



MICROBIOLOGIA:

Avanços através dos séculos e constante atualizações tecnológicas

Daniela Reis Joaquim de Freitas
(ORGANIZADORA)

**Atena**
Editora
Ano 2021



MICROBIOLOGIA:

Avanços através dos séculos e constante atualizações tecnológicas

Daniela Reis Joaquim de Freitas
(ORGANIZADORA)

**Atena**
Editora
Ano 2021

Editora chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Editora executiva

Natalia Oliveira

Assistente editorial

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Camila Alves de Cremo

Daphynny Pamplona

Gabriel Motomu Teshima

Luiza Alves Batista

Natália Sandrini de Azevedo

Imagens da capa

iStock

Edição de arte

Luiza Alves Batista

2021 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2021 Os autores

Copyright da edição © 2021 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. 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.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial**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

Profª Drª Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí

Profª Drª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina
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
Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
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 Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federacão do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro – Universidade do Vale do Sapucaí
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Welma Emidio da Silva – Universidade Federal Rural de Pernambuco

Microbiologia: avanços através dos séculos e constante atualizações tecnológicas

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Bruno Oliveira
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Organizadora: Daniela Reis Joaquim de Freitas

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

M626 Microbiologia: avanços através dos séculos e constante atualizações tecnológicas / Organizadora Daniela Reis Joaquim de Freitas. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2021.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5983-633-8

DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.338212311>

1. Microbiologia. I. Freitas, Daniela Reis Joaquim de (Organizadora). II. Título.

CDD 579

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access, desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

APRESENTAÇÃO

A Microbiologia é uma das áreas da Ciências Biológicas que mais cresceu nas últimas décadas. Seu emprego na área da indústria alimentícia, farmacêutica, de reciclagem, biotecnológica entre outras tem sido enorme; e a compreensão de quadros patológicos causados por diferentes micro-organismos em humanos, animais e até em plantas tem sido favorecida devido aos avanços tecnológicos na área médica e de diagnóstico laboratorial.

O livro “Microbiologia: Avanços através dos séculos e constantes atualizações tecnológicas” é uma obra atualizada, composta por trabalhos científicos na forma de artigos originais e de revisão, todos relacionados a esta área de conhecimento, que vai desde o cultivo e triagem de micro-organismos a análise da atividade antibacteriana de extratos de plantas, ou atividade de enzimas ou de fermentação de micro-organismos na indústria alimentícia, e até formação de biofilme e atividade antifúngica de diferentes moléculas.

São 9 capítulos nos quais serão discutidos avanços desta área da ciência e serão revistos conceitos importantes dentro da Microbiologia básica, Bacteriologia e Micologia, além de discutir o papel da tecnologia para a obtenção dos resultados encontrados. A discussão destes temas é feita de forma dinâmica e facilitada, com uma linguagem acessível para estudantes e profissionais.

Este livro, assim como todas as publicações da Atena Editora, passou pela revisão de um Comitê de pesquisadores com mestrado e doutorado em programas de pós-graduação renomados no Brasil. O resultado disto é um trabalho de excelente qualidade, atualizado e devidamente revisado por pares que será apresentado a você, nosso leitor.

Boa leitura!


Daniela Reis Joaquim de Freitas

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DAS FOLHAS E FLORES DA *Turnera subulata* (FLOR DO GUARUJÁ)


Maria Lucidalva Ribeiro de Sousa
Isabela Ribeiro de Albuquerque
Luana Priscilla Roque Moura
Bruna Silva da Rocha
Kelly Cristina da Silva Martins
Janaína da Costa Nogueira
Adriana Dantas Gonzaga de Freitas

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.3382123111>

CAPÍTULO 2..... 11

APLICAÇÃO DE ENZIMAS EM INDÚSTRIAS ALIMENTÍCIAS


Mylena Sales Palma Passos
Adeline Cristina Pereira Rocha
Thiago Machado Pasin
Vivian Machado Benassi

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.3382123112>

CAPÍTULO 3..... 27

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DO EXTRATO DA CASCA E POLPA DO TUCUMÃ (*Astrocaryum aculeatum*) FRENTE A BACTÉRIAS PATOGÊNICAS


Maria Lucidalva Ribeiro de Sousa
Isabela Ribeiro de Albuquerque
Luana Priscilla Roque Moura
Bruna Silva da Rocha
Kelly Cristina da Silva Martins
Janaína da Costa Nogueira
Adriana Dantas Gonzaga de Freitas

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.3382123113>

CAPÍTULO 4..... 36

LIPASES: REVISÃO E APLICAÇÃO INDUSTRIAL

Rafaela Lopes da Silveira
Adeline Cristina Pereira Rocha
Vivian Machado Benassi


 <https://doi.org/10.22533/at.ed.3382123114>

CAPÍTULO 5..... 50

AVALIAÇÃO *IN SILICO* DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO ÓLEO ESSENCIAL FOLIAR DE COLÔNIA (*Alpinia zerumbet*)

Suelen Carneiro de Medeiros
Igor Lima Soares
Gleilton Weyne Passos Sales

Mary Anne Medeiros Bandeira

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.3382123115>

CAPÍTULO 6..... 61

PRINCIPAIS MICRORGANISMOS ENVOLVIDOS NA FERMENTAÇÃO DE ALIMENTOS

Taynara Ellen Romero Batistela

Dâmaris Cristine Landgraf

Daniele Cassiano Feliciano

Sara Mataroli de Godoy

Daniele Sartori

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.3382123116>


CAPÍTULO 7..... 68

QUALIDADE HIGIÊNICO SANITÁRIA E FÍSICO-QUÍMICA DA CASTANHA-DO-BRASIL E SEUS DERIVADOS COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE CHAPECÓ - SC

