

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE**

**MAYCON GUERRA DE OLIVEIRA**

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E DA SUSCEPTIBILIDADE AOS**  
**ANTIFÚNGICOS DE LEVEDURAS ISOLADAS EM PACIENTES**  
**HOSPITALIZADOS SEM E COM COVID-19**

**JUIZ DE FORA**

**2022**

**Maycon Guerra de Oliveira**

**Aspectos epidemiológicos e de susceptibilidade aos antifúngicos de leveduras  
isoladas em pacientes hospitalizados sem e com COVID-19**

Dissertação de Mestrado do Curso de Pós-Graduação em Saúde: Área Imunologia e Doenças Infecto-Parasitárias, para obtenção do Título de Mestre em Saúde na área de Imunologia e Doenças Infecto-Parasitárias.

**Orientador:** Prof. Dr. Cláudio Galuppo Diniz

**Co-orientadora:** Profa. Dra. Francis Moreira Borges

**Juiz de Fora**

**2022**

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Guerra de Oliveira, Maycon.

Aspectos epidemiológicos e de susceptibilidade aos antifúngicos de leveduras isoladas em pacientes hospitalizados sem e com COVID-19 / Maycon Guerra de Oliveira. -- 2022.

101 p.

Orientador: Cláudio Galuppo Diniz

Coorientadora: Francis Moreira Borges

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Saúde Brasileira, 2022.

1. Infecção fúngica. 2. coinfeção. 3. perfil de resistência aos antifúngicos. 4. MALDI-TOF MS. 5. COVID-19. I. Diniz, Cláudio Galuppo, orient. II. Borges, Francis Moreira, coorient. III. Título.

**Maycon Guerra de Oliveira**

**Aspectos epidemiológicos e da susceptibilidade aos antifúngicos de leveduras isoladas em pacientes hospitalizados sem e com COVID-19**

Dissertação apresentada ao Programa da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saúde.

Área de concentração: Saúde Brasileira.

**Aprovada em 14 de dezembro de 2022.**

**BANCA EXAMINADORA**

**Prof. Dr. Cláudio Galuppo Diniz –  
Orientador  
Universidade Federal de Juiz de  
Fora**

**Profa. Dra. Francis Moreira Borges  
- Coorientadora  
Universidade Federal de Juiz de  
Fora**

**Profa. Dra. Vanessa Cordeiro Dias  
Universidade Federal de Juiz de Fora**

**Profa. Dra. Vania Lúcia da Silva  
Universidade Federal de Juiz de Fora**

**Profa. Dra. Kênia Valéria dos Santos  
Universidade Federal do Espírito Santo**

**Juiz de Fora, 28/11/2022.**

---



Documento assinado eletronicamente por Claudio Galuppo Diniz, Professor(a), em 14/12/2022, às 12:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



Documento assinado eletronicamente por Vania Lucia da Silva, Professor(a), em 14/12/2022, às 12:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



Documento assinado eletronicamente por Francis Moreira Borges, Professor(a), em 14/12/2022, às 12:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



Documento assinado eletronicamente por Kênia Valéria dos Santos, Usuário Externo, em 14/12/2022, às 15:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



Documento assinado eletronicamente por Vanessa Cordeiro Dias, Professor(a), em 14/12/2022, às 20:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf ([www2.ufjf.br/SEI](http://www2.ufjf.br/SEI)) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador 1055655 e o código CRC 23B38BD0.

---

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao Deus Eterno Trino Todo-Poderoso que nos capacita e nos fornece a força necessária e fonte de conhecimento inesgotável que nos permite fazer grandes descobertas e nos aprofundar nas coisas ocultas.

Estendo o agradecimento a todos aqueles que me cercaram nesta jornada e contribuíram direta ou indiretamente para o sucesso final deste trabalho, citando, dentre outros: a equipe do Laboratório de Análises Clínicas Professor Maurílio Baldi do HU-UFJF, o Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Unimed Dr. Hugo Borges, a equipe do Centro de Estudos em Micologia do Instituto de Ciências Biológicas/UFJF, a equipe do Centro de Ciências da Saúde - Instituto de Microbiologia Paulo de Góes/UFRJ.

Não posso deixar de agradecer aos professores que aceitaram me orientar e acreditaram no projeto, Professora Dra. Francis Moreira Borges e Professor Dr. Cláudio Galuppo Diniz, que têm contribuído para galgar os degraus até aqui. Estendo a banca examinadora que também contribui para que a finalização deste trabalho tenha um olhar tecelão, é uma honra tê-los como avaliadores.

Agradeço a Deus por todos os intercessores que nos mantêm de pé enquanto se colocam de joelhos ao nosso favor, aqui incluem os que torcem por nossa vitória e nos querem bem. Cabem aqui família e amigos, os de longe, os de perto, os que chegam e os que partiram deixando aprendizados e saudade.

## RESUMO

As infecções invasivas por fungos têm aumentado notadamente nas últimas décadas, se destacando àquelas associadas às Unidades de Terapia Intensiva e indivíduos imunocomprometidos, incluindo, recentemente a participação desses microrganismos em coinfeções em indivíduos hospitalizados por COVID-19. Dada à relevância dessas infecções fúngicas, a precariedade do diagnóstico laboratorial rotineiro e como consequência disso a prescrição antimicrobiana empírica, estudos epidemiológicos e de susceptibilidade aos antifúngicos são de extrema importância para orientação de conduta clínica e prognóstico. O objetivo do trabalho foi avaliar o perfil epidemiológico de indivíduos hospitalizados com achado laboratorial de leveduras e a susceptibilidade aos antifúngicos dos isolados de sangue entre 2015-2018 e de coinfeções em indivíduos internados com COVID-19 no período de 2019 a 2021. As leveduras avaliadas foram isoladas, de sangue, secreção traqueal e urina, em conformidade com os aspectos éticos para pesquisa envolvendo seres humanos. Os dados dos indivíduos foram coletados em prontuários eletrônicos. A identificação microbiana foi realizada por MALDI-TOF MS. A susceptibilidade aos antifúngicos foi determinada por disco-difusão para fluconazol, itraconazol, voriconazol, anfotericina B e caspofungina. A análise estatística (ANOVA e *Bonferroni*, qui-quadrado e coeficiente *kappa*) foi realizada utilizando-se o software *GraphPad Prism 5.01*®. Entre 2015-2018, 84 amostras de leveduras foram isoladas de hemocultura de 42 indivíduos; entre 2019-2021, 51 amostras foram isoladas de 44 indivíduos. As espécies mais prevalentes foram *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*; e mais frequentes em indivíduos adultos e internados em UTI para ambos os grupos, com hospitalização superior a 27 dias. O fenótipo de resistência foi maior na classe dos azóis e isolados de indivíduos sem COVID-19. Desses indivíduos, 50,4% foram resistentes a pelo menos uma das drogas testadas e 30% resistentes a pelo menos três dos cinco antifúngicos testados. Destaca-se a importância de estudos que avaliem a resistência aos antifúngicos das amostras clínicas, bem como a caracterização das espécies por métodos moleculares.

**Palavras-chave:** infecção fúngica, coinfeção, perfil de resistência aos antifúngicos, MALDI-TOF, COVID-19

## ABSTRACT

Invasive fungal infections have increased notably in recent decades, especially those associated with Intensive Care Units and immunocompromised patients, including, recently, the participation of these microorganisms in co-infections in patients hospitalized for COVID-19. Given the relevance of these fungi infections, the precariousness of routine laboratory diagnosis and, as a consequence, the empirical antimicrobial prescription, epidemiological and antifungal susceptibility studies are extremely important to guide clinical management and prognosis. The study objective was to evaluate the epidemiological profile of hospitalized participants with yeast laboratory found and the susceptibility to drugs of yeast isolates from blood cultures between 2015-2018 and co-infections in hospitalized participants with COVID-19 in the period from 2019 to 2021. The evaluated yeasts were isolated from blood culture, secretion tracheal and urine, in accordance with ethical aspects for research involving human beings. Patient data were collected from electronic medical records. Yeast identification was performed by MALDI-TOF MS. Antifungal susceptibility was determined by disk diffusion for fluconazole, itraconazole, voriconazole, amphotericin B and caspofungin. Statistical analysis (ANOVA and Bonferroni, chi-square and kappa coefficient) was performed using the GraphPad Prism 5.01® software. Between 2015-2018, 84 yeast samples were isolated from blood cultures of 42 patients; between 2019-2021, 51 samples were isolated from 44 patients. The most prevalent species were *C. albicans*, *C. tropicalis* and *C. glabrata*; and more frequent in adults and ICU patients for both groups, with hospitalization for more than 27 days. The resistance phenotype was higher in the azole class and isolates from patients without COVID-19. 50.4% were resistant to at least one of the tested drugs and 30% were resistant to at least three of the five antifungals tested. The importance of studies that evaluate the resistance to antifungals of clinical samples is highlighted, as well as the characterization of the species by molecular methods.

**Keywords:** fungal infection, coinfection, antifungal resistance profile, MALDI-TOF, COVID-19



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1-</b> Principal prevenção de IRAS.....	17
<b>Figura 2-</b> Em azul: países que reportaram indivíduos infectados por <i>C.auris</i> , incluindo Brasil, até 2021.....	22
<b>Figura 3-</b> Porcentagem de nucleotídeos idênticos de algumas espécies comparados com <i>C. auris</i> .....	23
<b>Figura 4-</b> Fatores e mecanismos para a infecção fúngica invasiva em indivíduos com COVID-19.....	26
<b>Figura 5-</b> Principais alvos de novos antifúngicos em desenvolvimento para uso na clínica.....	29
<b>Figura 6-</b> Principais vias de mecanismo de ação ( <b>A</b> ) e de resistência ( <b>B</b> ) frente ao uso de antifúngicos.....	30
<b>Figura 7-</b> Representação do funcionamento do MALDI – TOF MS.....	37
<b>Quadro 1</b> Perfil clínico-epidemiológico de indivíduos com fungemia no período de 2015-2018 e com coinfeção fúngica na COVID-19 entre 2019-2021 (NA= Não se Aplica).....	49
<b>Figura 8-</b> Amostras repicadas em meio ágar cromogênico para triagem de identificação.....	56
<b>Figura 9-</b> Análise microscópica de microcultivo demonstrando clamidoconídios característicos de <i>C. albicans</i> .....	57
<b>Quadro 2-</b> - Identificação das leveduras recuperadas ou isoladas nesse estudo por método bioquímico-fisiológico e MALDI -TOF MS. Em vermelho identificações onde houve.....	58
<b>Figura 10-</b> Representação do teste de susceptibilidade aos antifúngicos.....	63
<b>Quadro 3-</b> Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de fungos ao fluconazol nas fungemias (2015-2018) e coinfeção (2019-2021).....	64
<b>Quadro 4-</b> Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de fungos ao itraconazol nas fungemias (2015-2018) e coinfeção (2019-2021).....	65

<b>Quadro 5-</b> Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de fungos ao voriconazol nas fungemias (2015-2018) e coinfeção (2019-2021).....	66
<b>Quadro 6-</b> Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de fungos a anfotericina B nas fungemias (2015-2018) e coinfeção (2019-2021).....	67
<b>Quadro 7-</b> Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de fungos a caspofungina nas fungemias (2015-2018) e coinfeção (2019-2021).....	68
<b>Gráfico 1-</b> Perfil geral de susceptibilidade aos antifúngicos das espécies de fungos isolados.....	70
<b>Quadro 8-</b> Distribuição dos fenótipos de resistência aos antifúngicos selecionados para o estudo.....	71
<b>Gráfico 2-</b> Casos de infecção fúngica de acordo com os antimicrobianos utilizados. Vale destacar que todos os indivíduos receberam tratamento antibacteriano.....	74
<b>Quadro 9-</b> Demonstração de indivíduos com seu respectivo tratamento, perfil de sensibilidade ao antifúngico administrado e desfecho das fungemias (2015-2018).....	76
<b>Quadro 10-</b> Demonstração de indivíduos com seu respectivo tratamento, perfil de sensibilidade ao antifúngico administrado e desfecho das coinfeções fúngicas (2019-2021).....	76

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>15</b>
<b>2.1 Infecção relacionada à assistência à saúde.....</b>	<b>15</b>
2.1.1 Papel dos fungos na IRAS.....	16
<b>2.2 Infecções hematogênicas.....</b>	<b>18</b>
2.2.1 Fungemia.....	19
2.2.2 Candidemia.....	20
<b>2.3 Aspectos epidemiológicos.....</b>	<b>24</b>
<b>2.4 Coinfecção fúngica em indivíduos com COVID-19.....</b>	<b>25</b>
<b>2.5 Resistência aos antifúngicos.....</b>	<b>27</b>
<b>2.6 Teste de susceptibilidade aos antifúngicos.....</b>	<b>31</b>
<b>2.7 Identificação de fungos.....</b>	<b>33</b>
<b>2.8 MALDI – TOF MS.....</b>	<b>35</b>
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>40</b>
3.1 Objetivo Geral.....	40
3.2 Objetivos Específicos.....	40
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>41</b>
4.1 Delineamento do estudo.....	41
4.2 Coleta e processamento das amostras.....	42
4.3 Coleta de dados dos usuários.....	42
4.4 Identificação e análises de dados por MALDI – TOF MS.....	43
4.5 Teste de susceptibilidade aos agentes antifúngicos.....	44
4.6 Análise estatística.....	45

<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>46</b>
<b>5.1 Perfil clínico-epidemiológico e prevalência de espécies fúngicas.....</b>	<b>46</b>
<b>5.2 Comparação entre identificação fenotípica e por MALDI – TOF MS.....</b>	<b>56</b>
<b>5.3 Perfil de susceptibilidade aos agentes antifúngicos.....</b>	<b>63</b>
<b>5.4 Correlação teste de susceptibilidade aos antifúngicos, tratamento e desfecho clínico.....</b>	<b>74</b>
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>79</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>81</b>
<b>ANEXO A.....</b>	<b>89</b>
<b>ANEXO B.....</b>	<b>92</b>
<b>ANEXO C.....</b>	<b>93</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As infecções invasivas por fungos têm aumentado notadamente nas últimas décadas, se destacando àquelas associadas às Unidades de Terapia Intensiva e indivíduos imunocomprometidos, incluindo, recentemente a participação desses microrganismos em coinfeções em indivíduos hospitalizados por COVID-19.

Infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) são consideradas causa primária de morte evitável em indivíduos hospitalizados, estando relacionada principalmente a complicações e infecções secundárias desses indivíduos.

Essas infecções levam a maior morbidade e mortalidade, tendo como causas, principalmente, a realização de procedimentos cirúrgicos, uso de cateter sanguíneo ou urinário e ventilação mecânica.

As infecções hematogênicas e sepse são causa comum de morbimortalidade no mundo inteiro, principalmente a nível hospitalar e está entre as principais IRAS. As leveduras são a quarta principal causa dessas infecções, sendo *Candida spp* o principal agente etiológico, afetando não somente a qualidade de vida do paciente, como também gerando gastos em saúde, que são causados, em maior parte, pelo tempo prolongado de internação.

