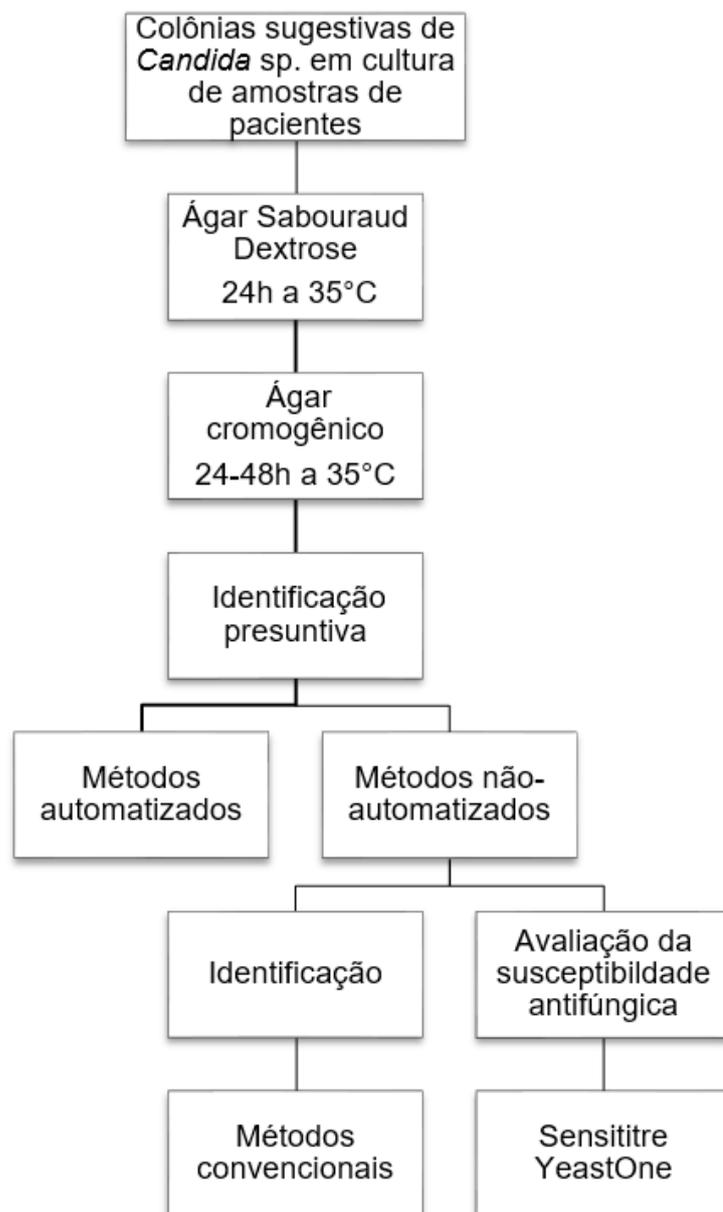


Figura 1 – FLUXOGRAMA DE RECOMENDAÇÃO PARA DIAGNÓSTICO DE INFECÇÕES INVASIVAS POR ESPÉCIES DE *CANDIDA*

De acordo com a demanda, o método MALDI-TOF-MS é uma excelente alternativa para identificação visto que permite rápida obtenção dos resultados, além de ser de fácil execução e interpretação. O custo para obtenção do equipamento é elevado, entretanto, o valor por teste realizado é bem reduzido, tornando-o um método com excelente custo-benefício. Apesar das vantagens do método, vale ressaltar a importância de se realizar ao menos um teste complementar para identificação.

A microdiluição em caldo ainda é o padrão-ouro para avaliação da susceptibilidade antifúngica de *Candida* sp., porém, por ser trabalhoso e de maior custo, não é o método de escolha nos laboratórios de microbiologia. Entre os diversos métodos existentes para teste de susceptibilidade antifúngica, o método Sensitre YeastOne é uma alternativa simples, prática e de rápida execução para ser utilizada na rotina.

Os métodos automatizados apresentam os melhores resultados em relação à

rapidez, precisão e acurácia na obtenção de resultados de identificação e avaliação da susceptibilidade antifúngica. É o método de escolha na maioria dos laboratórios clínicos devido sua praticidade e facilidade de manuseio.