Daniela Varnier

Filomena Marafon

Débora Carneiro Leite

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.3382123117>

CAPÍTULO 8..... 80

APLICACIÓN DE PCR Y MALDITOF EN LA IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS DEL GÉNERO *CANDIDA*


Alejandra Paula Espinosa Taxis

Débora Vázquez Domínguez

David Iván Loaiza Toscuento

Eulogio Valentín Gómez

Teresita Spezzia Mazzocco

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.3382123118>

CAPÍTULO 9..... 93

FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS Y SENSIBILIDAD A ANTIFÚNGICOS DE *Candida albicans*, *Candida tropicalis* Y *Candida glabrata*

Alejandra Paula Espinosa Taxis

Débora Vázquez Domínguez

David Iván Loaiza Toscuento

Teresita Spezzia Mazzocco

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.3382123119>

SOBRE A ORGANIZADORA..... 104

ÍNDICE REMISSIVO..... 105

CAPÍTULO 8

APLICACIÓN DE PCR Y MALDITOF EN LA IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS DEL GÉNERO *CANDIDA*

Data de aceite: 01/11/2021

Data de submissão: 15/10/2021

Alejandra Paula Espinosa Taxis

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla,
Puebla. Centro de Investigaciones en Ciencias
Microbiológicas. Puebla, Puebla
<https://orcid.org/0000-0002-6402-7902>

Débora Vázquez Domínguez

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla,
Puebla. Centro de Investigaciones en Ciencias
Microbiológicas. Puebla, Puebla
<https://orcid.org/0000-0002-5466-9792>

David Iván Loaiza Toscuento

Instituto Nacional de Astrofísica y Óptica
Electrónica. Coordinación de Óptica. Puebla,
Puebla
<https://orcid.org/0000-0003-1669-4900>

Eulogio Valentín Gómez

Universidad de Valencia. Departamento
de Microbiología y Ecología, Facultad de
Farmacia. Valencia, España
<https://orcid.org/0000-0002-7895-9460>

Teresita Spezzia Mazzocco

Instituto Nacional de Astrofísica y Óptica
Electrónica. Coordinación de Óptica. Puebla,
Puebla
<https://orcid.org/0000-0002-1203-2697>

RESUMEN: En los últimos años el padecimiento por hongos oportunistas incrementó notablemente, siendo la candidiasis la micosis

más frecuente. La candidiasis es una micosis oportunista ocasionada por levaduras del género *Candida*. Esta micosis es generalmente de origen endógeno, y puede localizarse a nivel superficial, en tejido celular subcutáneo y, en casos extremos, en órganos y tejidos. Hasta hace algunos años *C. albicans* era la especie reportada con mayor frecuencia, pero su incidencia ha ido disminuyendo a expensas del aumento de especies no *albicans*, como *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, *C. auris* entre otras, las cuales pueden conducir desde una infección cutánea sin sintomatología hasta una infección sistémica con consecuencias fatales en el paciente, pudiendo constituir un importante problema de salud intrahospitalario. Por lo tanto, la identificación rápida y precisa de las levaduras del género *Candida*, es importante para la aplicación del tratamiento efectivo en estadios tempranos de la enfermedad, la disminución de cepas resistentes, incrementando las posibilidades de supervivencia del paciente. Su identificación se basa en pruebas atendiendo criterios fenotípicos y genotípicos como la PCR especie-específico y espectrometría de masas (MALDITOF), que son útiles, disminuyen el tiempo de identificación y aumentan la sensibilidad y especificidad para identificar microorganismos a nivel de especie. En este capítulo trataremos el uso de PCR y MALDITOF para la identificación de las especies del género *Candida* y los resultados obtenidos en nuestro grupo con X cepas de *Candida*.

PALABRAS CLAVE: Candidiasis, *Candida* spp., PCR, MALDITOF.

APPLICATION OF PCR AND MALDITOF IN THE IDENTIFICATION OF YEAST OF THE GENUS CANDIDA

ABSTRACT: In recent years, the disease caused by opportunistic fungi has increased notably, with candidiasis being the most frequent mycosis. Candidiasis is an opportunistic fungal infection caused by yeasts of the genus *Candida*. This mycosis is generally of endogenous origin, and can be located superficially, in subcutaneous cellular tissue and, in extreme cases, in organs and tissues. Until a few years ago *C. albicans* was the most frequently reported species, but its incidence has been decreasing at the expense of the increase of non-albicans species, such as *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, *C. auris* among others, which can lead from a skin infection without symptoms to a systemic infection with fatal consequences for the patient, and may constitute an important inpatient health problem. Therefore, the rapid and accurate identification of yeasts of the genus *Candida* is important for the application of effective treatment in early stages of the disease, the reduction of resistant strains, increasing the chances of survival of the patient. Its identification is based on tests attending phenotypic and genotypic criteria such as species-specific PCR and mass spectrometry (MALDITOF), which are useful, decreasing the identification time and increasing the sensitivity and specificity to identify microorganisms at the species level. In this chapter we will discuss the use of PCR and MALDITOF for the identification of species of the genus *Candida* and the results obtained in our group with 35 clinical strains of *Candida*.

KEYWORDS: Candidiasis, *Candida* spp., PCR, MALDITOF.

1 | INTRODUCCIÓN

El género *Candida* abarca una variedad de más de 400 levaduras asexuales. En individuos sanos las especies de *Candida* son consideradas como levaduras comensales, de hecho, solo un número limitado de *Candidas* se comportan como patógenos oportunistas, las conocidas hasta el 2014 son: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Candida guilliermondii*, *Candida lusitanae*, *Candida dubliniensis*, *Candida pelliculosa*, *Candida kefyr*, *Candida lipolytica*, *Candida famata*, *Candida inconspicua*, *Candida rugosagensis*(Yapar). Y más recientemente *Candida auris*, que es posiblemente la especie más peligrosa de *Candida* conocida, dada su resistencia a múltiples fármacos y su alta mortalidad.