As coinfeções fúngicas têm sido relacionadas em sua maioria com infecções invasivas. Alguns fatores e mecanismos contribuem para o aumento da coinfeção fúngica, tais como a tempestade de citocinas e o processo inflamatório associado a COVID-19, juntamente com o dano da mucosa e epitélio pulmonar, desbalanço da imunidade, fatores de risco pré-existentes, o próprio tratamento com corticoides e imunossuppressores, procedimentos invasivos, uso de antimicrobianos profiláticos.

Existem poucos dados demonstrando isolados de fungos que apresentam resistência ao tratamento clínico com antifúngicos quando comparados aos de bactérias, mesmo sabendo que essa realidade é crescente e reportada mundialmente, sendo preocupante seu potencial de seleção e disseminação de resistência. O teste de susceptibilidade aos antifúngicos (TSA) é de grande importância para que haja uma correta farmacoterapia, garantindo o uso racional de medicamentos; além de possibilitar o monitoramento e detecção de linhagens resistentes.

Dada a relevância dessas infecções, a precariedade do diagnóstico laboratorial rotineiro e como consequência disso a prescrição antimicrobiana empírica, estudos epidemiológicos e de susceptibilidade aos antifúngicos são de extrema importância para orientação de conduta clínica e prognóstico.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Infecção relacionada à assistência à saúde

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), as infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) são aquelas adquiridas três dias após a internação do paciente ou após este ter recebido algum procedimento relacionado à assistência de um profissional de saúde (ANVISA, 2021).

IRAS são consideradas causa primária de morte evitável em indivíduos hospitalizados, estando relacionada principalmente a complicações e infecções secundárias desses indivíduos, levando a maior morbidade e mortalidade destes; além de gerar custos ao sistema de saúde, interferir na segurança do paciente e afetar a qualidade da assistência. A causa da infecção está principalmente associada a procedimentos cirúrgicos, uso de cateter sanguíneo ou urinário e ventilação mecânica (BOEV e KISS, 2017; ANVISA, 2021).

Na Europa, IRAS são responsáveis por até 37000 mortes e dias aumentados no tempo de internação, que somados chegam a cerca de 16 milhões por ano (ZINGG et al., 2014), sendo considerada um dos problemas mais relevantes de saúde pública tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento (FACCIOLA, 2019).

O uso de cateter está intimamente ligado às infecções hematogênicas, sendo causadas mais comumente por microrganismos como *Staphylococcus* sp coagulase negativo, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* sp e *Candida* sp; enquanto na ventilação mecânica temos infecções causadas por microrganismos da ordem Enterobacterales, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA). Quanto ao uso de cateter urinário temos *Escherichia coli*, *Candida* sp, *Enterococcus* sp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterobacter* sp como principais agentes etiológicos (ANVISA, 2021).

Dentro do ambiente hospitalar, principalmente ao redor de indivíduos infectados ou colonizados, os microrganismos podem permanecer por horas, dias ou

meses, serem veiculados pelos profissionais de saúde e ocupar todo o ecossistema hospitalar, colocando em risco a vida de indivíduos internados (FACCIOLA, 2019).

### 2.1.1 Papel dos fungos na IRAS

Quando se trata de IRAS, leveduras do gênero *Candida sp* são as principais responsáveis por ela, principalmente relacionada ao uso de cateter sanguíneo ou urinário, correspondendo por cerca de 9 a 21% dessas infecções (ANVISA, 2021).

Leveduras do gênero *Candida sp* podem permanecer de 1 a 120 dias sobrevivendo no ambiente hospitalar, infectando superfícies, objetos, móveis, além de telefones móveis e computadores utilizados por profissionais, ar-condicionado, umidificadores de ar, dentre outros, sendo passíveis de serem transmitidos a outros indivíduos, até mesmo durante o cuidado destes com uso de mãos e/ou luvas (FACCIOLA, 2019).

Em IRAS, as leveduras são a quarta principal causa de infecção, destacando aquelas em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) e em indivíduos que se enquadram como grupo de risco, por exemplo, os imunossuprimidos, com aumento considerável de outras espécies de *Candida sp*. A taxa de mortalidade chega a 51% (TURE e ALP, 2018).

Um estudo brasileiro demonstrou que *C. albicans* lidera as IRAS com 45,4% das infecções, seguida de *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*. Em outro estudo com 351 isolados, 48,1% tiveram *C. albicans* como primeiro agente causador da infecção, seguido de *C. parapsilosis* (25,1%), *C. glabrata* (11,7%), *C. krusei* (4,3%), e *C. kefyr* (1,7%) (NEUFELD et al., 2015; TURE e ALP, 2018).

Fungos filamentosos também são causa de IRAS. *Aspergillus sp* se destaca em indivíduos imunocomprometidos causando infecções do tipo invasivas, como por exemplo, as vias aéreas inferiores. O tempo desconhecido de incubação dificulta determinar se a infecção foi adquirida durante a hospitalização ou se o paciente foi infectado ainda na comunidade. Para isso, considera-se IRAS após uma ou duas semanas de internação nesses casos. Outros fungos filamentosos vêm ganhando



destaque nas IRAS, como *Zygomycetes* spp, *Fusarium* spp, *Scedosporium* spp, e *Penicillium* spp (ALANGADEN, 2011).

Esses microrganismos continuam sendo veiculados por meio da pele de pessoas saudáveis, pelas mãos de profissionais via transmissão indireta, entre os próprios indivíduos e o ambiente ao redor destes. A situação se torna ainda mais preocupante com o aumento de linhagens resistentes aos antifúngicos disponíveis para tratamento, levando à falha terapêutica (TURE e ALP, 2018).

A prevenção ocorre de maneira similar a todas as outras IRAS, incluindo higienização correta das mãos (**Figura 1**), utilizando padrões de precaução de contato com indivíduos internados, uso de protocolos para manutenção de cateter e equipo utilizados nos indivíduos, monitoramento e vigilância constantes e ainda profilaxia quando necessário (TURE e ALP, 2018).

**Figura 1-** Principal prevenção de IRAS.



Fonte: ANVISA (2021).

## 2.2 Infecções hematogênicas

As infecções hematogênicas e sepse são causa comum de morbimortalidade no mundo inteiro, principalmente a nível hospitalar e está entre as principais IRAS. A prevalência de sepse chega a alcançar 19 milhões de casos por ano. Para sua determinação, é necessário que haja uma positividade da presença de microrganismo patogênico pelo menos uma vez em uma hemocultura, ou ainda, que haja detecção em duas ou mais ocasiões quando se trata de um patógeno considerado contaminante (CANTEY e MILSTONE, 2014; MARTINEZ e WOLK, 2016).

Na maioria das vezes, a infecção hematogênica está associada a uma infecção primária em outro sítio, que, através de vasos linfáticos, chega à corrente sanguínea. E, pode haver a entrada direta do microrganismo (CANTEY e MILSTONE, 2014), ambos podendo ser de origem bacteriana (bacteremia), fúngica (fungemia), viral (viremia), parasitária (parasitemia) e incluindo microrganismos não cultiváveis (MARTINEZ e WOLK, 2016). Essas podem ser sintomáticas ou assintomáticas, existindo ainda de forma transitória (durando de minutos a horas), intermitente (em intervalos de tempo) ou persistente (ANVISA, 2004).

O agente causador dessa infecção levará o organismo a uma resposta imunológica, que pode acarretar em sinais e sintomas característicos como: febre, calafrios, hipotensão, hipotermia, sudorese, apreensão, mudanças neurológicas, taquipneia, taquicardia, hiperventilação, mudança no tônus vascular, dentre outros. Os achados laboratoriais incluem leucocitose com neutrofilia, alcalose respiratória, disfunção renal, hipoglicemia, elevação das transaminases, dentre outros (MARTINEZ e WOLK, 2016).

Na ausência de tratamento, uma sepse progride para um choque séptico, com presença de hipotensão e/ou hiperlactacidemia, que culmina em disfunção de órgãos e morte (CAWCUTT e PATERS, 2014). Do total de infecções hematogênicas, cerca de metade dos casos chegam ao choque séptico e, aproximadamente, metade destes resultam em óbito.

A sobrevivência do paciente está diretamente relacionada a uma correta terapêutica, incluindo o uso racional dos antimicrobianos. Inicialmente, o tratamento

empírico com antimicrobianos de amplo espectro deve ser a escolha (uma vez que a probabilidade de óbito aumenta 7% a cada hora) até que a cultura do possível patógeno chegue a uma identificação e, conseqüentemente, o resultado *in vitro* do teste de susceptibilidade aos antimicrobianos (TSA) possa nortear o manejo correto do caso (SHAMA e KUMAR, 2008).

Além de tratar, é importante identificar o foco da infecção que causou a sepse, seja do trato urinário, respiratório, ferida, cateter, abscesso, abdominal ou outros (MARTINEZ e WOLK, 2016).

Em muitos casos, o sistema imunológico é capaz de gerar uma resposta efetiva quanto a presença de possíveis patógenos no sangue. No entanto, existem fatores de risco que aumentam a probabilidade de uma infecção hematogênica e sepse: idade (faixas etárias extremas), sexo (prevalecendo o masculino), etnia (maiores incidências em descendentes africanos), pessoas que convivem com o vírus da imunodeficiência humana (HIV), transplantados, uso de imunossupressores e quimioterápicos, hospitalização prolongada, doenças de base como diabetes, submissão a procedimentos invasivos, neoplasias, diálise, cirrose, queimaduras, procedimentos cirúrgicos, dentre outros. Os índices de sobrevivência a sepse ou choque séptico tem aumentado de 20% para 70% em algumas populações, que passam a apresentar menor tempo de vida, ou ainda sequelas que diminuem sua qualidade de vida. A taxa de mortalidade é maior quando a infecção é associada a bactérias Gram-negativas e leveduras (ANGUS et al., 2001; ANVISA, 2004; MARTINEZ e WOLK, 2016).

### 2.2.1 Fungemia

A importância clínica de infecções causadas por fungos apresentou relevância somente a partir das décadas de 1970 e 1980, mesmo depois da associação causal da primeira infecção documentada por *C. albicans* em 1839 por Langenbeck (GIOLO e SVLDZLNSKL, 2010).

As infecções invasivas por fungos têm aumentado notadamente nas últimas décadas, se destacando àquelas associadas às Unidades de Terapia Intensiva (UTI)

e indivíduos imunocomprometidos, demonstrando aumento de 23 casos a cada 100000 indivíduos para 29 casos no decorrer de uma década, sendo em sua maioria adquiridas na unidade hospitalar, tendo como principal fonte de infecção o uso de cateter e dispositivos intravenosos (ALANGADEN, 2011). Os gêneros *Aspergillus* spp e *Candida* spp são os microrganismos associados com maiores taxas de mortalidade, alcançando entre 40 a 60% (GIOLO e SVLDZLNSKL, 2010; HE et al., 2015). Além desses, ainda se destacam infecções por *Cryptococcus* spp, *Penicillium* spp e *Histoplasma capsulatum* (TARAMASSO, TATARELLI e DI BIAGIO, 2016; TORTORANO et al., 2021).

Fungos filamentosos oportunistas como *Fusarium* sp., *Acremonium* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Mucor* sp. e alguns demácios também se encontram na lista, podendo se disseminar, a partir da inalação de esporos presentes no ar, em indivíduos susceptíveis (ANVISA, 2010).

### 2.2.2 Candidemia

Dentre as fungemias, *Candida* spp é o maior agente causador, principalmente nas unidades hospitalares do mundo todo, estando entre a quarta e sétima causas de infecções invasivas (ANTINORI et al., 2016). Dentre as espécies relacionadas a candidemia, prevalecem *C. albicans*, *C. glabrata* (*Torulopsis glabrata*), *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. lipolytica*, *C. kefyr*, *C. inconspicua*, *C. norvegensis* e *C. catenulata*; podendo ainda estender para outras espécies como *Pichia* spp. (*Hansenula* spp.), *Rhodotorula* spp. e *Trichosporon* spp. Para que seja considerado candidemia, é necessário que duas ou mais hemoculturas sejam positivas para a mesma espécie de *Candida* sp (ANVISA, 2010).

Uma vez que há um aumento crescente na expectativa de vida de indivíduos com neutropenia, transplantados, vivendo com HIV, distúrbios metabólicos, dentre outras comorbidades nas últimas décadas, somado a melhoria de técnicas para identificação dos casos, há também um aumento de fungemias. Ainda assim, metade dessas infecções são consideradas indetectáveis em culturas de sangue. Só

nos Estados Unidos da América (EUA) houve um aumento de 207% de casos em 20 anos (GUINEA, 2014; GIOLO e SVLDZLNSKL, 2010; TORTORANO, 2021).

A candidemia não somente afeta a qualidade de vida do paciente, como também gera gastos em saúde, que vem, em maior parte, pelo tempo de internação. Sua incidência está relacionada a aspectos geográficos e epidemiologia local. A transmissão dessas candidemias pode se dar por via endógena (quando gerada a partir da própria microbiota) ou exógena (infecção relacionada à assistência à saúde). Além da imunidade comprometida, a infecção pode se instalar devido aos fatores de virulência relacionados e que possuem ação sinérgica, como capacidade de expressão de enzimas extracelulares, fosfolipases e proteinases; produção de substâncias tóxicas lesivas; capacidade de adesão; formação de biofilmes; produção de tubo germinativo por algumas espécies de *Candida spp.*; produção de hemolisinas; hidrofobicidade da superfície celular e resistência ao peróxido de hidrogênio (GIOLO e SVLDZLNSKL, 2010; TORTORANO, 2021).

Nos últimos anos, diversos alertas têm sido publicados para a detecção de *C. auris*, levedura que tem emergido nos cinco continentes (**Figura 2**) e causado expressivo número de óbitos e resistência aos antifúngicos. Os alertas provêm de importantes órgãos e centros como *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC, USA) em 2016 e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, BRASIL) em 2017. Desde então, diversos são os estudos e a busca pela identificação desta levedura (CLANCY e NGUYEN, 2017; ANVISA, 2017).

**Figura 2-** Em azul: países que reportaram indivíduos infectados por *C. auris*, incluindo Brasil, até 2021.



Fonte: CDC (2022).

*C. auris* foi primeiramente isolado e descrito como patógeno em 2009 no Japão (SATO et al., 2009). Desde então, estudos vêm demonstrando diversos fungos identificados erroneamente como não *C. auris* no mundo todo, limitando técnicas morfológicas, fisiológicas e bioquímicas e aquelas dependentes de cultivo para sua identificação, como uso de auxanograma, microcultivo e perfil fenotípico das colônias, bem como a produção ou não de pigmentos. Esse tipo de erro tem sido ligado a proximidade genética que algumas linhagens apresentam frente a outros fungos, como *C. lusitanae* e *C. haemulonii* (**Figura 3**). Apesar de toda similaridade genética, o uso da Espectrometria de Massa por Tempo de Voo – Ionização/Dessorção a Laser Assistida por Matriz (MALDI – TOF MS) para identificação de *C. auris* tem apresentado um bom resultado e está sendo a técnica de escolha após uma triagem de linhagens selecionadas, com acurácia de 100%, rapidez e facilidade (ANVISA, 2017; SMITH et al., 2018; CDC, 2022).