## 5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

A rápida identificação da espécie de *Candida*, especialmente em hemocultura, pode auxiliar no manejo clínico da infecção e permitir a melhor escolha de tratamento, principalmente em pacientes com elevado risco de desenvolver infecção fúngica invasiva. Entretanto, a identificação precisa ser específica, pois erros de identificação podem resultar em terapia imprópria visto que a susceptibilidade é baseada na espécie identificada.

Devido ao elevado número de infecções por *Candida* sp. em pacientes hospitalizados, ao aumento na incidência de espécies resistentes aos antifúngicos e ao alto risco de mortalidade associado, destaca-se a importância da realização dos testes de susceptibilidade antifúngica. Estes testes não são realizados na rotina dos laboratórios de microbiologia devido ao alto custo e tempo de procedimento.

Com o objetivo de adequar o tratamento antifúngico e reduzir o risco de mortalidade em pacientes susceptíveis, destaca-se a relevância dos estudos de vigilância que permitem o acompanhamento da incidência das espécies resistentes em casos de infecções por *Candida* sp., além de permitirem a elaboração de novas estratégias para a rápida e correta identificação da espécie.

## REFERÊNCIAS

ABBES, S.; TRABELSI, H.; AMOURI, I.; SALLEMI, H.; NEJ, S.; FATMA, C.; MAKNI, F.; AYADI, A. **Méthodes d'étude de La sensibilité in vitro de Candida spp. aux antifongiques.** *Annales de Biologie Clinique.* v. 70, n. 6, p. 635-642, 2012.

ALAM, M. Z.; ALAM, Q.; JIMAN-FATANI, A.; KAMAL, M. A.; ABUZENADAH, A. M.; CHAUDHARY, A. G.; AKRAM, M.; HAQUE, A. **Candida identification: a journey from conventional method to molecular methods in medical mycology.** *World Journal of Microbiology and Biotechnology.* v. 30, n. 5, p. 1437-1451, 2014.

ALFOUZAN, W.; AL-ENEZI, T.; ALROOMI, E.; SANDHYA, V.; CHANDY, R.; KHAN, Z. U. **Comparison of the Vitek 2 antifungal susceptibility system with Etest using clinical isolates of Candida species.** *Revista Iberoamericana de Micología.* v. 34, n. 3, p. 171-174, 2017.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consultas. Disponível em: <<https://consultas.anvisa.gov.br/#/saude/>>. Acesso em: 20 set. 2018.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde.** Módulo 8: Detecção e identificação de fungos de importância médica – Brasília: Anvisa, 2013.

BAL, A. M. & MCGILL, M. **Rapid species identification of Candida directly from blood culture broths by Sepsityper-MALDI-TOF mass spectrometry: impact on antifungal therapy.** *Journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh.* v. 48, n. 2, p. 114-119, 2018.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing Yeasts. Approved standard-M27-A3.** Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.

CAMPBELL, C. K.; DAVEY, K. G.; HOLMES, A. D.; SZEKELY, A.; WARNOCK, D W. **Comparison of the API Candida System with the AUXACOLOR System for Identification of Common Yeast Pathogens.** Journal of Clinical Microbiology. v. 37, n. 3, p. 821-823, 1999.

CUENCA-ESTRELLA, M.; ALASTRUEY-IZQUIERDO, A.; BERNAL-MARTINEZ, L.; CUESTA, M.; BUITRAGO, M. J.; RODRIGUEZ-TUDELA, J. L. **Comparison of the Vitek 2 Antifungal Susceptibility System with the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) Broth Microdilution Reference Methods and with the Sensititre YeastOne and Etest Techniques for In Vitro Detection of Antifungal Resistance in Yeast Isolates.** Journal of Clinical Microbiology. v. 48, n. 5, p. 1782-1786, 2010.

DEORUKHKAR, S. C. & ROUSHANI, S. **Identification of Candida Species: Conventional Methods in the Era of Molecular Diagnosis.** Annals of Microbiology and Immunology. v. 1, n. 1:1002, 2018.