Las infecciones por *Candida* son la principal causa de infecciones micóticas en el mundo, además, se han convertido en la cuarta causa más común de infecciones sistémicas nosocomiales, asociadas con una tasa bruta de mortalidad del 39%(Sandhu et al.) La especie de *C. albicans* es la más conocida y vinculada a infecciones micóticas en humanos desde antaño, sin embargo, en las últimas décadas se han incrementado considerablemente los casos de infecciones por *Candida* no *albicans*, en especial por *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis* y *C. krusei* tanto en infecciones fúngicas locales como en infecciones sistémicas(Kołaczkowska and Kołaczkowski; Kim et al.; Yapar). Por otro lado, se dispone de un número limitado

de agentes antifúngicos de unas pocas clases de fármacos para tratar a pacientes con estas infecciones. Esto se agrava con el hecho de que las *Candida* no *albicans* son más propensas a desarrollar resistencia antifúngica. Se han producido informes cada vez mayores de resistencia a múltiples fármacos a los azoles, las equinocandinas y los polienos en varias especies de *Candida* (Arendrup and Patterson), por lo que, para poder ofrecer un tratamiento adecuado es necesario identificar correctamente la cepa patógena y conocer la resistencia farmacológica que pueda presentar. Por lo tanto, la identificación del patógeno se convierte en una necesidad para la sobrevivencia de pacientes hospitalizados y para los controles epidemiológicos. Especialmente con la reciente aparición de *C. auris*, la cual es comúnmente identificada de forma errónea como varias especies de levadura diferentes por plataformas de identificación fenotípica disponibles comercialmente (Posteraro and Sanguinetti).

También es importante tener en cuenta que, dada la situación sanitaria internacional actual, los pacientes con COVID-19 tienen más probabilidad de desarrollar coinfecciones fúngicas con consecuencias mortales, algunas investigaciones han demostrado coinfección con *C. albicans* y *C. glabrata* en pacientes críticamente enfermos por COVID-19 (Yang et al.; Chen et al.), con el riesgo que esto representa. Con base en la experiencia del SARS en 2003 y los casos de aspergilosis invasiva combinados con influenza grave (Song et al.; Gangneux et al.), es de vital importancia prestar atención a la identificación oportuna de *Candida* en personas infectadas por COVID-19.

Actualmente, existe una variedad de técnicas para identificar levaduras a partir de muestras clínicas. Estas pueden incluir desde métodos tradicionales, como los criterios morfológicos, en donde la prueba del tubo germinativo es el estándar de laboratorio para identificar *C. albicans*, o la presencia de clamidosporas en *C. albicans* y *C. dubliniensis* (Byadarahally Raju and Rajappa). Entre otros están los métodos comerciales de identificación enzimática, y las técnicas de tipificación molecular desarrolladas más recientemente (Kim et al.). Neppelenbroek y colaboradores clasifican las técnicas de identificación para *Candida* de la siguiente manera (Neppelenbroek et al.):

I. Métodos fenotípicos:

- Métodos no disponibles comercialmente: prueba de tubo germinativo, formación de clamidosporas y temperatura de crecimiento, asimilación de carbono y nitrógeno, fermentación de carbohidratos.
- Sistemas comerciales de identificación rápida: API 20C Aux, ID 32, API Candida, API Yeast, Microring YT.
- Sistemas comerciales basados en medios cromogénicos: CHROMagar Candida, Método de filtración por membrana fluorogénica, Candida ID, Auxacolor, Panel de identificación de levadura Baxter MicroScan, Uni-Yeast Tek, RapID Yeast Plus, Fungichrom I, BiGGY Agar.

II. Enfoques especializados basados en instrumentos: Vitek YBC, Vitek 2 ID-YST, Abbott Quantum II, Microbial Identification.

III. Biotipado: Prueba de opacidad Tween 80

IV. Métodos de identificación molecular

- Métodos basados en PCR-based methods: PCR-multiple, PCR anidado, PCR en tiempo real.
- Métodos moleculares no basados en PCR: Protocolo de hibridación *in situ* de fluorescencia de ácido nucleico peptídico, pirolisis, ionización MALDI (desorción/ionización mediante láser asistida por matriz), acoplada a un analizador TOF (tiempo de vuelo).

Los métodos de identificación de rutina como microscopía, sistema automatizado de hemocultivo y pruebas bioquímicas para identificar *Candida* spp. pueden consumir mucho tiempo debido al tiempo de generación de la levadura, al igual que las pruebas de susceptibilidad antifúngica, las cuales, además, pueden dar resultados variables dependiendo del experimentador, ya que hay una característica subjetiva, por ejemplo, en la medición del CMI (concentración mínima inhibitoria). Los análisis *in vitro* mediante diferentes pruebas de laboratorio de susceptibilidad antifúngica están garantizadas por protocolos estandarizados e implementado por el Clinical and Laboratory Standard Institute (USA, CLSI) y el European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (Posteraro and Sanguinetti; Delavy et al.). Sin embargo, estos métodos pueden presentar inconvenientes dada la constante aparición de cepas multiresistentes. O en el caso de varios de los sistemas de identificación comercial como Vitek-2, BD Phoenix, API-20, y MicroScan, no son capaces de identificar con exactitud a *C. famata*, *Candida meyerozyma*, *C. guilliermondii*, o *C. auris* (Mizusawa et al.; Kim et al.) por lo que la búsqueda de métodos alternativos más eficientes es requerida, así los métodos de identificación molecular han incrementado su auge. Dentro de las técnicas de identificación más confiables se encuentran las pruebas de espectrometría de masas MALDI-TOF y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