**Figura 3-** Porcentagem de nucleotídeos idênticos de algumas espécies comparados com *C. auris*.

<b>Organismo</b>	<b>% identidade</b>
<i>Candida auris</i> (linhagem Sul Asiática)	100
<i>Candida auris</i> (linhagem Sul Africana)	99
<i>Candida auris</i> (linhagem Leste Asiática)	99
<i>Candida lusitanae</i>	82
<i>Candida haemulonii</i>	82
<i>Candida guilliermondii</i>	80
<i>Candida ciferrii</i>	80
<i>Candida pseudohaemulonii</i>	79
<i>Candida duobushaemulonii</i>	79
<i>Candida tropicalis</i>	79
<i>Candida kefyr</i>	79
<i>Candida pelliculosa</i>	78
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	77
<i>Candida utilis</i>	76
<i>Candida famata</i>	75
<i>Candida parapsilosis</i>	70
<i>Candida magnoliae</i>	46
<i>Candida albicans</i>	43
<i>Candida krusei</i>	43
<i>Candida glabrata</i>	42
<i>Candida inconspicua</i>	42
<i>Candida norvegensis</i>	42
<i>Candida rugosa</i>	39

Fonte: SMITH (2018).

O primeiro isolado clínico de *C. auris* presente na América Latina foi em 2012 na Venezuela (com publicação em 2016). As principais correlações com a infecção incluem indivíduos criticamente adoecidos e com câncer, além daqueles expostos aos antimicrobianos de amplo espectro e procedimentos médicos invasivos, com isolados a partir de culturas provenientes de sangue e/ou cateter (CALVO et al., 2016).

O primeiro caso confirmado no Brasil foi no estado da Bahia, em um paciente com complicações devido ao novo coronavírus (COVID-19), em dezembro de 2020, identificado por MALDI-TOF MS (MACHADO, DALMOLIN e BRANDAO, 2021).

### 2.3 Aspectos epidemiológicos

O estudo e identificação de leveduras em nível de espécie e sua correlação com diversidades epidemiológicas são importantes para monitorar as taxas de infecções e a identificação de surtos em ambientes hospitalares e na região em estudo. Há dados que demonstram uma certa prevalência de agentes de *Candida sp* causadoras de infecções invasivas, principalmente relacionadas com diferenças geográficas, como por exemplo, o predomínio de infecções causadas por *C. glabrata* na América do Norte, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* na América do Sul, Europa e Ásia, e *C. albicans* no sudeste brasileiro. Explicações apontam para aspectos climáticos, uso indiscriminado de medicamentos e cuidados na manipulação de cateter central (COLOMBO e GUIMARAES, 2003; GUINEA, 2014). Até 1997, *C. albicans* dominava as infecções no mundo todo, quadro que tem mudado desde então e tem servido de alerta, devido a peculiaridades relacionadas à resistência aos antifúngicos (MURPHY e BICANIC, 2021; TORTORANO et al., 2022).

A incidência de infecções por *Candida sp* na França passou de 1,9 por 100000 habitantes em 2001 para 3,6 em 2010. Nos EUA, a hospitalização por casos de candidemia subiu 52% de 2000 a 2005. Dentre diversos estudos, cinco são as principais espécies causadoras de infecções por leveduras (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*), responsáveis por 90% dos casos (ANTINORI et al., 2016).

Outros aspectos epidemiológicos importantes são idades extremas (*C. glabrata* tem sido predominante em idosos, *C. albicans* em adultos e *C. parapsilosis* em neonatos), doenças de base (*C. krusei* associado a indivíduos imunodeficientes, *C. glabrata* em indivíduos transfusionais, *C. albicans* em transplantados de órgãos sólidos), cirurgias, uso profilático de antifúngico (uso de fluconazol associado a predomínio de *C. glabrata* e *C. krusei* e uso de caspofungina associado a *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. krusei*), falha terapêutica e antimicrobianos de amplo espectro. Em todos os casos, há importantes aspectos relacionados ao tipo de antifúngico utilizado em determinado local, faixa etária e situação, e ao modo como os procedimentos são realizados e os cuidados manipulados, uma vez que *Candida*



sp é facilmente transmitida e adquirida entre indivíduos e profissionais de saúde (GUINEA, 2014; ANTINORI et al., 2016).

#### **2.4 Coinfecção fúngica em indivíduos com COVID-19**

A COVID-19 é uma doença causada pelo coronavírus SARS-CoV-2, que apresenta um quadro clínico que varia de infecções assintomáticas a quadros respiratórios graves, sendo disseminada amplamente pelo mundo, se tornado uma pandemia global e atingindo milhões de pessoas. Desde então, em alguns indivíduos, têm desencadeado sinais e sintomas graves, principalmente a síndrome respiratória aguda grave, pneumonia e morte (SHARMA et al., 2020).

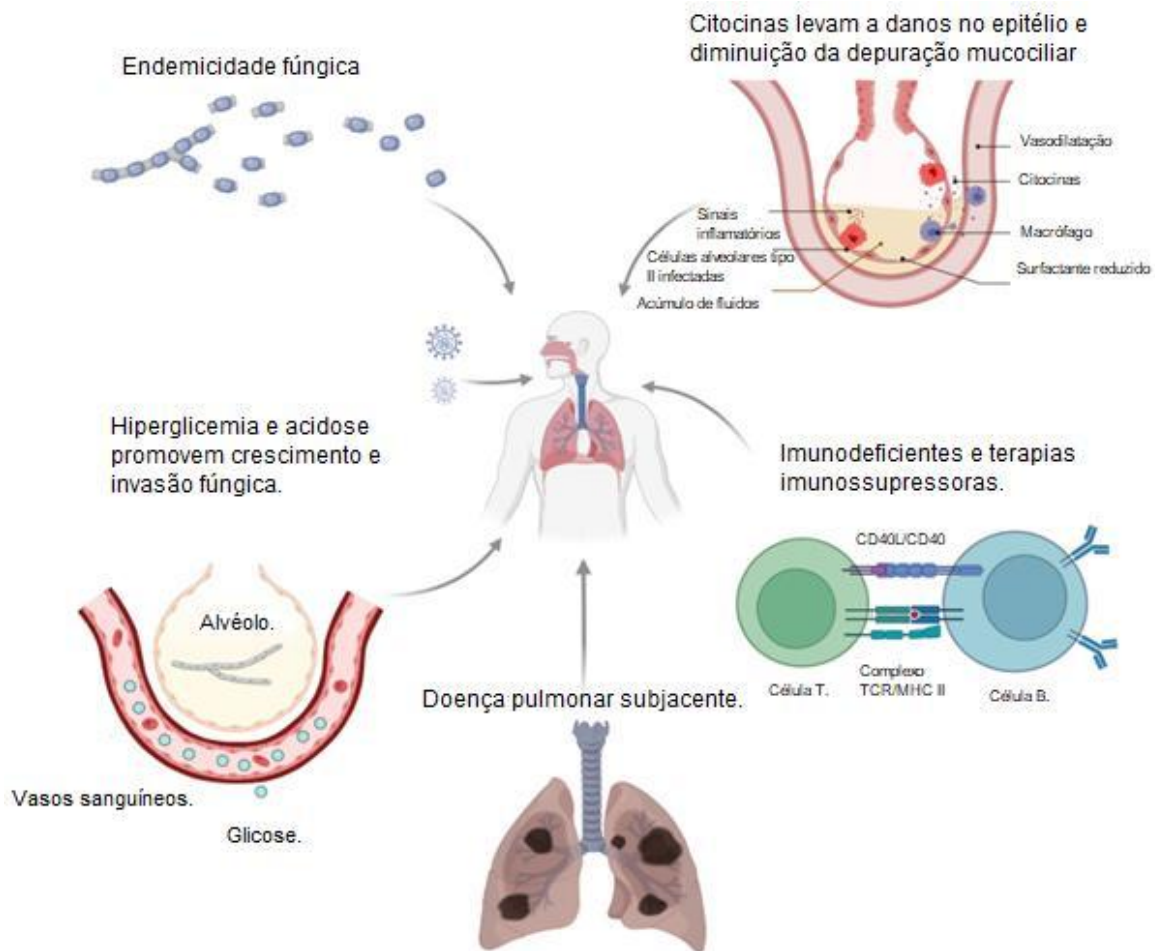
Pessoas infectadas por SARS-CoV-2 apresentam maiores chances de serem hospitalizadas, o que pode levar a um tempo maior de internação e enfraquecimento do sistema imunológico, podendo desencadear infecções secundárias por patógenos oportunistas e causando coinfeções que aumentam a morbidade e mortalidade desses indivíduos, seja por bactérias, fungos ou vírus (KUMAR et al., 2020).

Coinfeções têm sido relatadas em adultos infectados com SARS-CoV-2 internados em UTIs nos hospitais de vários países levando a maioria ao óbito. Os tipos de infecção variaram entre pneumonia bacteriana ou fúngica, pneumonia com bacteremia e infecção bacteriana do trato urinário, em sua maioria causada por microrganismos multirresistentes aos antimicrobianos. Relatos de coinfeções bacterianas e fúngicas que complicam com a COVID-19 estão sendo evidenciados em diversas partes do mundo (CHARMA et al., 2020; KUMAR et al., 2020; SALEHI et al., 2020; NARGESI, BONGOMIN e HEDAYATI, 2021; BATEN et al., 2022).

As coinfeções fúngicas têm sido relacionadas em sua maioria com infecções invasivas. Com a tempestade de citocinas e o processo inflamatório associado a COVID-19, juntamente com o dano da mucosa e epitélio pulmonar, desbalanço da imunidade, fatores de risco pré-existentes, o próprio tratamento com corticoides e imunossupressores, procedimentos invasivos, uso de antimicrobianos profiláticos,

são alguns dos fatores e mecanismos que contribuem para o aumento da coinfeção fúngica (**Figura 4**) (SALEHI et al., 2020; SHISHIDO, MATHEW e BADDLEY, 2022).

**Figura 4-** Fatores e mecanismos para a infecção fúngica invasiva em indivíduos com COVID-19.



Fonte: adaptado de SHISHIDO, MATHEW e BADDLEY (2022).

Dentre milhares de fungos conhecidos, mais de 300 espécies já foram detectadas como patógenos na coinfeção em COVID-19, principalmente fungos oportunistas pertencentes aos gêneros *Aspergillus* sp, *Candida* sp, *Cryptococcus* sp, e *Pneumocystis* sp. Já se observa que nesses indivíduos as infecções por fungos filamentosos estão mais associadas aos diabéticos, ao uso de corticosteroides, inflamação do parênquima pulmonar, idosos e indivíduos imunocomprometidos; enquanto leveduras a indivíduos com internação prolongada em UTI, submetidos à ventilação mecânica, uso de cateter e uso de imunomoduladores (NARGESI, BONGOMIN e HEDAYATI, 2021; SHISHIDO, MATHEW e BADDLEY, 2022).

As principais coinfeções fúngicas diagnosticadas em indivíduos com COVID-19 podem ter como agentes etiológicos espécies como *Rhizopus arrhizus*, *Rhizomucor pusillus*, *Apophysomyces variabilis*, e *Lichtheimia corymbifera* em mucormicose; *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus flavus* em casos de aspergilose pulmonar invasiva; *C. albicans*, *C. tropicalis*, e *C. parapsilosis* em candidíase invasiva; *Pneumocystis jirovecii* em pneumonia pneumocística (BATEN et al., 2022).

A grande preocupação se dá quanto a coinfeção fúngica na COVID-19, porque, em muitos casos, trata-se de uma infecção negligenciada, onde as manifestações clínicas demoram aparecer, enquanto a COVID-19 se agrava muito rapidamente e é tratada quase que como uma infecção única, sendo que as demais ficam subnotificadas e, conseqüentemente, sem investimentos para sua pesquisa e tratamento (NARGESI, BONGOMIN e HEDAYATI, 2021).

## 2.5 Resistência aos antifúngicos

Estudos já mostram isolados de fungos que apresentam resistência ao tratamento clínico com antifúngicos, sendo essa realidade crescente e reportada mundialmente, sendo preocupante seu potencial de seleção e disseminação de resistência (MURPHY e BICANIC, 2021; TORTORANO et al., 2022). Logo, é de grande importância o estudo da susceptibilidade aos antifúngicos, tanto quanto os mecanismos de resistência envolvidos. O *SENTRY Antifungal Surveillance Program* coleciona linhagens de fungos responsáveis por infecções invasivas de 60 diferentes hospitais localizados na América do Norte, Europa, América Latina, Ásia e região do Pacífico, avaliando as resistências e mecanismos de resistência de *Candida spp* frente a equinocandinas e azóis (CASTANHEIRA, 2017).

São três os principais alvos nas células fúngicas para efetividade clínica de antifúngicos frente ao patógeno: ergosterol, 1,3- $\beta$ -D-glucana, e o DNA/RNA.

Na célula fúngica, a anfotericina B cliva o ergosterol e rompe a integridade celular, enquanto que no hospedeiro está relacionado a complicações de nefrotoxicidade, podendo ser diminuído quando utilizados complexos lipídicos. Esse foi o primeiro antifúngico de ação sistêmica para infecções invasivas e considerado

“padrão ouro” em terapias, apresentando também baixo aparecimento de linhagens resistentes (WIEDERHOLD, 2018; ROGERS et al., 2022).

Os azóis inibem a síntese de ergosterol, além de levar ao acúmulo de seus precursores tóxicos, reduzindo a integridade celular. Como não são seletivas, essas drogas podem inibir o citocromo P450 (CYP450), ocorrendo interações medicamentosas importantes, tanto de indução quanto de inibição enzimática; ainda, há um novo mecanismo desconhecido relacionado a transportadores de adenosina trifosfato (ATP). Mesmo com seus efeitos adversos, itraconazol e fluconazol ainda são de escolha para a maioria dos tratamentos. Apesar de ser a classe com maiores casos de linhagens resistentes já relatados, tal resistência ainda está menos presente em azóis de segunda e terceira gerações, como voriconazol (ROGERS et al., 2022).

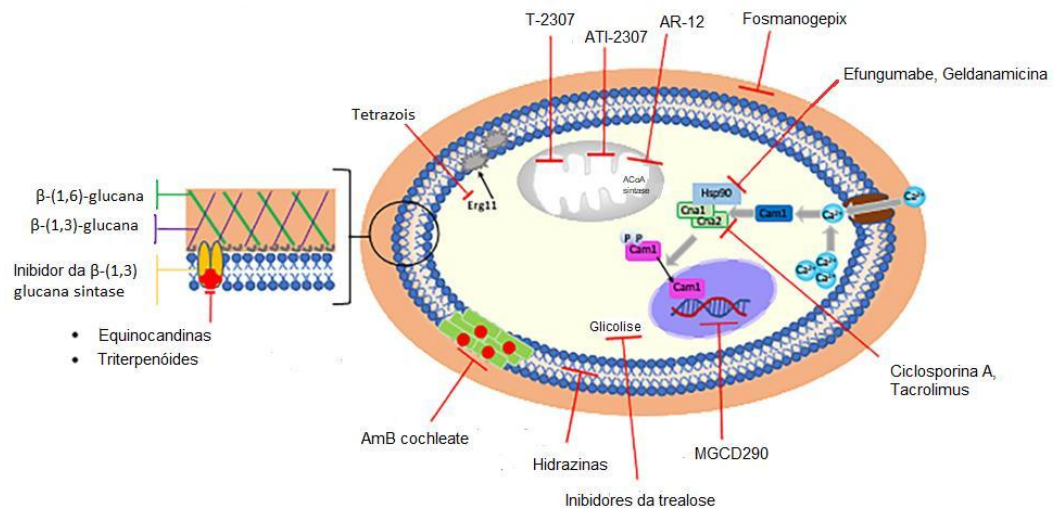
Equinocandinas atuam inibindo a síntese de 1,3 - $\beta$  -D -glucana na parede celular, tendo como fator limitante a sua administração intravenosa. No entanto, ela é a classe de antifúngicos mais recentes no uso clínico datado nos anos dois mil, como a caspofungina, utilizada principalmente para tratar candidemias e outras infecções invasivas, sendo considerado de primeira linha (ROGERS et al., 2022).