DOI, A. M.; PIGNATARI, A. C. C.; EDMOND, M. B.; MARRA, A. R.; CAMARGO, L. F. A.; SIQUEIRA, R. A.; MOTA, V. P. da; COLOMBO, A. L. **Epidemiology and Microbiologic Characterization of Nosocomial Candidemia from a Brazilian National Surveillance Program.** PLoS ONE: e0146909, v. 11, n. 1, p.1-9, 2016.

GIACOMAZZI, J.; BEATHGEN, L.; CARNEIRO, L. C.; MILLINGTON, M. A.; DENNING, D. W.; COLOMBO, A. L.; PASQUALOTTO, A. C. **The burden of serious human fungal infections in Brazil.** Mycoses. v. 59, n. 3, p. 145-150, 2016.

GONZÁLEZ-LARA M. F.; TORRES-GONZÁLES, P.; RANGEL-CORDER, A.; SIFUENTES-OSORNIO, J.; PONCE-DE-LEÓN, A.; MARTÍNEZ-GAMBOA, A. **Identification and Susceptibility Testing of Candida spp. Directly from yeast-positive blood cultures with Vitek-2.** Diagnostic Microbiology & Infectious Disease, v. 89, n. 3, p. 202-204, 2017.

HOF, H; EIGNER, U.; MAIER, T.; STAIB, P. **Differentiation of Candida dubliniensis from Candida albicans by means of MALDI-TOF mass spectrometry.** Clinical Laboratory. v. 58, n. 9, p. 927-931, 2012.

KOGA-ITO, C. Y.; LYON, J. P.; RESENDE, M. A. **Comparison between E-test and CLSI Broth Microdilution Method for antifungal susceptibility testing of Candida albicans oral isolates.** Revista do Instituto de Medicina Tropical. v. 50, n. 1, p. 7- 10, 2008.

KUMAR, D.; BHATTACHARYYA, S.; GUPTA, P.; BANERJEE, G.; SINGH, M. **Comparative analysis of disc diffusion and E-test with broth micro-dilution for susceptibility testing of clinical Candida isolates against amphotericin B, fluconazole, voriconazole and caspofungin.** Journal of Clinical and Diagnostic Research. v. 9, n. 11, p. 1-4, 2015.

LACAZ, C. S.; PORTO, E. MARTINS, J. E. C.; HEINS-VACCARI, E. M.; MELO, N. T. **Tratado de Micologia Médica.** 9a ed., São Paulo: Sarvier, 2002.

MARUCCO, A. P.; MINERVINI, P.; SNITMAN, G. V.; SORGE, A.; GUELFAND, L. I.; MORAL, L. L.; INTEGRANTES DE LA RED DE MICOLOGIA CABA. **Comparison of the identification results of Candida species obtained by BD Phoenix™ and Maldi- TOF (Bruker Microflex LT Biotyper 3.1).** Revista Argentina de Microbiología. v. 50, n. 4, p. 337-340, 2018.

NEPPELENBROEK, K. H.; SEÓ, R. S.; URBAN, V. M.; SILVA, S.; DOVIGO, L. N.; JORGE, J. H.; CAMPANHA, N. H. **Identification of Candida species in the clinical laboratory: a review of conventional, commercial, and molecular techniques.** Oral Diseases. v. 20, n. 4, p.329-344, 2014.

PAPPAS, P. G.; LIONAKIS, M. S.; ARENDRUP, M. C.; OSTRYSKY-ZEICHNER, L.; KULLBERG B. J. **Invasive candidiasis.** Nature Reviews Disease Primers. v. 4:18026, 2018.

PASTERNAK, J. **Novas metodologias de identificação de micro-organismos: MALDI- TOF**. Einstein (São Paulo), São Paulo, v. 10, n. 1, p. 118-119, 2012.

PFALLER, M. A.; CHATURVEDI, V.; DIEKEMA, D. J.; GHANNOUM, M. A.; HOLLIDAY, N. M.; KILLIAN, S. B.; KNAPP, C. C.; MESSER, S. A.; MISKOV, A.; RAMANI, R. **Clinical Evaluation of the Sensititre YeastOne Colorimetric Antifungal Panel for Antifungal Susceptibility Testing of the Echinocandins Anidulafungin, Caspofungin and Micafungin**. Journal of Clinical Microbiology. v. 46, n. 7, p 2155-2159, 2008.