2 | MALDI-TOF

La técnica de MALDI-TOF ha revolucionado el campo de la microbiología al aportar una herramienta que ayuda a la identificación de especies de una manera precisa y rápida, además de agilizar la determinación de la resistencia a los antimicrobianos. Se inició su uso a finales de la década de los 90s para la identificación de bacterias (Arnold and Reilly) y que posteriormente se ha difundido en otros microorganismos como levaduras y hongos (Marklein et al.; Posteraro et al.). La ionización MALDI (desorción/ionización mediante láser asistida por matriz), acoplada a un analizador TOF (tiempo de vuelo) consiste en hacer incidir un rayo láser sobre un microorganismo embebido en una matriz, que provoca la ionización de

una serie de proteínas y tras ser sometidos a un campo electrónico estas migran por un tubo con vacío hasta un detector donde se calcula la masa de cada proteína, por el tiempo de vuelo. El sistema lee una serie de espectros que son comparados con una base de datos que contiene el espectro esperado de cada microorganismo analizado, permitiendo así, la identificación de cepas clínicas entre género y especie. Los sistemas comerciales más empleados en la actualidad que usan la tecnología MALDI-TOF para identificación de microorganismos son el sistema VITEK®MS (bioMérieux, Durham, NC) y el sistema MALDI Biotyper® (Bruker Daltonics Inc., Billerica, MA). Las bases de datos de los espectros de referencia se comercializan como parte de un sistema patentado y son construidas y mantenidas por los fabricantes. En la identificación, estos sistemas asignan un valor de puntuación (MALDI Biotyper®) o nivel de confianza (VITEK®MS) a cada coincidencia, con base en las similitudes del microorganismo con los espectros de referencia, obteniendo una identificación con un nivel de confianza que se calcula con base al porcentaje de probabilidad y el número de opciones de microorganismos posibles (Maldonado et al.).

MALDI-TOF MS puede detectar entre 95.7–100% de las especies comunes de *Candida*, tales como; *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, y *C. tropicalis* (Bader et al.; Bille et al.; Iriart et al.). La precisión es menor para otras especies menos comunes como *C. inconspicua*, *C. rugosa* y *C. norvegensis* (73,6 a 88,9%), aun así, el resultado es superior al obtenido con los métodos clásicos y se espera que mejore al actualizar las bases de datos (Delavy et al.). El método de MALDI-TOF MS constituye, además, una alternativa prometedora para estudiar la resistencia antifúngica en poco tiempo, especialmente útil para microorganismos multiresistentes ya que el método MALDI-TOF tiene la capacidad de identificar la susceptibilidad de muchas bacterias y varios hongos a diversos antimicrobianos en un promedio de 6 a 15 h. Una cepa susceptible crecerá menos y por lo tanto mostrará picos de intensidad más bajos, mientras que las cepas resistentes mostrarán intensidades de picos más altas, debidos a un mayor crecimiento (Oviaño et al.). Como se puede observar en la **Tabla 1**, ya hay reportes que confirman la identificación satisfactoria de levaduras del género *Candida* empleando los métodos de MALDI-TOF.

REFERENCIA	ESPECIE IDENTIFICADA	SITIO DE AISLAMIENTO	MÉTODO DE IDENTIFICACIÓN	RESISTENCIA
(Bellanger et al.)	<i>C. lusitaniae</i> , <i>C. kefyr</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. dubliniensis</i>	Materiales clínicos (abscesos, hematomas, huesos, fungemia, fluidos corporales, etc.).	MALDI-TOF MS	-
(Kwon et al.)	<i>C. auris</i>	Sangre (4), orejas (57)	MALDI-TOF MS	Fluconazol 62.3%
(Colabella et al.)	256 cepas de: <i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. glabrata</i> y <i>C. tropicalis</i> ,	Sangre	Secuenciación de nueva generación (NGS) y espectroscopia FTIR	-
(Kim et al.)	<i>C. famata</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. auris</i> , <i>C. lusitaniae</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>M. guilliermondii</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. haemulonii</i>	Materiales clínicos: (sangre, orina, flujo vaginal, oreja, pus, etc)	MALDI-TOF MS (Vitek MS Bruker Biotyper) / DNA Sequencing/ Phoenix ID	-
(Vatanshenassan et al.)	<i>C. auris</i>	Cultivos de colección y aislamientos de materiales clínicos	MALDI-TOF MS	Echinocandinas
(Bal and McGill)	<i>C. tropicalis</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. dubliniensis</i> , <i>C. kefyr</i> , <i>C. lusitaniae</i>	Sangre	Sepsityper-MALDI-TOF	Fluconazol, Echinocandinas
(Maldonado et al.)	<i>C. parapsilosis</i> (28), <i>C. glabrata</i> (34), <i>C. krusei</i> (24), <i>C. tropicalis</i> (45), <i>C. guilliermondii</i> (30), <i>C. albicans</i> (28), <i>C. dubliniensis</i> (6), <i>C. kefyr</i> (1) y <i>C. lipolytica</i>	Materiales clínicos	MALDI-TOF MS	-

Tabla 1. Referencias de trabajos de identificación de cepas del género *Candida* empleando métodos de MALDI-TOF

2.1 Metodología de la técnica de MALDI – TOF

El programa MALDI-TOF VITEK MS IVD es comúnmente utilizado para la identificación de cepas de importancia médica. Las muestras se pueden obtener a partir de un cultivo puro como YPD para ser colocadas sobre una placa metálica conductora que contiene un espacio para 16 muestras, luego se adiciona una gota de ácido fórmico para romper la pared celular, posteriormente se le adiciona una matriz orgánica diseñada por el fabricante para lograr una co-cristalización muestra - matriz, que ayuda a identificar las proteínas. Para cada placa se coloca una muestra control. Las placas se reciben en el equipo y se procesan, los resultados se obtienen en menos de una hora según el número de muestras, y mediante la comparación de espectros en una base de datos se permite la discriminación y confirmación a nivel de género y especie.

En el laboratorio de Micología Médica de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla en colaboración con el Dr. Eulogio Valentín Gómez de la Universidad de Valencia se

realizó un ensayo utilizando el programa MALDITOF VITEK MS IVD donde se identificaron 35 cepas clínicas. Adicionales al ensayo de identificación se usaron 3 cepas tipo para *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. tropicalis*. Se identificaron 9 cepas clínicas para *C. tropicalis*, 6 para *C. albicans*, 7 para *C. glabrata*, 11 *C. guilliermondii*, 1 *C. parapsilosis* y 1 cepa clínica 50 / 50 % de probabilidad entre *C. glabrata* y *C. guilliermondii*. Todas las cepas control fueron identificadas correctamente mostrando que a través de esta técnica se pueden obtener resultados correctos de identificación de cepas clínicas(Vázquez Dominguez).