Com diversas dificuldades encontradas na administração de antifúngicos, seja pela interação, toxicidade, resistência ou limitações, há atualmente drogas com alvos terapêuticos diferenciados, como aqueles que agem impedindo a síntese de proteínas ancoradas a glicosilfosfadilinositol através da inibição da inositol aciltransferase. Essas drogas inibem a enzima diidroorotato desidrogenase, uma enzima oxirredutora que é importante para a biossíntese de pirimidina; e substâncias sideróforas que capturam o íon ferro necessário para o desenvolvimento celular (WIEDERHOLD, 2018).

O tratamento com antifúngicos continua limitado e a resistência aumentando, dependendo de novas terapias com baixa toxicidade e alta eficácia e especificidade. Com isso, possíveis novas moléculas estão sendo desenvolvidas e testadas com diferentes alvos terapêuticos, seja com sítios de ligação diferente (ibrexafungerp) ou alvos novos (fosmanogepix), bem como formulações melhoradas (anfotericina B encocleada, rezafungina, tetrazóis), e ainda alguns azóis modificados, novas equinocandinas e inibidores enzimáticos, com boas perspectivas para os próximos

5-7 anos (**Figura 5**). Algumas vantagens são as formulações orais, atividade de amplo espectro, e moléculas sem resistência cruzada a outros antifúngicos (WATERER, 2021).

**Figura 5-** Principais alvos de novos antifúngicos em desenvolvimento para uso na clínica.



Fonte: adaptado de MURPHY e BICANIC (2021).

Um estudo de metanálise comparou o uso de fluconazol e anfotericina B no tratamento empírico de 826 infecções hematogênicas por *Candida sp* e concluiu que o uso de fluconazol, apesar de melhor custo-benefício, deve ser realizado com cautela, devido aumento crescente de resistência, principalmente em *C. glabrata* e *C. Krusei*, tendo esta última resistência intrínseca ao fluconazol. Por outro lado, a anfotericina B apresenta importantes efeitos colaterais e adversos, sendo reservado para tratamentos clínicos onde a resposta ao fluconazol não seja efetiva, apresente resistência *in vitro*, ou em indivíduos gravíssimos, salientando que muitos isolados clínicos de *C. lusitanae* já são 100% resistentes. Além disso, espécies de *C. não-albicans* apresentam maior resistência ao fluconazol (SANTOS JR et al., 2005; SANTOS et al., 2009; ISHAM e GHANNOUM, 2009).

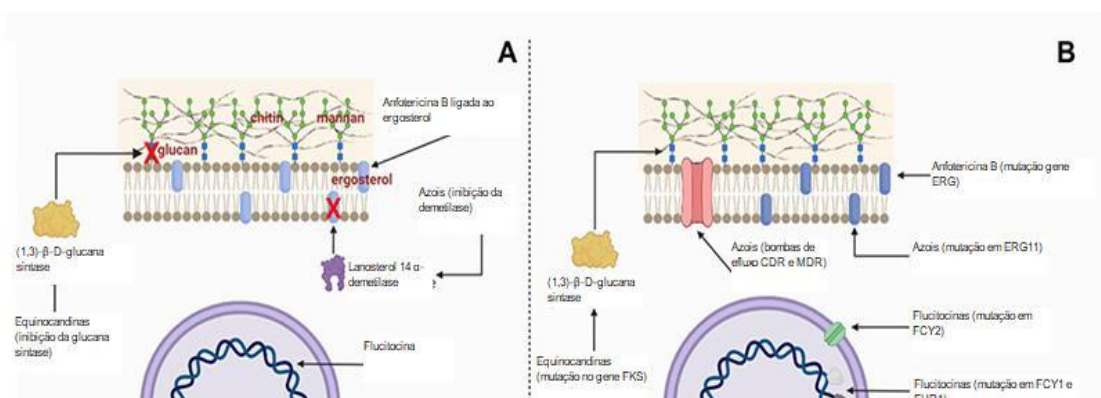
Cetoconazol tem sido reservado para infecções em que *C. tropicalis* e *C. albicans* não sejam os patógenos, devido à prevalência de resistências relatadas. Poucos são os estudos envolvendo itraconazol, logo seu uso tem sido evitado para *C. glabrata* (SANTOS et al., 2009). A resistência ao miconazol, em um estudo com número amostral de 150, foi observado em 16% das amostras (ISHAM e GHANNOUM, 2009).

O aumento dessas resistências é um alerta, devido ao pequeno arsenal terapêutico presente até o momento, a plasticidade intrínseca do genoma fúngico e seus mecanismos de resistência, que o permite sobreviver ao estresse terapêutico (MURPHY e BICANIC,2021).

A resistência pode ser intrínseca (quando as linhagens já apresentam resistência antes de serem expostas ao fármaco, pois já faz parte de seu genótipo) e adquirida ou secundária (quando a resistência se dá após a exposição de uma linhagem ao fármaco). O desenvolvimento da resistência está vinculado ao uso prolongado desses fármacos ou ainda a exposição do fungo a essas moléculas, presentes na agricultura ou no seu ecossistema (SANTOS et al., 2009; MURPHY e BICANIC,2021; GIORDANO, 2021).

Isolados resistentes aos antifúngicos apresentam uma grande variedade de mutações no gene *cyp51A*, que codifica a enzima 14- $\alpha$  lanosterol demetilase do citocromo P450 (*Erg11p*), principal alvo dos compostos azólicos. Um dos mecanismos de resistência adquiridos é a ocorrência de alterações no local de ligação dos derivados azólicos com essa enzima, que tem sido desenvolvido durante o tratamento, especialmente em *C. albicans*, com alterações de nucleotídeos no gene *ERG11* resultando em substituições de aminoácidos. O mecanismo mais presente, também, é a superexpressão de bombas de efluxo, como os transportadores ABC (ATP-binding cassette) e MFS (*major facilitator super family*), que reduzem a acumulação das drogas intracelularmente, incluindo TAC1 (*C. albicans*) e PDR1 (*C. glabrata*). (**Figura 6**) (MURPHY e BICANIC,2021; GIORDANO, 2021).

**Figura 6-** Principais vias de mecanismo de ação (**A**) e de resistência (**B**) frente ao uso de antifúngicos.



Fonte: adaptado de TORTORANO (2021).

A resistência à equinocandinas em espécies de *Candida sp* tem sido associada a mutações nos genes *fks* (especialmente em três regiões em *FKS1* e *FKS2*), que codificam as enzimas  $\beta$ -(1,3)-glucano sintase. Enquanto que a resistência aos polienos está vinculada a troca de ergosterol por outro esteroide na membrana celular e relacionado ao gene *ERG*. Outros mecanismos estão presentes, por exemplo, na mutação de enzimas que controlam a captação das moléculas antifúngicas, como citosina permease (FCY), citosina desaminase (FCA1) e fosforribosil transferase (FUR1) (MURPHY e BICANIC,2021; GIORDANO, 2021).

Além dos mecanismos, existem duas definições que devem ser levadas em consideração, a heteroresistência, sendo metabólica e fisiologicamente dinâmicas, os fungos são capazes de gerar mutações permanentes em algumas linhagens com o objetivo de adaptar-se ao estresse, sendo assim corresponde a menos de 0,1% de uma subpopulação isogênica e que expressa uma concentração inibitória mínima (CIM) mais elevada, achado estudado principalmente em espécies de *Cryptococcus* SP (MURPHY e BICANIC,2021).

Outra definição é a tolerância, que embora difere de resistência, ela pode surgir em falha terapêutica, uma vez que linhagens tolerantes tornam-se mais responsivas ao estresse ao modular sinalizações que podem diminuir a atividade metabólica, como a de cálcio pela calmodulina, da serina/treonina fosfatase, ou ainda o aumento do conteúdo de quitina da parede celular (MURPHY e BICANIC,2021).

## 2.6 Teste de susceptibilidade aos antifúngicos

Devido a necessidade de padronização da susceptibilidade aos antifúngicos, o comitê da *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) elaborou, em 1997, documentos de validação de métodos capazes de determinar quantitativamente a sensibilidade *in vitro* de leveduras, com ensaios que sejam reprodutíveis no mundo inteiro, apresentando meios de cultura, inóculo ideal, tempo e temperatura de incubação, métodos de micro e macrodiluição, determinação de halos de leitura, dentre outros (VICTOR, 2002). O teste de susceptibilidade aos antifúngicos (TSA) ou teste de susceptibilidade aos antifúngicos é de grande valia para que haja uma

correta farmacoterapia, garantindo o uso racional de medicamentos; além de possibilitar o monitoramento e detecção de linhagens resistentes. Infelizmente, ainda não há a mesma contribuição, informação e estudos como das bactérias, inclusive por parte de outros compêndios e padronizações elaboradas por órgãos como EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) e BrCAST (*Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*). Além da metodologia de referência apresentada pelo CLSI, há alternativas comerciais de *E-test* e difusão em disco apresentando boa correlação, apesar de não estar validado para todos os antifúngicos e diferentes espécies de leveduras (GIOLO e SVLDZLNSKL, 2010).

A resistência aos antifúngicos se dá pela relação fármaco/fungo/hospedeiro, sendo o último mais relevante. A resistência clínica pode ocorrer pela baixa distribuição do fármaco e disponibilidade deste nos sítios de ação ou ainda devido à imunodepressão; enquanto que a resistência *in vitro* pode ser intrínseca ou adquirida. Os maiores relatos de resistência são demonstrados para o fluconazol, principalmente em pessoas que convivem com HIV. Nos EUA, *C. albicans* representava 33% dessas resistências frente a 1579 linhagens, enquanto outras espécies de *Candida* sp foi de 6% até 1998, destacando-se *C. glabrata* e *C. krusei* (SOBEL, 2001).

Linhagens resistentes têm surgido não somente em animais, mas também em plantas, o que pode levar à extinção de espécies animais por escassez de alimentos. Esses problemas se agravam com a globalização, aquecimento global e outros fatores. Essas linhagens podem então se disseminar para a sociedade e atingir o ambiente hospitalar, dificultando o tratamento de infecções causadas por *C. auris*, *Cryptococcus gattii* e *Aspergillus fumigatus*, por exemplo (KAKEYA, 2022).

O conceito *One Health* (Saúde Única) é uma abordagem recente na ciência, que pode ser definida como um esforço multidisciplinar e vem ganhando espaço quanto a discussões relacionadas à saúde e epidemiologia. Trata-se de uma relação íntima entre saúde humana, animal e ecossistema, incluindo a agricultura e alimentação, considerando a indissociabilidade entre essas diferentes áreas e busca resposta para problemas mais relevantes. Por objetivo deseja-se alcançar resultados de saúde ideais, sendo possível, inclusive, estabelecer conexões que expliquem a disseminação de linhagens de microrganismos resistentes às drogas (KAKEYA, 2022).



O *European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases* (ESCMID) e *Infectious Diseases Society of America* (IDSA) consideram equinocandinas como terapia de primeira linha com amplo espectro de ação contra biofilmes e *Candida spp* onde *C. parapsilosis* não é prevalente. Fluconazol deve ser considerado na escolha quando há evidência de susceptibilidade a ele ou ainda quando se trata de infecções menos graves; logo, a epidemiologia deve ser soberana na escolha do tratamento e o manejo deve ser adaptado quando não há indícios de melhora, que deve ser notado (quando não há complicações) após 14 dias de administração do fármaco (MELLINGHOFF et al., 2018).

A correta identificação de espécies é crucial, dado que diferentes espécies apresentam peculiaridades em termos de fatores de virulência e perfil de susceptibilidade aos antifúngicos. Desta forma, estratégias de diagnóstico e detecção de resistência devem ser implementadas na rotina clínica para que haja uma correta terapia, principalmente em infecções fúngicas invasivas, que são as maiores causas de morbidade e mortalidade dos indivíduos (GIORDANO, 2021).

## **2.7 Identificação de fungos**

Grande parte da identificação microbiológica tem sido executada usando métodos clássicos que envolvem cultura e testes fenotípicos, além da pesquisa das diferenças metabólicas que existem entre as espécies (PASTERNAK, 2012).

Para espécies de fungos filamentosos e leveduras ainda existem os dados baseados na morfologia, principalmente os ligados às estruturas reprodutivas, o que pode limitar a identificação, pois há culturas que não desenvolvem estruturas reprodutivas e outras que apresentam semelhança morfológica (DIANESE e SANTOS, 2010), necessitando assim de testes que evidenciem os padrões bioquímicos e enzimáticos desses fungos (SIDRIM e MOREIRA, 1999).

Para o achado e identificação de fungos filamentosos e termodimórficos na fase filamentosa, muitas vezes são feitas sementeiras em meios de cultura seletivos, o qual evidenciará uma morfologia típica, sendo observadas características macromorfológicas das colônias como: tamanho, características dos bordos, textura,

relevo, coloração e pigmento, e assim, sugerir o possível gênero do fungo. No entanto, a identificação final é realizada pela observação das características microscópicas, observando as hifas e estruturas reprodutivas. Outras técnicas ainda se baseiam nas necessidades nutricionais desses fungos, denominadas provas nutricionais, utilizando, por exemplo, composição diferenciada de histidina, tiamina, inositol e ácido nicotínico (SIDRIM e MOREIRA, 1999).

Além das características macro e microscópicas, para a identificação de leveduras, é necessária a realização de provas bioquímicas, como o zimograma, que consiste na capacidade do fungo fermentar um determinado açúcar para seu crescimento, com produção de CO<sub>2</sub>, não havendo necessidade de indicador, devido a produção de gás; e auxanograma (provas de assimilação de fontes de carbono e nitrogênio), que observa o crescimento microbiano na presença de diferentes fontes de carbono e nitrogênio (assimilação) (LACAZ et al., 2002). A prova do tubo germinativo tem sido utilizada em alguns casos, a qual consiste na capacidade da levedura formar filamentos quando semeada em soro (SIDRIM e MOREIRA, 1999).

Outros testes realizados são a prova da urease, o uso de diferentes temperaturas para crescimento, uso de meios especiais com alto teor de carboidratos e/ou cloreto de sódio, susceptibilidade a determinados antifúngicos e outros. Todas as provas podem ser utilizadas em conjunto para a identificação de uma espécie (LACAZ et al., 2002).

A maioria das técnicas utilizadas para estudo microbiano é dependente de cultivo, e isso possibilita a avaliação de pequena porção de sua diversidade, pois muitos dos microrganismos não são cultiváveis ou estão em uma quantidade abaixo do ideal para cultura. Com isso, são necessárias técnicas que possam identificar microrganismos cultiváveis e não cultiváveis (ERCOLINI, 2004).

A Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) vem sendo utilizada na identificação de patógenos presentes em amostras e que não é possível seu fácil cultivo (como é o caso de vírus, por exemplo SARS-Cov-2) ou quando não há quantidade suficiente para identificação por outros métodos, e assim permite a identificação de espécies a partir de fragmentos específicos de DNA com seus pares de bases, os quais são amplificados e detectados (MACHADO et al., 2015).

Por outro lado, ainda temos a Eletroforese em Gel com Gradiente Desnaturante (DGGE) que é um método de separação electroforético baseado em diferenças no comportamento de desnaturação de fragmentos de DNA de cadeia dupla, e é capaz de determinar, descrever e monitorar a diversidade da comunidade microbiana de ambientes complexos (MACHADO et al., 2015).

Os métodos semi-automatizados e os automatizados podem agregar no laboratório de microbiologia, principalmente dentro do contexto hospitalar, aumentando a produtividade, permitindo um aumento contínuo no volume de amostras, apesar dos orçamentos limitados e da falta de pessoal (GONZALEZ et al., 2020).

Dentre os sistemas automatizados, o VITEK usa cartões de identificação que possibilita a realização de vários testes fornecendo resultados e identificação de espécie e susceptibilidade aos antimicrobianos de forma rápida e segura a partir de uma cultura. Os cartões destinados à identificação dos microrganismos contêm substratos bioquímicos e um poço de controle de crescimento, além de marcadores de resistência, proporcionando a identificação rápida e precisa a nível de espécie de mais de 350 bactérias e leveduras clinicamente relevantes (GONZALEZ et al., 2020).

## **2.8 MALDI – TOF MS**

Com as dificuldades encontradas em métodos clássicos, novas técnicas dependentes de cultivo têm sido desenvolvidas. Um grande progresso são os estudos proteômicos para identificação das espécies fúngicas ou bacterianas (PASTERNAK, 2012), tais como a técnica de Espectrometria de Massa por Tempo de Voo – Ionização/Dessorção a Laser Assistida por Matriz (inglês: *Matrixassisted laser desorption ionization – time of flight mass spectrometry*), MALDI – TOF MS, uma poderosa ferramenta para identificação de agentes microbianos, incluindo fungos, (BECKER et al., 2014). Esta técnica compara espectros gerados a partir dos perfis de peptídeos do microrganismo com espectros de referências existentes em bancos de dados (GOUBA e DRANCOURT, 2015).

Utilizando o sistema MALDI – TOF, microrganismos desconhecidos, como leveduras e fungos filamentosos, podem ser identificados a partir dos picos gerados pela extração de peptídeos/proteínas das células lisadas, principalmente as de parede das leveduras e conídios e parede dos micélios em fungos filamentosos, por comparação de seu espectro de massa com um Banco de Dados de Espectros de Referência (BDER). Essa técnica analisa o conteúdo protéico celular, geralmente abundantes, de caráter básico e hidrofobicidade intermediária, tais como proteínas ribossomais, que sob a forma de um espectro gerado por diferença de massa e carga dessas moléculas é capaz de identificar em nível de espécie (GIORDANO, 2021).

As amostras podem ser coletadas para identificação a partir de espécimes clínicos, biópsias, ou até mesmo de superfícies, e logo depois inoculadas em um meio de cultura para seu crescimento e isolamento, com posterior identificação no MALDI – TOF MS (GOUBA e DRANCOURT, 2015).

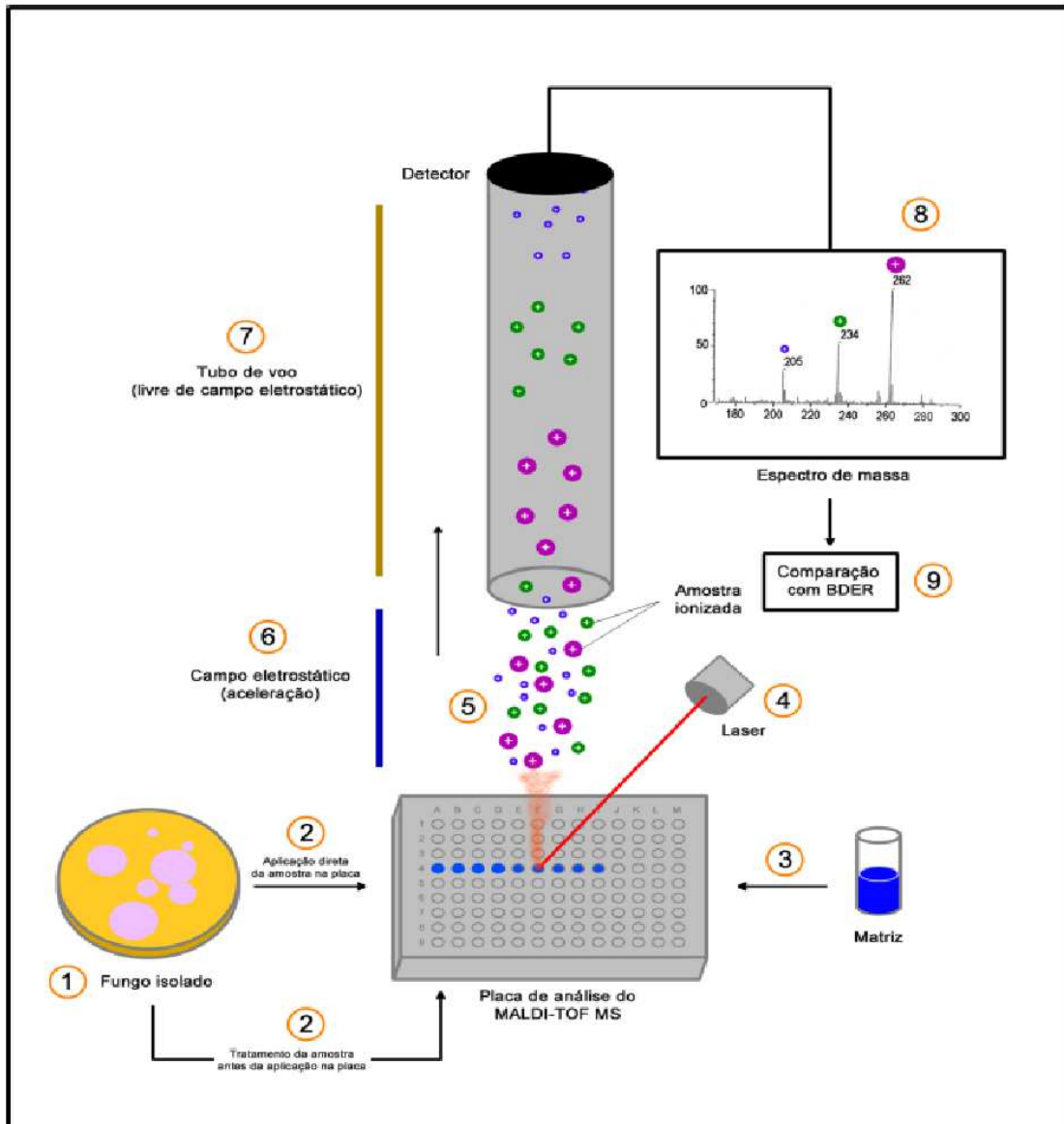
É necessária a mistura do isolado (amostra) com a matriz, sendo as mais utilizadas constituídas por ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico (CHCA) ou o ácido 2,5-di-hidróxi-benzoico (DHB) (DIANESE e SANTOS, 2010). Posteriormente, ocorre evaporação dos solventes e cristalização. O depósito formado pela amostra e a matriz é realizado sobre uma placa metálica condutora, que pode conter divisões que acomodam 48 ou 96 testes (JÚNIOR, 2014).

A dessorção/ionização ocorre pela incidência de um feixe de *laser*, que opera em um determinado comprimento de onda, sobre a mistura matriz (composto orgânico capaz de absorver radiação na região do espectro onde o *laser* opera) e analito. Deve-se garantir o excesso de matriz para a cristalização da amostra e a incorporação do analito. Os *lasers* geralmente operam na região que varia do ultravioleta ao infravermelho, podendo ser gasosos ou sólidos, e devem operar em modo pulsado (DIANESE e SANTOS, 2010).

A matriz absorve energia do *laser* levando à dessorção dos analitos que são então vaporizados e ionizados na fase gasosa. As moléculas ionizadas são então aceleradas em um campo eletrostático e ejetadas em um tubo de voo em vácuo, até que atingem um detector, onde íons menores chegam mais rápidos que os maiores. O tempo de voo (*Time of Flight*) necessário para atingir o detector é dependente da massa e carga do bioanalito, sendo assim, o espectro de massa será gerado de acordo com a massa, carga e intensidade dos íons, levando à construção de

diferentes picos, que comparados a picos de referência, revelam a identificação do bioanalito (**Figura 7**) (CROXATTO, PROD'ROM e GREUB, 2012).

**Figura 7-** Representação do funcionamento do MALDI – TOF MS.



Fonte: OLIVEIRA (2016).

A técnica de MALDI – TOF MS tem sido muito utilizada. Seu sistema bem estabelecido permite uma identificação rápida e confiável de bactérias (FOURNIER et al., 2013) e vírus (CROXATTO, PROD'ROM e GREUB, 2012), mas sua utilização para identificação de fungos ainda apresenta algumas limitações, principalmente para os fungos filamentosos, como a dificuldade na extração de suas proteínas e a escassez de amostras de referência do banco de dados comparativo (SCHULTHESS et al., 2014).

O primeiro relato do uso do MALDI – TOF MS para identificação de leveduras ocorreu em 2001 (BADER, 2013), e desde então iniciou-se também as identificações de fungos filamentosos (SCHULTHESS et al., 2014) e daqueles que apresentam termodimorfismo (KOLECKA et al., 2013). Com isso, vários gêneros de fungos puderam ser identificados por esta técnica, como *Candida spp*, *Aspergillus spp*, *Penicillium spp*, *Fusarium spp*, *Scedosporium spp*, *Trichoderma spp*, *Verticillium spp*, e os gêneros de fungos dermatófitos, como *Microsporum sp*, *Epidermophyton sp* e *Trichophyton sp* (BECKER et al., 2014).

Com o aumento de estudos, principalmente clínicos, utilizando MALDI – TOF MS para identificação de fungos, tem-se buscado o aprimoramento desta técnica, ampliando o conteúdo presente nos bancos de dados, levando a resultados mais confiáveis e abrangentes, tanto de gênero quanto de espécie. Apesar de bem estabelecido para estudos bacteriológicos, várias pesquisas utilizando MALDI-TOF MS remetem a estudos micológicos (BADER, 2013).

Essa técnica é uma nova ferramenta para os estudos em laboratórios de microbiologia, pois além de apresentar-se como de menor custo, algumas avaliações da técnica têm demonstrado que os resultados do MALDI – TOF MS se assemelham aos resultados de identificação molecular, com rapidez, eficiência e facilidade de uso (JUNIOR, 2014).

Os estudos avaliativos da técnica têm apresentado uma taxa de eficiência entre 89% a 96% na identificação de espécies fúngicas, ou seja, maior rendimento com o mínimo de erros, apresentando uma maior taxa relacionada às espécies de interesse clínico (BECKER et al., 2014).

Além de identificar, MALDI -TOF MS também pode determinar o índice de susceptibilidade aos antimicrobianos, e já existem métodos descritos para tal finalidade que tem demonstrado ótimos resultados, inicialmente aplicados para bactérias e atualmente para leveduras. Baseado na ferramenta Índice de Correlação de Compósitos (ICC), a técnica passa a ser capaz de detectar mudança da composição proteica microbiana induzida pela exposição a um fármaco, de modo a inferir a Mudança Mínima no Perfil de Concentração (MMPC). A MMPC é definida como a concentração mais baixa da droga capaz de demonstrar mudanças no perfil proteico do microrganismo, exposto a diferentes concentrações da droga e um controle sem droga, demonstrando ser análoga ao MIC com 94% de confiabilidade (GIORDANO, 2021).

Uma das vantagens descritas do teste é a eliminação da subjetividade presente na leitura visual dos resultados do método de referência e a diminuição do tempo de diagnóstico (BERKOW, 2020).

Visto a necessidade de determinar aspectos epidemiológicos, de resistência e identificação rápida e precisa de infecções fúngicas, o presente trabalho visa buscar características regionais que direcionam o tratamento e melhor desfecho clínico em indivíduos acometidos com infecção fúngica. Destaca-se a importância de estudos que avaliem a resistência aos antifúngicos das amostras clínicas, bem como a caracterização das espécies por métodos moleculares.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Avaliar aspectos epidemiológicos e de resistência aos antifúngicos de leveduras identificadas por MALDI-TOF MS de isolados de amostras hematogênicas e de coinfeção fúngica em indivíduos com COVID-19 na Zona da Mata Mineira.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Avaliar o perfil epidemiológico e de resistência aos antifúngicos das amostras de leveduras isoladas de indivíduos com infecção hematogênica no período de 2015 a 2018;
- Avaliar o perfil epidemiológico e de resistência aos antifúngicos das amostras de leveduras isoladas de indivíduos com coinfeção fúngica na COVID-19 no período de 2019 a 2021;
- Comparar a técnica de identificação utilizada na rotina laboratorial com a identificação molecular por MALDI – TOF MS;
- Comparar o perfil de resistência entre os grupos no período de 2015 a 2021;
- Avaliar o desfecho clínico e o uso de antifúngicos.



## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Delineamento do estudo

O estudo de amostras obtidas a partir de infecções hematogênicas trata-se de um estudo transversal, retrospectivo, descritivo e observacional, realizado com a análise de amostras coletadas a partir de 47 indivíduos de ambos os sexos, previamente internados em hospital público na região da Zona da Mata Mineira no período de 2015 a 2018.

O critério de inclusão foi a presença de, pelo menos, uma hemocultura positiva para fungos, onde houve suspeita de infecção, sugerindo uma possível fungemia. Foram excluídas amostras provenientes de unidades ambulatoriais e as que não foram possíveis a recuperação da mesma.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, sob o parecer do comitê CAAE 12659619.5.0000.514 (**Anexo A**). Por se tratar de um estudo retrospectivo e com coleção de amostras previamente existentes foi anexado ao projeto o Termo de Dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O estudo de amostras obtidas a partir de coinfeções fúngicas trata-se de um estudo transversal, prospectivo, descritivo e observacional, realizado com a análise de amostras coletadas a partir de 44 indivíduos de ambos os sexos, internados em unidades hospitalares pública (formada por equipe multidisciplinar, com duas unidades, 156 leitos e 170047 internações ao ano) e privada (uma unidade, 190 leitos, 14153 internações ao ano), que atendem desde a medicina preventiva aos casos de alta complexidade, após diagnóstico da COVID-19, na região da Zona da Mata Mineira no período de 2019 a 2021.

Como critério de inclusão temos a confirmação diagnóstica positiva para SARS-Cov-2 por Reação da Cadeia de Polimerase em Tempo Real (RT- qPCR) dos indivíduos, indivíduos internados em uma unidade hospitalar e que apresentaram

infecção secundária, com idade superior a 18 anos de idade, ambos os sexos, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (**Anexo B**).

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, sob o parecer do comitê CAAE 32572820.6.0000.5133 (**Anexo C**).

#### **4.2 Coleta e processamento das amostras**

As amostras foram obtidas a partir da coleção da micoteca do Laboratório de Análises Clínicas dos hospitais participantes, isoladas no período de 2015 a 2021, sendo selecionadas segundo os critérios de inclusão e exclusão para o estudo.