PFALLER, M. A.; ESPINEL-INGROFF, A.; JONES, R. N. **Clinical Evaluation of the Sensititre YeastOne Colorimetric Antifungal Panel for Antifungal Susceptibility Testing of the New Triazoles Voriconazole, Posaconazole, and Ravuconazole**. Journal of Clinical Microbiology. v. 42, n. 10, p 4577-4580, 2004.

POSTERARO, B. & SANGUINETTI, M. **The future of fungal susceptibility testing**. Future Microbiology. v. 9, n. 8, p. 947-967, 2014.

PUIG, C. R. de A.; AGÜERO-BALBÍN, J.; FERNÁNDEZ-MAZARRASA, C.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L. **Evaluation of the Vitek-MS™ system in the identification of Candida isolates from bloodstream infections**. Revista Iberoamericana de Micología., 2018, no prelo.

POSTERARO, B.; RUGGERI, A.; DE CAROLIS, E.; TORELLI, R.; VELLA, A.; DE MAIO, F.; RICCIARDI, W.; POSTERARO, P.; SANGUINETTI, M. **Comparative Evaluation of BD Phoenix and Vitek 2 Systems for Species Identification of Common and Uncommon Pathogenic Yeasts**. Journal of Clinical Microbiology. v. 51, v. 11, p. 3841-3845, 2013.

QUINDÓS, G. **Epidemiology of candidaemia and invasive candidiasis. A changing face**. Revista Iberoamericana de Micología. v. 31, n. 1, p. 42-48, 2014.

ROSENVINGE, F.; DZAJIC, E.; KNUDSEN, E.; MALIG, S.; ANDERSEN, L. B.; LOVIG, A.; ARENDRUP, M.; JENSEN, T.; GAHRN-HANSEN, B.; KEMP, M. **Performance of matrix-assisted laser desorption-time of flight mass spectrometry for identification of clinical yeast isolates**. Mycoses. v. 56, n. 3, p. 229-235, 2012.

SINGH, G.; PITOYO, C. W.; ADITIANINGSIH, D.; RUMEND, C. M. **Risk factors for early invasive fungal disease in critically ill patients**. Indian Journal of Critical Care Medicine, v. 20, n. 11, p. 633-639, 2016.

SIQUEIRA, R. A.; DOI, A. M.; CROSSARA, P. P. P.; KOGA, P. C. M.; MARQUES, A. G.; NUNES, F. G.; PASTERNAK, J.; MARTINO, M. D. V. **Evaluation of two commercial methods for the susceptibility testing of Candida species: Vitek 2® and Sensititre YeastOne®**. Revista Iberoamericana de Micología, v. 35, n. 2, p. 83-87, 2018.

SONG, Y. B.; SUH, M. K.; HA, G. Y.; KIM, H. **Antifungal susceptibility Testing with Etest for Candida species Isolated from Patients with Oral Candidiasis**. Annals of Dermatology. v. 27, n. 6; p. 715-720, 2015.

TRAN, A.; ALBIN, K.; KERR, A.; JONES, M.; GILLIGAN, P. H. **Cost savings incurred by implementation of routine microbiological identification by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry**. Journal of Clinical Microbiology. v. 52, n. 8, p. 2473-2479, 2015.

WOHLMEISTER, D.; VIANNA, D. R. B.; HELFER, V. E.; CALIL, L. N.; BUFFON, A.; FUENTEFRIA, A. M.; CORBELLINI, V. A.; PILGER, D. A. **Differentiation of Candida albicans, Candida glabrata, and Candida krusei by FT-IR and chemometrics by CHROMagar™ Candida**. Journal of Microbiological Methods. v. 141, p. 121-125, 2017.