3 I REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

La reacción en cadena de la polimerasa, conocida como PCR es una técnica que permite amplificar pequeñas regiones específicas de un segmento de ADN, generando millones de copias mediante el uso de oligonucleótidos específicos, obteniendo resultados de la identificación del microorganismo en pocas horas, por lo que es una técnica rápida y eficiente.

La PCR permite la amplificación *in vitro* de una secuencia específica del ADN, se basa en el uso de dos oligonucleótidos que, al reconocer la secuencia complementaria en el ADN, son alargados cíclicamente mediado por la acción de la ADN polimerasa, de la ADN polimerasa termoestable Taq (Taq polimerasa), que es capaz de soportar variaciones de temperaturas.

El estándar de oro internacional para la identificación de especies fúngicas es la amplificación y secuenciación del espaciador transcrito interno (ITS) del ADNr, a partir de las regiones ITS1 (espaciador intergénico) e ITS2 (espaciador intergénico 2), técnica descrita en el trabajo de Luo y Mitchel en el 2002 (**Tabla 2**).

ESPECIE	NOMBRE	SECUENCIA	GEN	PARES DE BASES
<i>C. albicans</i>	CALB1 F CALB1 R	TTC ATC AAC TTG TCA CAC CAG A/ ATC CCG CCT TAC CAC TAC CG	ITS1 e ITS2 del ARNr	273
<i>C. tropicalis</i>	CTR1 CTR2	CAA TCC TAC CGC CAG AGG TTA T/ TGG CCA CTA GCA AAA TAA GCG T	ITS1 e ITS2 del ARNr	357
<i>C. glabrata</i>	CGL1 CGL2	TTA TCA CAC GAC TCG ACA CT/ CCC ACA TAC TGA TAT GGC CTA CAA	ITS1 e ITS2 del ARNr	423

Tabla 2. Oligonucleótidos específicos empleados para la identificación molecular de las especies de *Candida*(Luo and Mitchell).

Los genes ribosomales que codifican las subunidades 5.8S, 18S y 26S, espaciadores transcritos internos (ITS) y las regiones externas (ETS) están dispuestos en tándem formando unidades de transcripción que se repiten en el genoma de las levaduras (**Figura 1**) y particularmente se utilizan para la identificación del género *Candida*.

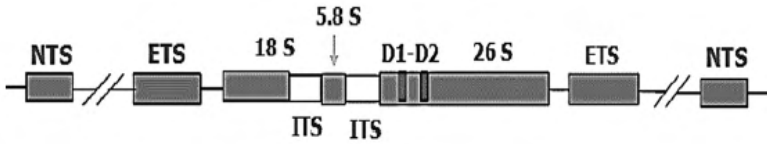


Figura 1. Representación esquemática de las subunidades ARNr. Esquema tomado de Vásquez, C. J. A., *et al.* 2016(Vásquez C et al.).

Luo y Mitchel(Luo and Mitchell) diseñaron un método de PCR múltiplex para identificar simultáneamente múltiples patógenos fúngicos como *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *Aspergillus fumigatus* en una sola reacción utilizando ADN genómico extraído y la suspensión de levaduras tomado directamente de un cultivo puro.

Tres cebadores específicos de especies en un solo tubo de PCR: CGL1-CGL2, CTR1-CTR2 y CPA1-CPA2 combinados en una PCR múltiplex para identificar *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis*, respectivamente (multiplex GTP); por otra parte, combinaron los cebadores AFUM1-AFUM2, CALB1-CALB2 y CN5-CN4 en otra PCR múltiplex para identificar *A. fumigatus*, *C. albicans* y *C. neoformans*, respectivamente (FAN multiplex). Este método de PCR múltiple proporciona una alternativa rápida, simple y confiable a los métodos convencionales para identificar aislados de hongos clínicos comunes con una sensibilidad y especificidad del 100% (Luo and Mitchell; Camacho-Cardoso et al.).

Otra herramienta empleada en la identificación de estas especies es la amplificación de genes *GPI* que codifican para glicosilfosfatidilinositol, amplificación de genes del intrón *RPS0* que es un componente de la maquinaria de traducción y está extremadamente conservada entre las especies de levaduras. García Martínez, J. M. *et al.* Realizaron un ensayo de PCR basado en el uso de cebadores dirigidos al gen *RPS0* de ocho especies de levaduras (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *Candida dubliniensis*, *Candida parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. zeylanoides*, *Debariomyces hansenii* y *P. guilliermondii*) para obtener un fragmento de ADN específico para cada especie. Todos los cebadores corresponden a la región del intrón excepto los de *Pichia guilliermondii* que se definen a partir de las áreas del exón, los cuales permiten la correcta identificación de especies, que han sido mal identificadas por métodos convencionales, como *D. hansenii* y *C. albicans*, que a menudo se identifican como *C. parapsilosis* y *C. dubliniensis*, respectivamente. En el estudio se obtuvo una fuerte especificidad (100%) y el tamaño de amplicones esperado.