Todas as amostras foram previamente identificadas por métodos utilizados na rotina de cada laboratório, incluindo métodos como auxanograma e microcultivo junto à triagem realizada em meio cromogênico ou sistema automatizado VITEK. Análises manuais pelo método de GRAM e meio cromogênico foram repetidas com o fim de garantir a fidelidade das identificações e a pureza da amostra após a recuperação das mesmas.

Após a separação das amostras provenientes da coleção, foram inoculados no meio de cultura líquido Infusão de Cérebro-Coração (BHI) com adição de dextrose para recuperação, sendo excluídas as amostras que não apresentaram crescimento. Foi realizado um novo repique das mesmas para o meio de cultura Ágar Sabouraud Dextrose com Cloranfenicol, incubados em aerobiose a  $28^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$  por um período de 48h a 72h, até que o crescimento das leveduras fosse observado. As amostras de leveduras isoladas foram armazenadas em meio *SkimMilk* acrescido de glicerol 20% para congelamento e possível recuperação futura.

#### **4.3 Coleta de dados dos usuários**

Os dados secundários para avaliação do perfil epidemiológico foram obtidos a partir do prontuário médico *online* adotado em cada unidade hospitalar participante.

Os dados coletados foram: idade, sexo, desfecho, duração da hospitalização pós infecção fúngica, presença de procedimento invasivo, utilização de drogas antimicrobianas, motivo da internação, infecção associada e terapia antimicrobiana utilizada.

Foram garantidas a confidencialidade e sigilo dos dados, através do Termo de Confidencialidade e Sigilo. Devido à coleta de espécimes clínicos solicitados pelo médico responsável pelo paciente, os indivíduos não foram expostos a riscos inerentes ao estudo e suas identidades foram preservadas.

#### **4.4 Identificação e análises de dados por MALDI – TOF MS**

As amostras recém-cultivadas foram utilizadas para identificação por MALDI - TOF MS no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, na Universidade Federal do Rio de Janeiro, utilizando ácido fórmico (FA)/ etanol (EtOH) para método de extração de proteína, de acordo com o protocolo *Bruker Daltonics GmbH*. O volume ótimo de FA usado variou entre 30 e 50 µl, e um volume igual de acetonitrila (ACN) foi adicionado. Um microlitro do extrato de proteína bruta foi pipetado em duplicata em uma placa de aço polido com 96 poços (*Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha*), e 1mL de solução padrão diferente de bactéria e levedura teste (*Bruker Daltonics*) foi utilizado como controle positivo. Linhagens padrão de *C. albicans* e *C. krusei* foram usadas como controle positivo para leveduras. Após secagem ao ar, todos os poços foram cobertos com a solução matriz  $\alpha$ -ciano-4-hidroxicinâmico (HCCA) preparada de acordo com o protocolo do fabricante e, após secagem, foram analisados, em ensaios automáticos operados por *FlexControl* versão 3.3.108.0 (*Bruker Daltonics*). As linhagens padrão e as amostras foram identificadas pelo *software* MALDI-TOF MS *Biotyper* RTC 3.0 (*Bruker Daltonics*).

Os espectros de identificação foram gerados com 240 disparos de *laser* para cada duplicata, que foram então comparadas com os principais dados dos espectros de massa de referências selecionadas a partir do banco de dados *Bruker Daltonics* (BDAL) e a biblioteca CBS-KNAW.

Subsequentemente, os resultados obtidos pelo MALDI – TOF MS foram pontuados como valores de *log* de acordo com as orientações do fabricante e foram classificados como: segurança de gênero e identificação de espécie, > 2,0; garantia de identificação de gênero, 1,7-2,0; identificação não confiável (NRI), <1,7. Os espectros de massa obtidos para identificação durante as medições foram visualizados por *Bruker flexAnalysis software* versão 3.3.75.0 e investigado por *ClinProTools* versão 3.0 *software Bruker Daltonics*.

#### **4.5 Teste de susceptibilidade aos agentes antifúngicos**

As amostras fúngicas isoladas foram submetidas ao teste de susceptibilidade aos antifúngicos pelo método de disco-difusão, de acordo com as recomendações e protocolos do CLSI, documento M44 (2018). Todos os testes foram realizados em triplicata juntamente com linhagens padrão de *C. albicans* ATCC 90028 e *C. tropicalis* ATCC 750, segundo interpretação do CLSI, documento M60 (2020).

As amostras foram semeadas em tubos de Ágar Sabouraud e incubadas a 35+/-2 °C por 24-48h. A partir do crescimento obtido, suspensões com turvação equivalente à escala 0,5 de *McFarland* foram preparadas em tubos de vidro contendo solução salina 0,9%. Com auxílio de *swabs* estéreis, as suspensões foram semeadas em placas contendo ágar *Mueller Hinton* (Difco, EUA) suplementado com 2% de glicose e 0,5 ug/mL de azul de metileno, de maneira a obter um melhor crescimento e facilidade na leitura dos halos, com ajuste de pH entre 7,2 e 7,4.

Discos de papel impregnados com os antimicrobianos anfotericina B (20ug) (LIOFILCHEM), voriconazol (1ug) (LIOFILCHEM), fluconazol (25ug) (LIOFILCHEM), caspofungina (5ug) (LIOFILCHEM) e itraconazol (10ug) (CECON) foram aplicados sobre a superfície dos meios de cultura inoculados. As placas foram então incubadas a 35+/-2 °C por 24-48 h. Após o período de incubação, os halos de inibição do crescimento foram mensurados e os resultados interpretados como linhagem resistente (R), intermediária (I) ou sensível (S).

A interpretação dos halos foi estabelecida utilizando como principal padronização o documento M60 do CLSI (2020). Para a leitura de halos pendentes

de padronização, esta foi realizada segundo a bula de cada droga utilizada (LIOFILCHEM/CECON), a partir de dados fornecidos pela literatura, ou ainda, considerando a semelhança filogenética entre espécies. Leituras onde não houve presença de halo foram consideradas linhagens resistentes (GONZALEZ, 2015; SILVA, 2016; SMITH et al., 2018).

*C. glabrata* e *C. krusei* foram consideradas com resistência intrínseca (RI) ao fluconazol. Espécies filogeneticamente semelhantes foram avaliadas para interpretação dos halos quando não existiu padronização (ARENDRUP, 2013).

*C. glabrata* foi avaliado segundo Demitto e colaboradores (2012), sendo os halos para voriconazol  $\geq 17$  mm (S), 14-16 mm (I),  $\leq 13$  mm (R), valores também considerados para *C. lusitaniae* e *C. haemolunii* por Pedroso e colaboradores (2014) e para *Cryptococcus* sp segundo Khan e colaboradores (2009). Para essa mesma espécie, Ingroff e colaboradores (2007) consideraram halos  $\leq 13$  mm (R) e  $\geq 14$  mm (S) para a droga caspofungina.

#### 4.6 Análise estatística

Os resultados obtidos foram organizados em planilhas do *Microsoft Excel* 2013®, realizou-se estudo descritivo dos dados, demonstrando a frequência absoluta e relativa. Ao analisar a correlação entre antifúngico administrado, expressão fenotípica de resistência e desfecho óbito foram utilizados os testes de análise de ANOVA e Bonferroni. Para análise de significância e variância em amostras independentes e valores de  $p$ , considerando  $p \leq 0,05$  no teste do qui-quadrado, foram realizadas utilizando a ferramenta *GraphPad Prism* versão 5.01®.

Para concordância e comparação dos métodos utilizados na identificação dos isolados foi utilizado o coeficiente *kappa* para análise de erro e eliminação de causalidade.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Perfil clínico-epidemiológico e prevalência de espécies fúngicas

No período estudado entre 2015 e 2018, foi possível coletar dados de 42 indivíduos após a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, dos quais foram possíveis isolar 84 amostras provenientes de infecção hematogênica.

A partir das análises, 50% (n=21) dos indivíduos pertenciam ao sexo masculino e 50% (n=21) ao sexo feminino. A média de idade foi igual a 54,5 anos, tendo por mediana 54 anos, desvio padrão igual a 18,8. Estratificando os indivíduos de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a maioria dos indivíduos foi constituída por adultos (59,5%; n=25), seguidos de idosos (38,1%; n=16) e neonatos (2,4%; n=1). Com relação aos indivíduos adultos, houve maior concentração na faixa etária entre 50 a 60 anos (28,6%; n=12).

A maioria dos indivíduos (54,8%; n=23) estavam internados em UTI. As demais unidades hospitalares foram: Clínica Médica (21,4%; n=9), Clínica Cirúrgica (11,9%; n=5), Transplante de Medula Óssea - TMO (9,5%; n=4) e Clínica Pediátrica (2,4%; n=1).

Quando avaliado o tempo de internação, verificou-se uma média de 27 dias de permanência hospitalar. Todos os indivíduos apresentaram algum fator considerado de risco para a infecção hematogênica por fungos. Todos os indivíduos avaliados estavam submetidos a tratamentos com quimioterápicos, sejam medicamentos antineoplásicos e/ou antimicrobianos.

Os principais antifúngicos utilizados no manejo terapêutico dos indivíduos neste estudo foram: fluconazol (43%; n=18) e anfotericina B (9,5%; n=4), seguido de anfotericina B e fluconazol associados (7%; n=3). Ainda foi possível identificar casos em que somente antibacterianos foram administrados (40,5%; n=17).

O predomínio de espécies isoladas foi de *C. albicans* (30,5%; n=25), *C. tropicalis* (22,4%; n=19), *C. glabrata* (11,8%; n=10), *C. parapsilosis* (10,6%; n=9), *C. lusitaniae* (7,1%; n=6), *C. orthopsilosis* (4,7%; n=4), *C. krusei* (4,7%; n=4), *C. haemulonii* (4,7%; n=4) e *Cryptococcus neoformans* (3,5%; n= 3).

A partir do segundo grupo de indivíduos apresentando teste positivo para COVID-19, foram possíveis obter 51 isolados a partir de 44 indivíduos, sendo 21 amostras provenientes de unidade hospitalar particular e 30 de unidade hospitalar pública, todos atendendo os critérios de inclusão e exclusão de coinfeção fúngica no período de 2019 a 2021.

O levantamento de dados apontou para 25 indivíduos do sexo feminino (57%) e 19 do sexo masculino (43%). A média de idade foi igual a 68,5 anos variando entre 33 e 89 anos, tendo por mediana 71 anos, desvio padrão igual a 14,8. A distribuição das idades foi constituída em sua maioria por idosos (n= 33; 76%) seguida de adultos (n= 11; 24%). Com relação aos indivíduos idosos, houve maior concentração na faixa etária entre 70 e 79 anos (n= 16; 37%).

Todos os indivíduos internados durante o período estudado de pandemia da COVID-19 eram submetidos a leitos e unidades especiais de internação, incluindo equipamentos de uso em UTI, visto ao rápido avanço de sinais e sintomas agravantes em curto período de tempo, além do uso de protocolos específicos com finalidade de evitar a transmissão do SARS-Cov-2 entre indivíduos, profissionais, familiares e comunidade, não sendo possível assim estratificar as unidades de internação entre os indivíduos. Todos os indivíduos necessitaram de cuidado intensivo e receberam alguma intervenção invasiva, como o uso de cateter e, com exceção de 7 indivíduos, todos necessitaram de ventilação mecânica invasiva.

O tempo de internação variou de 7 a 330 dias, a média foi de 40 dias de permanência hospitalar, onde 27 indivíduos tiveram óbito como desfecho clínico (61%) e 17 receberam alta após avaliação médica (39%).

Todos os indivíduos apresentaram algum fator considerado de risco para a infecção fúngica, além da infecção primária por SARS-Cov-2, como intervenção invasiva (n= 44; 100%), uso de corticoides (n= 44; 100%) e internação superior a 21 dias (n= 25; 57%) e pessoas vivendo com HIV (n=2; 4%). Além disso, todos apresentaram comorbidades que agravam o estado do paciente como doenças respiratórias (n= 15; 33%), hipertensão arterial sistêmica (HAS) (n= 33; 75%), Diabetes Mellitus (DM) (n= 20; 45%), dislipidemias (n= 5; 12%), obesidade (n= 8; 18%) e doença renal (n= 3; 6%).

No período avaliado, os principais espécimes clínicos obtidos para isolamento do agente etiológico foram: aspirado traqueal (n= 27; 53%), urina (n= 22; 43%) e sangue (n=2; 4%).

Os principais antimicrobianos administrados, segundo teste de susceptibilidade aos antibacterianos ou empiricamente e antifúngico empírico, foram: antibacteriano isolado (n= 27; 63%), antibacteriano e fluconazol (n= 8; 18%), antibacteriano e anfotericina B (n= 5; 12%), antibacteriano e amicafungina (n= 3; 6%) e ainda antibacteriano, fluconazol e anfotericina B concomitantemente (n=1; 2%).

As principais espécies fúngicas isoladas foram: *C. albicans* (n= 26; 51%), *C. tropicalis* (n= 16; 31%), *C. glabrata* (n= 6; 12%), *Trichosporon asahii* (n= 2; 4%) e *Pichia kudriavzevii* (n= 1; 2%).

Todos os dados clínico-epidemiológicos podem ser verificados e comparados no **Quadro 1**.



**Quadro 1-** Perfil clínico-epidemiológico de indivíduos com fungemia no período de 2015-2018 e com coinfeção fúngica na COVID-19 entre 2019-2021 (NA= Não se Aplica)

<b>Parâmetros</b>		<b>Fungemia (2015-2018)</b>	<b>Coinfeção (2019 – 2021)</b>	<b>Valor do qui-quadrado (<math>\rho</math>)</b>
<b>Sexo: n (%)</b>	Masculino	21 (50)	19 (43)	0,321
	Feminino	21 (50)	25 (57)	
<b>Idade: n (%)</b>	< 1 ano	1 (2)	0 (0)	0,0001
	1 – 20 anos	1 (2)	0 (0)	
	21 – 40 anos	11 (23,5)	2 (4)	
	41 – 60 anos	20 (42,5)	9 (20)	
	> 60 anos	14 (30)	33 (76)	
<b>Espécimes clínicos: n (%)</b>	SANGUE	84 (100)	2 (4)	NA
	ASPIRADO TRAQUEAL	NA	27 (53)	
	URINA	NA	22 (43)	
<b>Unidade de internação: n (%)</b>	UTI	23 (54,8)	NA	NA
	Clínica Médica	9 (21,4)	NA	
	Clínica Cirúrgica	5 (11,9)	NA	

<b>Unidade de internação: n (%)</b>	Transplante de Medula Óssea (TMO)	4 (9,5)	NA	
	Clínica Pediátrica	1 (2,4)	NA	
	Assistência COVID-19	NA	44 (100)	
<b>Fatores de risco: n (%)</b>	Uso de quimioterápicos/imunossupressores	42 (100)	44 (100)	< 0.0001
	Internação > 21 dias	18 (43)	25 (57)	
	Transfusão sanguínea	18 (43)	0 (0)	
	Uso de cateter	16 (38)	44 (100)	
	Ventilação Mecânica Invasiva	15 (36)	38 (86)	
	Nutrição parenteral	15 (36)	13 (29)	
	Diálise	9 (21)	2 (4)	
	Procedimento Cirúrgico	8 (19)	0 (0)	
	Convivendo com HIV	5 (12)	2 (4)	
	<b>Uso de antimicrobiano: n (%)</b>	Antibacteriano isolado	17 (40,5)	
Antibacteriano + anfotericina B		4 (9,5)	5 (12)	
Antibacteriano + fluconazol		18 (43)	8 (18)	
Antibacteriano + amicafungina		0 (0)	2 (6)	
Antibacteriano + 2 antifúngicos		3 (7)	1 (2)	

<b>Espécies fúngicas isoladas: n (%)</b>	<i>C. albicans</i>	25 (30,5)	26 (51)	< 0.0001
	<i>C. tropicalis</i>	19 (22,4)	16 (31)	
	<i>C. glabrata</i>	10 (11,8)	6 (12)	
	<i>C. krusei</i>	4 (4,7)	0 (0)	
	<i>C. parapsilosis</i>	9 (10,6)	0 (0)	
	<i>C. orthopsilosis</i>	4 (4,7)	0 (0)	
	<i>C. lusitaniae</i>	6 (7,1)	0 (0)	
	<i>Cryptococcus neoformans</i>	3 (3,5)	0 (0)	
	<i>C. haemulonii</i>	4 (4,7)	0 (0)	
	<i>Trichosporon asahii</i>	0 (0)	2 (4)	
	<i>Pichia kudriavzevii</i>	0 (0)	1 (2)	

Fonte: elaborado pelo autor (2022).