ZHAO, L.; DE HOOG, G. S.; CORNELISSEN, A.; LYU, Q.; MOU, L.; LIU, T.; VATANSHENASSAN, M.; KANG, Y. **Prospective evaluation of the chromogenic medium CandiSelect 4 for differentiation and presumptive identification of non- Candida albicans Candida species**. Fungal Biology. v. 120, p. 173-178, 2016.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Abelhas sem ferrão 10, 114, 115, 116, 118, 119, 121

Água 14, 15, 17, 35, 36, 37, 45, 51, 63, 64, 72, 74, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 92, 94, 96, 102, 104, 105, 106, 107, 117, 157

Alternative control 22

Amazônia 20, 21, 32, 33, 42, 58, 72, 73, 74, 76, 97, 101, 114, 115, 120, 121

Antagonismo 12

Antifúngica 10, 16, 19, 21, 22, 23, 43, 59, 62, 70, 122, 124, 125, 131, 133, 135, 136, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145

Aspergillus 10, 23, 24, 27, 102, 103, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 115, 118, 119, 148, 149, 152, 154, 155, 157, 159

Atividade enzimática 44, 46, 60, 61, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 102, 104, 105, 109, 110, 128, 151

### B

Basidiomycota 22, 23

Bioautografia 11, 12, 14, 16, 17, 18, 19

Bioprospecção 102, 113, 148, 150

Biotecnologia 21, 33, 44, 57, 102, 103, 114, 151, 154, 156, 157, 158, 160

### C

Candida spp. 61, 62, 63, 68, 69, 71, 97, 98, 99, 100, 145, 146

Candidíase oral 61, 68, 71, 98

Cogumelo 48, 49, 51, 53

Cryptococcus gattii 9, 72, 73, 123, 131

Cryptococcus neoformans 10, 72, 73, 122, 123, 131, 132

Cultivo submerso 32, 35, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 106

Cytopogon flexuosus 122, 123

### D

Diversidade 7, 9, 33, 34, 41, 74, 76, 80, 89, 93, 94, 95, 96, 116, 149

### E

Enzimas 10, 44, 45, 49, 54, 60, 66, 68, 69, 99, 102, 103, 111, 112, 113, 129, 138, 148, 150, 151, 152, 153, 154, 156, 157, 158

Esporotricose 8, 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10

Essential oils 21, 123

Extrato aquoso 11, 12, 55

## F

Fatores de virulência 9, 10, 60, 62, 68, 69, 70, 97, 98, 99, 101, 122, 123, 131

Fluconazol 9, 58, 60, 61, 64, 67, 68, 69, 124, 141, 142

Fontes nutricionais 48, 50

Fungos 2, 7, 8, 9, 10, 2, 11, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 32, 33, 35, 37, 38, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 49, 54, 57, 73, 74, 75, 77, 93, 94, 95, 96, 99, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 123, 134, 137, 145, 148, 149, 150, 152, 153, 154, 156, 157, 158, 160

Fungos endofíticos 8, 10, 20, 32, 33, 35, 37, 38, 41, 42, 43, 156, 157

Fungos filamentosos 10, 73, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 112, 113, 114, 137, 148, 149, 150, 152, 153, 154, 156, 157

Fusariosis 22, 23, 29

## G

Gatos domésticos 1, 6, 7

## I

Idosos 9, 97, 98, 99, 101

Infecções fúngicas 10, 62, 68, 133, 134, 135, 140

Intestino 114, 115, 116, 117, 119

## L

Lipase 10, 44, 45, 46, 102, 103, 105, 106, 109, 110, 111, 112, 113, 155, 156, 157, 158, 159

## M

Metabolismo secundário 33

## N

Natural products 22, 23, 30, 41, 42, 123, 132

Nordeste brasileiro 8, 1, 8, 9

## P

Pectinases 148, 149, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157

Phytopathogen 22, 24, 27, 29

## R

Resíduos agroindustriais 44, 148, 156

Resistência fúngica 61

## S

Solo 9, 2, 3, 7, 13, 21, 72, 74, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 94, 96, 124

Susceptibilidade antifúngica 133, 142, 143, 145

## T

Transmissão zoonótica 1, 2, 3, 6, 7, 8, 9

## V

Virulence factors 61, 71, 98, 101, 123

## Z

Zoospóricos 9, 74, 75, 76, 80, 93, 94, 95, 96

 **Atena**  
Editora

**2 0 2 0**