Existen cepas que fenotípicamente son similares y muchas veces se han identificado erróneamente, tal es el caso de las cepas *C. auris* que fenotípicamente son similares a *C. haemulonii* pero también suele confundirse con cepas *C. famata*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis*, *C. sake*, *Rhodotorula glutinis* y *Saccharomyces cerevisiae*. Kordalewska M., *et al.*, realizaron un estudio implementando la PCR convencional y en tiempo real diseñando amplicones tal que cubrían un fragmento de ARNr 5.8S, todo

ITS2 y un fragmento de ARNr 28S. Los cebadores CauF y CauR se diseñaron para amplificar selectivamente un producto de PCR de 163 pb de longitud específico para *C. auris* únicamente. Los cebadores CauReIF y CauReIR se diseñaron para amplificar selectivamente productos de PCR de *C. auris*, *C. duobushaemulonii*, *C. haemulonii* o *C. lusitaniae*. Los fragmentos amplificados difieren en longitud (215 pb, 208 pb, 197 pb y 203 pb, respectivamente) y composición. En el ensayo no se detectaron productos de PCR para otros aislados de levadura y moho o ADN humano. La precisión del ensayo fue confirmada probando un panel de 46 aislamientos entre ellos además *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. famata*, *C. sake*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus fumigatus*, entre otros. Finalmente, en todos los ensayos se presentó una precisión del 100% de los aislados *C. auris*, *C. duobushaemulonii*, *C. haemulonii* y *C. lusitaniae* lo que permite una discriminación inequívoca (Kordalewska et al.). Por otro lado, Ruiz Gaitán y colaboradores (Ruiz-Gaitán et al.) realizaron un método alternativo para la identificación correcta de cepas de *C. auris* por PCR de colonia y ADN genómico mediante el diseño de cebadores de genes únicos que codifican la proteína GPI, la especificidad de los cebadores utilizados para *C. auris* que se verificaron con un panel de 19 *Candida* de diferentes especies, que comprendían cepas *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. parapsilosis*, *C. boidinii*, *C. duobushaemulonii*, *C. inconspicua*, *C. intermedia*, *C. metapsilosis*, *C. nivariensis*, *C. pseudohaemulonii*, *C. rugosa*, *C. zeylanoides* y especies más estrechamente relacionadas como, *C. lusitaniae* y *C. haemulonii*. Los productos de PCR se analizaron en geles de agarosa al 2%. Esta técnica de PCR basada en la singularidad de genes que codifican la proteína GPI se mostró útil para la identificación fácil, económica y precisa para la identificación de infecciones por *C. auris* en un entorno clínico.

A continuación, se describe la metodología de la técnica de PCR empleada en las cepas antes mencionadas (Vázquez Domínguez).

PCR de colonia. Se puede realizar la PCR directamente de las colonias aisladas, una vez cultivadas las levaduras a estudiar en medio YPD por 24 horas a 37°C, se toma una sola colonia, se agregan 3 µl de una solución de Hidróxido de sodio 0.02 M (NaOH), a 95°C por 10 minutos. Cada reacción de PCR se prepara con 12.5 µl de DreamTaq Green PCR Master Mix (2X) (Thermo Scientific), 2.5 µl de cada primer a una concentración de 1 µM y 2 µl de ADN previamente extraído, aforando a 25 µl con agua. En cada ensayo se incluye un control negativo que contiene únicamente agua en lugar de ADN. La PCR se realiza en un termociclador (Eppendorf), programando una fase inicial de desnaturalización a 96°C por 5 minutos, seguida por 40 ciclos, iniciando con una temperatura de 94°C por 30 segundos, posteriormente la fase de alineación a 58°C por 30 segundos y la fase de elongación a 72°C por 30 segundos. Finalmente, la fase de elongación final a 72°C durante 10 minutos.

Obtenidos los amplificadores de PCR, se realiza un análisis electroforético en un gel de agarosa al 1.5%; colocando en cada pozo del gel 5 µl del producto de PCR, y un pozo

para depositar 6 µl del marcador de peso molecular 1 kb (Thermo scientific) diluido como lo marca el inserto del producto. A la cámara electroforética donde está colocado el gel con las muestras se le aplica un voltaje de 90 V. Posteriormente el gel de agarosa se tiñe con bromuro de etidio 1 µg/ml y se visualiza en un transiluminador (luz ultra violeta) (Benchtop 2UV™). Los productos de PCR se comparan con el tamaño del marcador de peso molecular (**Figura 2**).

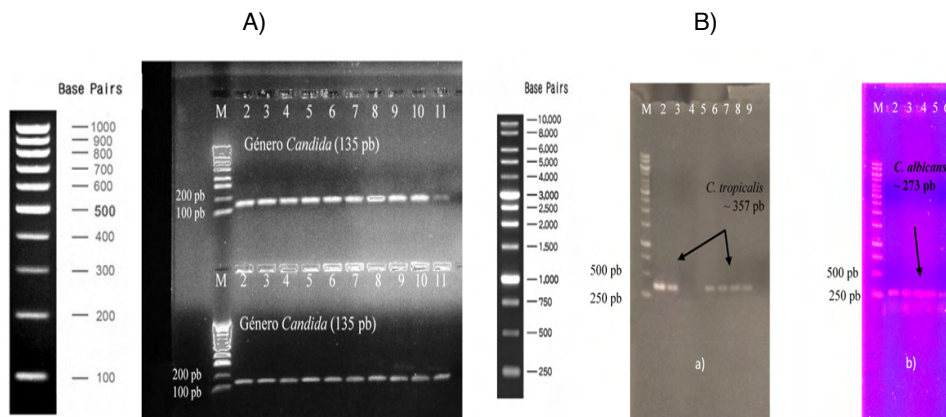


Figura 2. A) Electroforesis en gel de agarosa 2 % con amplificación de genes para proteínas 5.8S rRNA, pocillos 2 - 11 superior e inferior género *Candida*; los controles utilizados fueron CAF2, MYA3404 y ATCC 2001; para *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata* respectivamente. (M) Marcador de peso molecular. B) Electroforesis en gel de agarosa 1.5 % con amplificación de las regiones ITS1 e ITS2 \approx 357 pb para a) *C. tropicalis* (en 2,3,5-8 pocillos) y \approx 273 pb para b) *C. albicans* (en 2 - 6 pocillos). Los controles utilizados MYA3404 y CAF2 respectivamente. (M) Marcador de peso molecular.

4 | CONCLUSIÓN

Por lo anteriormente expuesto podemos concluir que la PCR, puede considerarse como el estándar de oro para la identificación de especies del género *Candida*, por ser una herramienta de laboratorio rápida y precisa, de gran sensibilidad y especificidad; que aunada al empleo del MALDITOF garantiza la identificación de éstas levaduras.