É possível observar que houve diferenças significativas entre os dois grupos estudados ( $p \leq 0,05$ ) com relação às idades, os fatores de risco envolvidos, tipo de tratamento antimicrobiano utilizado, bem como as espécies isoladas nesses indivíduos. Não foi verificada diferença significativa com relação ao sexo.

Já é demonstrado que as infecções fúngicas são em sua maioria causadas por leveduras do gênero *Candida sp*, se destacando *C. albicans* e que há um predomínio dessas infecções concentradas em indivíduos internados em UTI. Sua origem é principalmente endógena, uma vez que fungos desse gênero estão presentes na microbiota, assim esses fungos podem invadir o organismo através da corrente sanguínea ou ainda com o uso de cateter e quando submetidos a procedimentos invasivos. Biofilmes também são causas importantes de infecção. Cerca de 33% das infecções hematogênicas exógenas estão relacionadas a IRAS, principalmente por microrganismos presentes nas mãos e unhas de profissionais de saúde, se destacando *C. glabrata* e *C. parapsilosis* (ALANGADEN, 2011; BORGES et al., 2018).

Indivíduos clinicamente debilitados, com fatores de risco, e imunocomprometidos são os mais suscetíveis a infecções fúngicas invasivas, como na fungemia. Os casos destacam-se em indivíduos com uso de antimicrobianos de amplo espectro, tempo de internação prolongado e uso de dispositivos ou procedimentos invasivos. Um levantamento de dados com 28.502 casos de IRAS demonstrou que 11% delas foram causadas por fungos, sendo 7% por *C. albicans* e 4% por outras espécies de *Candida sp*. onde a assistência, em sua maioria, se deu em UTI e estavam todos relacionados ou ao uso de cateter sanguíneo e urinário, ou a ventilação mecânica (HIDRON et al., 2008; DOI et al., 2016).

Estudo epidemiológico realizado em 16 hospitais brasileiros com 2563 isolados clínicos demonstrou que as infecções fúngicas invasivas predominaram em indivíduos do sexo feminino e com média de idade igual a 56 anos, além da maioria estar em UTI com uso de ventilação mecânica e/ou cateter central. A média de internação foi de 29 dias, com taxa de mortalidade chegando a 85%. Houve predomínio de outras espécies de *Candida sp*, se destacando *C. albicans* (34,3%), *C. parapsilosis* (24,1%), *C. tropicalis* (15,3%), *C. glabrata* (10,2%), *C. krusei* (1,5%), *C. pelliculosa* (1,5%), *C. lusitaniae* (0,7%), *C. famata* (0,7%), e *C. guilliermondii*

(0,7%). Todos foram dados analisados e que corroboram com nosso estudo (DOI et al., 2016).

*Candida sp* é o segundo patógeno causador de infecção urinária associada ao uso de cateter. Também ocupa a quarta posição como patógeno quando associado ao uso de cateter sanguíneo, se destacando por apresentar cerca de 10% das infecções hematogênicas em UTI e até 8% em outras unidades de internação (ALANGADEN, 2011).

Mais de 20 espécies de *Candida sp* já foram reportadas em infecções invasivas, dentre elas mais de 90% são atribuídas a *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, e *C. krusei*, respectivamente, sendo também as cinco espécies mais prevalentes em nosso estudo. A estratificação das espécies se intensifica à medida que os métodos diagnósticos e laboratoriais são aprimorados. As três primeiras espécies mais isoladas continuam sendo provenientes de indivíduos em UTI, sendo isolados de sangue, urina e trato respiratório (COLOMBO e GUIMARAES, 2003; PFALLER et al., 2007).

Um estudo prospectivo que avaliou 2019 participantes demonstrou a prevalência de outras espécies de *Candida sp* em infecções fúngicas quando comparado a *C. albicans*, fato que corrobora com os achados do estudo atual (HORN et al., 2009). Em uma análise de onze anos em um hospital de São Paulo, foi possível avaliar dados que demonstraram prevalência em candidemias no sexo masculino, com idade média de 30 anos, indivíduos internados em UTI, com alguma doença de base e fator de risco, uso de cateter, uso de antimicrobiano, com destaque para as espécies *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. krusei* (WILLE et al., 2013).

As infecções por *Candida sp* são facilitadas por sua patogenicidade e virulência. *C. albicans* por sua fácil aderência e invasão tissular, termotolerância e produção de enzimas. *C. tropicalis* com potencial agente oportunista em indivíduos com disbiose, neutropênicos e com dano intestinal. *C. glabrata* está presente em infecções tratadas com fluconazol e indivíduos idosos. O Complexo *C. parapsilosis* é capaz de proliferar em ambientes ricos em glicose, formar biofilmes e colonizar cateter. *C. krusei* vem aparecendo ocasionalmente em indivíduos com doenças hematológicas, indivíduos tratados com fluconazol, e neutropênicos. *C. lusitaniae*

está relacionada aos indivíduos imunocomprometidos e também em indivíduos com câncer (ALANGADEN, 2011; WILLE et al., 2013).

*C. lusitaniae* está presente em onicomicose, candidíase vaginal, infecções hematogênicas, fungemia relacionada a cateter, e em cuidados em UTI. Apesar de ser agente raro de infecção, sua identificação é de suma importância, por ser considerada multirresistente a drogas. Ela também faz parte de um complexo composto por *C. haemulonii*, *C. duobushaemulonii* e *C. haemulonii var. vulnera* (RAMOS et al., 2014).

O complexo *C. haemulonii* (formada também por *C. pseudohaemulonii* e *C. auris*) causa raras infecções e está mais associada a candidemias, estando ela entre as espécies emergentes, levantando dados preocupantes quanto seu potencial de multirresistência, principalmente frente a anfotericina B e aos azóis (RAMOS et al., 2014).

Coinfecção fúngica em indivíduos com COVID-19 corresponde cerca de 4 a 28% e estão principalmente associadas ao uso de cateter sanguíneo ou urinário e ventilação mecânica, levando às infecções de corrente sanguínea, do trato urinário e trato respiratório, respectivamente. Durante um ano e seis meses foi possível avaliar em 78 hospitais a evolução das infecções por cateter em indivíduos antes e após a pandemia, notando-se um aumento das taxas de infecção, tendo diferença significativa ao uso de cateter sanguíneo em UTI, sendo que infecções por *Candida sp* aumentaram 57% (FAKIH et al., 2021; CALVO et al., 2021).

Dados apontam que a contratação rápida de profissionais não preparados, a acessibilidade dificultada ao cuidado desses indivíduos, longo período de internação, a diminuição de estratégias para manutenção e prevenção de infecção em equipos e cateter são alguns dos fatores que contribuíram para esse aumento. Soma-se a isso o uso de imunomoduladores para combate da tempestade de citocinas, linfopenia, alocação em UTI, uso de antimicrobianos empíricos e a idade avançada dos indivíduos idosos internados por COVID-19 (SALEHI et al., 2020; FAKIH et al., 2021; CALVO et al., 2021).

Calvo e colaboradores (2021) observaram coinfecção por *Candida sp* em quase 15% dos indivíduos internados por COVID-19, número superior comparado a coinfecção em outros casos de pneumonia viral, isolados de urina, trato respiratório,

cateter e sangue, onde prevalecem as espécies de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, *C. krusei*, *C. tropicalis* e *Trichosporon asahii* (sendo este último isolado em apenas um caso), respectivamente. A idade média dos indivíduos foi de 65 anos, todos internados em UTI, submetidos a intubação orotraqueal e uso de cateter e, média de tempo de internação superior a 21 dias.

Outro estudo demonstrou que as espécies mais reportadas em coinfeções fúngicas invasivas foram *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*, enquanto no atual estudo as três espécies de *Candida sp* isoladas foram *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*. *C. glabrata* também já foi isolada na Europa, associada a coinfeção. Ao contrário de outros fungos, o gênero *Candida* se associa mais ao endotélio e células epiteliais, sendo um grave fator de risco aos indivíduos com COVID-19 (BATEN et al., 2022).

*Pichia kudriavzevii* vem sendo reportado em neonatos com sepse, no entanto, já é reconhecida cada vez mais a importância de patógenos raros como agentes etiológicos. Essa levedura está presente no solo, água, insetos, plantas e frutas, incluindo fermentação de vinhos e queijos, aparecendo então como patógeno oportunista (NAGARATHNAMMA et al., 2017).

*Trichosporon asahii* é um patógeno oportunista presente na microbiota da pele e trato gastrointestinal, causando desde infecções superficiais até invasivas, associado a fungemia e pneumonias com alta mortalidade, e tem sido reportado como agente em coinfeção na COVID-19. Em cinco linhagens isoladas em um estudo, identificou-se a fonte contaminante como sendo a pele do paciente, com inserção de cateter e presença de transmissão cruzada. As causas de infecção estavam associadas ao uso de corticosteroides, disbiose, danos pela COVID-19, tratamento prolongado com antimicrobiano e eventos trombóticos (SELLAMI et al., 2017; ALMEIDA JR et al., 2021).

Em diversas partes do mundo, incluindo o estudo atual, fluconazol continua sendo mais utilizado na terapia antifúngica, alcançando até 70% dos tratamentos, seguido da caspofungina com até 40%, amicafungina (11%), anfotericina B (10%) e voriconazol (7%), através de monoterapia ou por combinação. Fluconazol tem sido administrado nos casos de candidemia por *C. albicans* e voriconazol para *C. krusei*, e demais terapias reservadas ao uso de anfotericina B. Equinocandinas, como

casposfungina, têm sido mais utilizadas em casos de *C. glabrata* e *C. parapsilosis* (HORN et al., 2009).

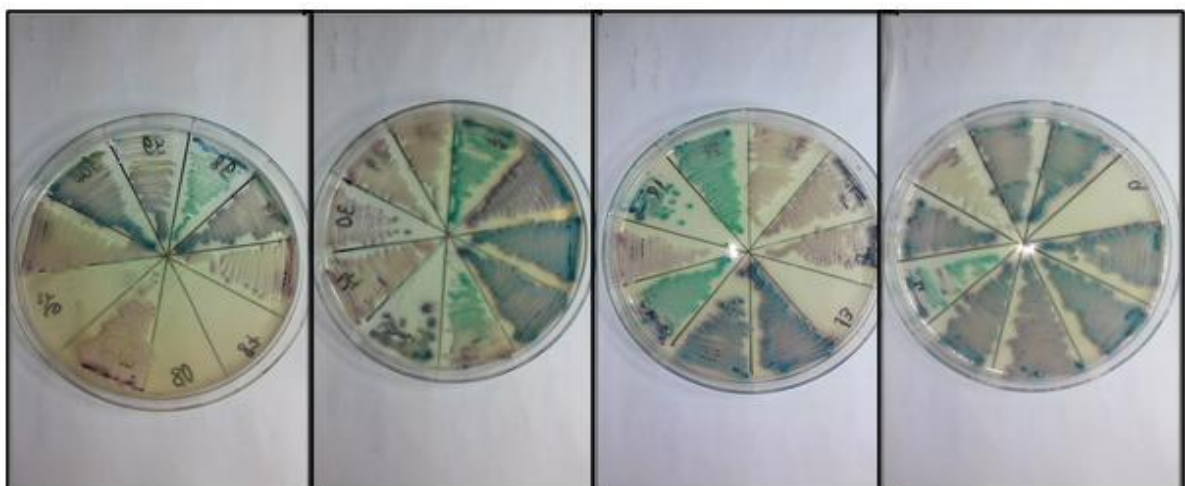
O uso de antifúngico é administrado em até 18% dos casos antes da solicitação de cultura e fluconazol corresponde a 57% dos tratamentos em indivíduos idosos, que contradiz com a prevalência de *C. glabrata* e *C. krusei* nessa população, uma vez que são espécies intrinsecamente resistentes (HORN et al., 2009).

Em indivíduos com COVID-19, a administração de antibacteriano tem acontecido em 100% dos casos, e em hospitais chineses o uso de antifúngico profilático foi de 39%, dados também demonstrados no estudo atual (SALEHI et al., 2020).

## 5.2 Comparação entre identificação fenotípica e por MALDI – TOF MS

Durante todo o estudo foram avaliados um total de 135 isolados, permitindo assim sua recuperação e identificação primeiramente por métodos manuais (114 isolados) de auxanograma, ágar cromogênico (**Figura 8**), prova do tubo germinativo, microcultivo (**Figura 9**) ou pelo método automatizado VITEK (21 isolados) e posterior análise em MALDI-TOF MS, com os resultados obtidos apresentados pelo **Quadro 2**.

**Figura 8-** Amostras repicadas em meio ágar cromogênico para triagem de identificação.



Fonte: elaborado pelo autor (2022).



**Figura 9-** Análise microscópica de microcultivo demonstrando clamidoconídios característicos de *C. albicans*.



Fonte: elaborado pelo autor (2022).

**Quadro 2-** Identificação das leveduras recuperadas ou isoladas nesse estudo por método bioquímico-fisiológico e MALDI -TOF MS. Em vermelho identificações onde houve alguma divergência.