REFERENCIAS

Arendrup, Maiken Cavling, and Thomas F. Patterson. "Multidrug-Resistant Candida: Epidemiology, Molecular Mechanisms, and Treatment." *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 216, no. suppl_3, Aug. 2017, pp. S445–51, doi:10.1093/infdis/jix131.

Arnold, Randy J., and James P. Reilly. "Fingerprint Matching Of E. Coli Strains with Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry of Whole Cells Using a Modified Correlation Approach." *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, vol. 12, no. 10, May 1998, pp. 630–36, doi:10.1002/(SICI)1097-0231(19980529)12:10<630::AID-RCM206>3.0.CO;2-0.

Bader, O., et al. *Improved Clinical Laboratory Identification of Human Pathogenic Yeasts by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry*. 2010.

Bal, AM, and M. McGill. "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*, vol. 48, no. 2, 2018, pp. 114–19, doi:10.4997/JRCPE.2018.203.

Bellanger, Anne-Pauline, et al. "Rapid Identification of Candida Sp. by MALDI - TOF Mass Spectrometry Subsequent to Short-term Incubation on a Solid Medium." *APMIS*, vol. 127, no. 4, Apr. 2019, pp. 217–21, doi:10.1111/apm.12936.

Bille, E., et al. "MALDI-TOF MS Andromas Strategy for the Routine Identification of Bacteria, Mycobacteria, Yeasts, Aspergillus Spp. and Positive Blood Cultures." *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 18, no. 11, Nov. 2012, pp. 1117–25, doi:10.1111/j.1469-0691.2011.03688.x.

Byadarahally Raju, Smitha, and Shashanka Rajappa. "Isolation and Identification of Candida from the Oral Cavity." *ISRN Dentistry*, vol. 2011, Oct. 2011, pp. 1–7, doi:10.5402/2011/487921.

Camacho-Cardoso, José Luis, et al. "Detección Molecular de Especies de Candida En Especímenes de Pacientes Hospitalizados." *Gaceta Medica de Mexico*, vol. 153, no. 5, 2017, pp. 581–89, doi:10.24875/GMM.17002535.

Chen, Nanshan, et al. "Epidemiological and Clinical Characteristics of 99 Cases of 2019 Novel Coronavirus Pneumonia in Wuhan, China: A Descriptive Study." *The Lancet*, vol. 395, no. 10223, Feb. 2020, pp. 507–13, doi:10.1016/S0140-6736(20)30211-7.

Colabella, Claudia, et al. "Merging FT-IR and NGS for Simultaneous Phenotypic and Genotypic Identification of Pathogenic Candida Species." *PLOS ONE*, edited by Alix Therese Coste, vol. 12, no. 12, Dec. 2017, p. e0188104, doi:10.1371/journal.pone.0188104.

Delavy, Margot, et al. "Investigating Antifungal Susceptibility in Candida Species With MALDI-TOF MS-Based Assays." *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, vol. 9, Feb. 2019, doi:10.3389/fcimb.2019.00019.

Gangneux, J. P., et al. "Invasive Fungal Diseases during COVID-19: We Should Be Prepared." *Journal de Mycologie Médicale*, vol. 30, no. 2, June 2020, p. 100971, doi:10.1016/j.mycmed.2020.100971.

Iriart, Xavier, et al. "Routine Identification of Medical Fungi by the New Vitek MS Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight System with a New Time-Effective Strategy." *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 50, no. 6, June 2012, pp. 2107–10, doi:10.1128/JCM.06713-11.

Kim, Tae-Hyoung, et al. "Identification of Uncommon Candida Species Using Commercial Identification Systems." *Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 26, no. 12, Dec. 2016, pp. 2206–13, doi:10.4014/jmb.1609.09012.

Kończakowska, Anna, and Marcin Kończakowski. "Drug Resistance Mechanisms and Their Regulation in Non- Albicans Candida Species." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 71, no. 6, June 2016, pp. 1438–50, doi:10.1093/jac/dkv445.

Kordalewska, Milena, et al. "Rapid and Accurate Molecular Identification of the Emerging Multidrug-Resistant Pathogen Candida Auris." *Journal of Clinical Microbiology*, edited by Daniel J. Diekema, vol. 55, no. 8, Aug. 2017, pp. 2445–52, doi:10.1128/JCM.00630-17.

Kwon, Yong Jun, et al. "Candida Auris Clinical Isolates from South Korea: Identification, Antifungal Susceptibility, and Genotyping." *Journal of Clinical Microbiology*, edited by Geoffrey A. Land, vol. 57, no. 4, Apr. 2019, doi:10.1128/JCM.01624-18.

- Luo, Guizhen, and Thomas G. Mitchell. "Rapid Identification of Pathogenic Fungi Directly from Cultures by Using Multiplex PCR." *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 40, no. 8, Aug. 2002, pp. 2860–65, doi:10.1128/JCM.40.8.2860-2865.2002.
- Maldonado, Ivana, et al. "Identificación de Levaduras Del Género Candida: Los Métodos Convencionales Frente a MALDI-TOF MS." *Revista Iberoamericana de Micología*, vol. 35, no. 3, July 2018, pp. 151–54, doi:10.1016/j.riam.2018.02.002.
- Marklein, G., et al. "Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Fast and Reliable Identification of Clinical Yeast Isolates." *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 47, no. 9, Sept. 2009, pp. 2912–17, doi:10.1128/JCM.00389-09.
- Mizusawa, Masako, et al. "Can Multidrug-Resistant *Candida auris* Be Reliably Identified in Clinical Microbiology Laboratories?" *Journal of Clinical Microbiology*, edited by David W. Warnock, vol. 55, no. 2, Feb. 2017, pp. 638–40, doi:10.1128/JCM.02202-16.
- Neppelenbroek, KH, et al. "Identification of *Candida* Species in the Clinical Laboratory: A Review of Conventional, Commercial, and Molecular Techniques." *Oral Diseases*, vol. 20, no. 4, May 2014, pp. 329–44, doi:10.1111/odi.12123.
- Oviaño, Marina, et al. "Universal Protocol for the Rapid Automated Detection of Carbapenem-Resistant Gram-Negative Bacilli Directly from Blood Cultures by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF/MS)." *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 48, no. 6, Dec. 2016, pp. 655–60, doi:10.1016/j.ijantimicag.2016.08.024.
- Posteraro, Brunella, et al. "MALDI-TOF Mass Spectrometry in the Clinical Mycology Laboratory: Identification of Fungi and Beyond." *Expert Review of Proteomics*, vol. 10, no. 2, Apr. 2013, pp. 151–64, doi:10.1586/ep.13.8.
- Posteraro, Brunella, and Maurizio Sanguinetti. "The Future of Fungal Susceptibility Testing." *Future Microbiology*, vol. 9, no. 8, Aug. 2014, pp. 947–67, doi:10.2217/fmb.14.55.
- Ruiz-Gaitán, Alba Cecilia, et al. "Molecular Identification of *Candida auris* by PCR Amplification of Species-Specific GPI Protein-Encoding Genes." *International Journal of Medical Microbiology*, vol. 308, no. 7, Oct. 2018, pp. 812–18, doi:10.1016/j.ijmm.2018.06.014.
- Sandhu, Raminder, et al. "Increased Role of Nonalbicans *Candida*, Potential Risk Factors, and Attributable Mortality in Hospitalized Patients." *Journal of Health Research and Reviews*, vol. 4, no. 2, 2017, p. 78, doi:10.4103/2394-2010.208115.
- Song, Ge, et al. "Fungal Co-Infections Associated with Global COVID-19 Pandemic: A Clinical and Diagnostic Perspective from China." *Mycopathologia*, vol. 185, no. 4, Aug. 2020, pp. 599–606, doi:10.1007/s11046-020-00462-9.
- Vásquez C, Jorge Alberto, et al. "Actualización En Caracterización Molecular de Levaduras de Interés Industrial." *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. 18, no. 2, July 2016, p. 129, doi:10.15446/rev.colomb.biote.v18n2.61530.
- Vatanshenassan, Mansoureh, et al. "*Candida auris* Identification and Rapid Antifungal Susceptibility Testing Against Echinocandins by MALDI-TOF MS." *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, vol. 9, Feb. 2019, doi:10.3389/fcimb.2019.00020.

Vázquez Dominguez, Débora. *Efecto de La Terapia Fotodinámica Sobre Levaduras Del Género Candidatle*. 2019, <https://hdl.handle.net/20.500.12371/4635>.

Yang, Xiaobo, et al. "Clinical Course and Outcomes of Critically Ill Patients with SARS-CoV-2 Pneumonia in Wuhan, China: A Single-Centered, Retrospective, Observational Study." *The Lancet Respiratory Medicine*, vol. 8, no. 5, May 2020, pp. 475–81, doi:10.1016/S2213-2600(20)30079-5.

Yapar, Nur. "Epidemiology and Risk Factors for Invasive Candidiasis." *Therapeutics and Clinical Risk Management*, Feb. 2014, p. 95, doi:10.2147/TCRM.S40160.

ÍNDICE REMISSIVO

A

- Ação antibacteriana 3, 29
Alimentos fermentados 61, 62, 63, 64
Alpinia zerumbet 50, 51, 58, 59
Antifúngicos 82, 93, 97, 98, 99, 100, 101, 103
Application 11, 12, 24, 36, 46, 48, 51, 59, 81
Astrocaryum aculeatum 9, 27, 28, 29, 34
Avaliação físico-química 68, 73, 75
Avaliação microbiológica 68, 70, 71, 73, 74, 77, 79

B

- Barras de cereais 68, 71, 73, 74, 75, 76, 77, 78
Biocatalisadores 11, 13, 14, 48
Biopelículas 93, 95, 96, 97, 98, 101
Biotechnology 24, 36, 46, 47, 48, 66, 90

C

- Candida albicans* 32, 81, 93, 94, 100, 102, 103
Candida glabrata 81, 93, 94, 95, 101, 102
Candida spp. 80, 81, 83, 93, 94, 96, 101
Candida tropicalis 81, 93, 94, 95, 100, 101, 103
Castanha-do-Brasil 68, 69, 70, 71, 74, 76, 77, 78, 79

E

- Enzimas 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 32, 36, 37, 38, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 48, 56, 63, 95, 99
Enzymes 11, 12, 15, 24, 26, 34, 36, 47, 48
Escherichia coli 1, 2, 27, 28, 29, 59, 68, 69, 70, 71, 73, 74
Extratos metanólicos 1, 2, 3, 5, 6, 28, 29, 31, 33

F

- Fungos 4, 18, 21, 24, 25, 37, 46, 50, 56, 61, 64, 71, 75, 78

I

- Indústria alimentícia 11, 12, 18, 20, 21, 23, 42
Infecções 3, 20, 51, 52, 104

K

Klebsiella pneumoniae 1, 2, 27, 28, 29

L

Linhagens de bactérias 61

Lipase 16, 25, 36, 40, 41, 45, 46, 47, 48

M

MALDITOF 80, 81, 83, 84, 85, 86, 89

Microrganismos 3, 5, 6, 8, 14, 18, 20, 21, 23, 24, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 34, 37, 44, 50, 54, 61, 62, 63, 64, 70, 71, 75, 77, 84

O

Óleo essencial 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59

P

Potencial antimicrobiano 50

Processos industriais 11, 12, 14, 20, 23

Pseudomonas aeruginosa 1, 2, 27, 28, 29, 41

S

Staphylococcus aureus 1, 2, 3, 27, 28, 29, 59, 65

T

Tucumã 9, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34

Turnera subulata 1, 2, 10





MICROBIOLOGIA:

Avanços através dos séculos e constante atualizações tecnológicas

www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 


Ano 2021

MICROBIOLOGIA:

Avanços através dos séculos e constante atualizações tecnológicas

www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 

 **Atena**
Editora
Ano 2021