Isolado	Identificação fenotípica	MALDI-TOF MS	Isolado	Identificação fenotípica	MALDI-TOF MS	Isolado	Identificação fenotípica	MALDI-TOF MS
1	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. orthopsilosis</i>	46	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	91	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
2	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. orthopsilosis</i>	47	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. lusitaniae</i>	92	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>
3	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	48	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	93	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
4	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	49	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	94	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
5	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	50	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	95	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>
6	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	51	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	96	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>
7	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	52	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	97	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
8	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	53	<i>C. krusei</i>	<i>C. krusei</i>	98	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
9	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	54	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	99	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
10	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	55	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	100	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>
11	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	56	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	101	<i>Trichosporon sp.</i>	<i>Trichosporon asahii</i>
12	<i>C. glabrata</i>	<i>C. lusitaniae</i>	57	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	102	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>
13	<i>C. glabrata</i>	<i>C. lusitaniae</i>	58	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	103	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>
14	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	59	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	104	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>
15	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	60	<i>Candida sp</i>	<i>C. lusitaniae</i>	105	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
16	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	61	<i>Candida sp</i>	<i>C. lusitaniae</i>	106	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
17	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	62	<i>Complexo C.</i>	<i>C. neoformans</i>	107	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>

				<i>neoformans</i>				
<b>18</b>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<b>63</b>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<b>108</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
<b>19</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>64</b>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<b>109</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
<b>20</b>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<b>65</b>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<b>110</b>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>
<b>21</b>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<b>66</b>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<b>111</b>	<i>Candida sp</i>	<i>C. glabrata</i>
<b>22</b>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<b>67</b>	<i>Candida sp</i>	<i>C. haemolunii</i>	<b>112</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
<b>23</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>68</b>	<i>Candida sp</i>	<i>C. haemolunii</i>	<b>113</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
<b>24</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>69</b>	<i>Candida sp</i>	<i>C. haemolunii</i>	<b>114</b>	<i>Trichosporon sp.</i>	<i>Trichosporon asahii</i>
<b>25</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>70</b>	<i>Candida sp</i>	<i>C. haemolunii</i>	<b>115</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
<b>26</b>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<b>71</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>116</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
<b>27</b>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<b>72</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>117</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
<b>28</b>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<b>73</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>118</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
<b>29</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>74</b>	<i>Comp. C. neoformans</i>	<i>C. neoformans</i>	<b>119</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
<b>30</b>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<b>75</b>	<i>Comp. C. neoformans</i>	<i>C. neoformans</i>	<b>120</b>	<i>C. krusei</i>	<i>Pichia kudriavzevii</i>
<b>31</b>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<b>76</b>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. orthopsilosis</i>	<b>121</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
<b>32</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>77</b>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. orthopsilosis</i>	<b>122</b>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>
<b>33</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>78</b>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<b>123</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
<b>34</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>79</b>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<b>124</b>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>

<b>35</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>80</b>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<b>125</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
<b>36</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>81</b>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<b>126</b>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>
<b>37</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>82</b>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<b>127</b>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>
<b>38</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>83</b>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<b>128</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
<b>39</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>84</b>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<b>129</b>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>
<b>40</b>	<i>C. krusei</i>	<i>C. krusei</i>	<b>85</b>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<b>130</b>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>
<b>41</b>	<i>C. krusei</i>	<i>C. krusei</i>	<b>86</b>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<b>131</b>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>
<b>42</b>	<i>C. krusei</i>	<i>C. krusei</i>	<b>87</b>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<b>132</b>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>
<b>43</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>88</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>133</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
<b>44</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>89</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>134</b>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>
<b>45</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>90</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<b>135</b>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>

Fonte: elaborado pelo autor (2022).

Após avaliação dos dados, observou-se divergência de identificação em 5% das amostras isoladas em nível de espécie, sendo que não houve identificação contrária em nível de gênero, considerando que a identificação de leveduras por MALDI TOF MS tem se mostrado com sensibilidade de até 100% (CASTANHEIRA et al., 2017; SANTOS JR et al., 2005).

Utilizando o teste de concordância de *kappa*, segundo interpretação de Landis e Koch, a concordância foi considerada perfeita com *kappa* = 0,948 (95% de intervalo de confiança entre 0,910 e 0,986), para ambas as técnicas utilizadas na rotina laboratorial.

Dentre comparações metodológicas, o sistema de identificação VITEK tem se mostrado com bons resultados, com nível de concordância de 100% das espécies, principalmente com relação a bactérias, enquanto que leveduras continuam apresentando menor concordância quando comparado ao MALDI-TOF MS. Um estudo demonstrou concordância maior que 99% para bactérias. A sensibilidade e especificidade para identificação de leveduras vêm sendo de 100% para MALDI-TOF MS e 95,7% para o sistema VITEK, demonstrando também ótimos resultados com concordância *kappa* considerada excelente ( $k= 0,8$  a  $1,0$ ) (GONZALEZ et al., 2020).

Técnicas fenotípicas de identificação são limitadas quando comparado ao MALDI-TOF MS ou a combinação de métodos, principalmente para espécies filogeneticamente próximas. Para esses, a identificação pode se limitar a gênero e necessitar de outros métodos para melhores resultados, como demonstrado em nosso estudo. No entanto, a correta identificação de patógenos mais comuns na clínica estão compatíveis com outras metodologias aplicadas, atentando para outras espécies de *Candida sp*, que devem ser levadas a um centro de referência para correta identificação. Além dessa dificuldade, a cultura para fungos é mais demorada e demanda maior sensibilidade do analista clínico, que somado ao crescimento lento e exigências nutricionais específicas podem atrasar o tratamento e piorar o prognóstico do paciente (XU et al., 2019).

*C. parapsilosis sensu lato* é um complexo geneticamente relacionado composto por *C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis* e *C. metapsilosis*. Esse complexo não é possível ser diferenciado por metodologias fenotípicas de identificação, uma vez

que possuem mesma característica morfológica, de crescimento e perfil de assimilação e fermentação, para tanto, é necessária uma técnica molecular para diferenciá-las. Com relação ao tratamento, todas as espécies têm se mostrado sensíveis aos antifúngicos disponíveis, mas já é observado que *C. parapsilosis* apresenta CIM mais alta frente a equinocandinas, sendo importante buscar a identificação correta (CORREA, 2015).

A dificuldade na identificação de *C. lusitaniae* já é conhecida e sua importância na clínica se dá como patógeno oportunista e com alto índice de resistência a anfotericina B. Métodos manuais não são recomendados, uma vez que poucos açúcares, na assimilação, o diferencia de outras espécies, e mesmo assim, ainda pode ser confundido com *C. famata* e *C. guilliermondii* com perfis muito semelhantes (NGUYEN et al., 2000).

O complexo *C. lusitaniae* é de difícil identificação por métodos manuais e muito necessário por se tratar de espécies multirresistentes já descritas na literatura. Outro estudo relata que esse complexo pode ser falsamente identificada como *C. glabrata*. O sistema VITEK pode identificar até 98% dos isolados, mas com algumas limitações. O complexo é filogeneticamente semelhante e pode ser confundido com *C. auris*, sendo recomendada a diferenciação pelo MALDI-TOF MS (RAMOS et al., 2015).

É comum a identificação de *Pichia kudriavzevii* como *C. krusei*, uma vez que se trata de espécies filogeneticamente muito próximas, principalmente se tratando de métodos convencionais. Mas torna-se de grande importância sua correta identificação, uma vez que seu tratamento tem sido realizado de forma diferenciada, incluindo o uso de voriconazol (NAGARATHNAMMA et al., 2017).

A identificação de *Trichosporon asahii* em nível de gênero ainda é suficiente para um bom tratamento do paciente, uma vez que espécies desse gênero são resistentes às equinocandinas na maioria das linhagens. Destaca-se a importância do teste de susceptibilidade aos antifúngicos para nortear a melhor terapia e avaliar a epidemiologia local (SELLAMI et al., 2017; ALMEIDA JR et al., 2021).

Em métodos convencionais de identificação manual deve-se seguir a nomenclatura de complexo do gênero *Cryptococcus* sp quando não houver diferenciação das duas espécies e mais de oito linhagens que o compõe



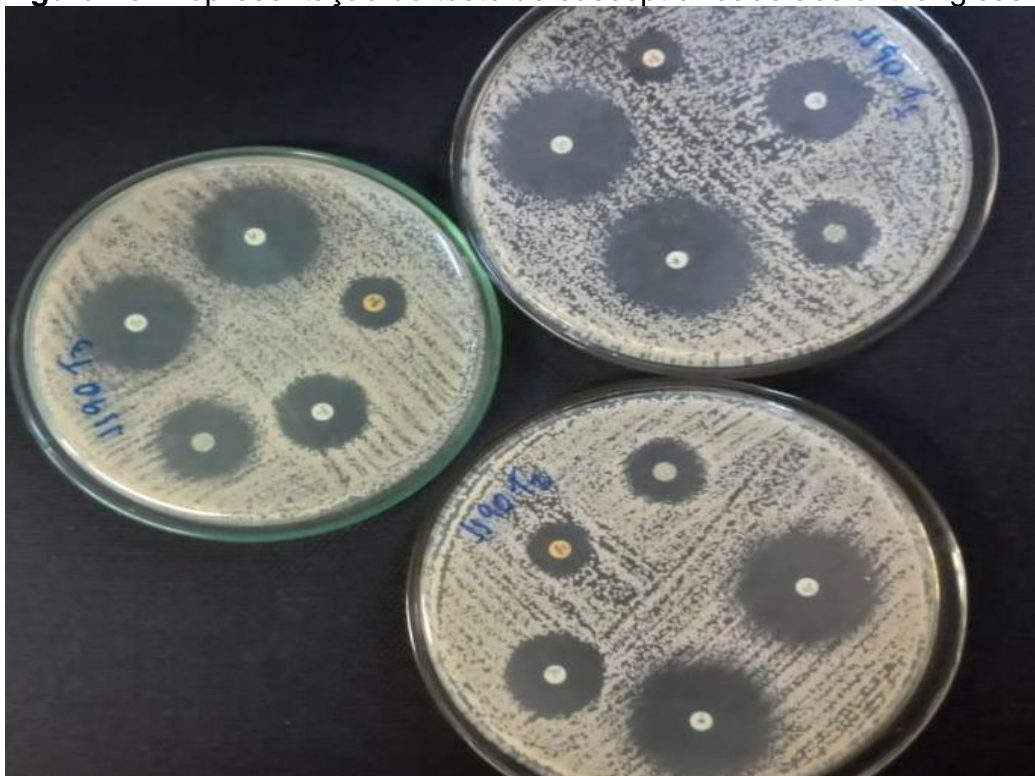
(*Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*), sabendo que *Cryptococcus neoformans* está mais presente em indivíduos imunocomprometidos e *Cryptococcus gattii* em imunocompetentes. Além dos métodos moleculares, já é possível a identificação por meios diferenciais (FENG et al., 2011).

Na prática clínica, a identificação correta do gênero e a realização do teste de susceptibilidade aos antimicrobianos fica sendo de suma importância para a correta terapia antifúngica e melhor prognóstico com relação aos serviços de apoio diagnóstico. Para além disso, a aplicação de metodologias moleculares se faz necessária para um bom estudo epidemiológico local e consequente terapia profilática ou empírica quando necessária.

### 5.3 Perfil de susceptibilidade aos agentes antifúngicos

Todos os 135 isolados de fungos foram submetidos ao teste de susceptibilidade aos antifúngicos onde a leitura do halo foi resultado da média entre as triplicatas (**Figura 10**).

**Figura 10-** Representação do teste de susceptibilidade aos antifúngicos.



Fonte: elaborado pelo autor (2022).

A interpretação foi dada considerando S= sensível, R= resistente, RI= resistência intrínseca e I=intermediário para cada espécie e antifúngico testados (**Quadros 3, 4, 5, 6 e 7**). As espécies que não foram isoladas em ambos grupos ficaram isentas de análise de significância.

**Quadro 3.**-Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de fungos ao fluconazol nas fungemias (2015-2018) e coinfeção (2019-2021).

Espécie	FLUCONAZOL						Valor de $p^*$	
	Fungemia (2015-2018) n=84			Coinfeção (2019-2021) n=51				Total resistência n (%)
	R	I	S	R	I	S		
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)		n (%)
<i>C. albicans</i>	21 (81)	--	5 (19)	4 (15)	--	22 (85)	25 (48)	< 0.0001
<i>C. tropicalis</i>	1 (5)	--	18 (95)	1 (6)	--	15 (94)	2 (6)	0,7564
<i>C. glabrata</i>	9 (100)**	--	--	6 (100)**	--	--	15 (100)**	1
<i>C. krusei</i>	4 (100)**	--	--	--	--	--	4 (100)**	Isento de análise pois não houve isolado semelhante em ambos grupos
<i>C. parapsilosis</i>	--	--	9 (100)	--	--	--	--	
<i>C. orthopsilosis</i>	--	--	4 (100)	--	--	--	--	
<i>C. lusitaniae</i>	--	--	6 (100)	--	--	--	--	
<i>Cryptococcus neoformans</i>	--	--	3 (100)	--	--	--	--	
<i>C. haemulonii</i>	4 (100)	--	--	--	--	--	4 (100)	
<i>Trichosporon asahii</i>	--	--	--	1 (50)	--	1 (50)	1 (50)	
<i>Pichia kudriavzevii</i>	--	--	--	1 (100)	--	--	1 (100)	

-- dado numérico igual a zero\* teste qui-quadrado entre os dois grupos. R= resistente; I= intermediário; S= sensível; \*\*RI= resistência intrínseca

Fonte: elaborado pelo autor (2022)

Considerando a droga supracitada fluconazol, obtivemos maiores fenótipos de resistência, com maior concentração no grupo de fungemias e na espécie *C. albicans*, onde também houve diferença significativa entre os grupos. A resistência intrínseca para *C. glabrata* e *C. krusei* já são bem estabelecidas (DOI et al., 2016).



**Quadro 4-** Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de fungos ao itraconazol nas fungemias (2015-2018) e coinfeção (2019-2021).

Espécie	ITRACONAZOL						Total resistência	Valor de $\rho^*$
	Fungemia (2015-2018) n=84			Coinfeção (2019-2021) n=51				
	R	I	S	R	I	S		
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)		
<i>C. albicans</i>	16 (62)	6 (23)	4 (15)	3 (12)	4 (15)	19 (73)	19 (37)	< 0.0001
<i>C. tropicalis</i>	4 (21)	4 (21)	11 (58)	1 (6)	12 (75)	3 (19)	5 (14)	< 0.0001
<i>C. glabrata</i>	8 (89)	1 (11)	--	2 (33)	4 (67)	--	10 (67)	< 0.0001
<i>C. krusei</i>	4 (100)	--	--	--	--	--	4 (100)	Isento de análise pois não houve isolado semelhante em ambos grupos
<i>C. parapsilosis</i>	--	4 (44)	5 (56)	--	--	--	--	
<i>C. orthopsilosis</i>	--	4 (100)	--	--	--	--	--	
<i>C. lusitaniae</i>	--	1 (17)	5 (83)	--	--	--	--	
<i>Cryptococcus neoformans</i>	--	2 (67)	1 (33)	--	--	--	--	
<i>C. haemulonii</i>	--	4 (100)	--	--	--	--	--	
<i>Trichosporon asahii</i>	--	--	--	--	1 (100)	--	--	
<i>Pichia kudriavzevii</i>	--	--	--	1 (50)	1 (50)	--	1 (50)	

-- dado numérico igual a zero\* teste qui-quadrado entre os dois grupos. R= resistente; I= intermediário; S= sensível; \*\*RI= resistência intrínseca

Fonte: elaborado pelo autor (2022).

Para o itraconazol, pode-se observar diferença mais expressiva entre os grupos. O fenótipo de resistência continua predominando para as fungemias. No total de linhagens analisadas, houve maior número de halos interpretados como sendo de resistência e intermediários, se destacando maior resistência para as espécies *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. krusei*.

**Quadro 5-** Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de fungos ao voriconazol nas fungemias (2015-2018) e coinfeção (2019-2021).

Espécie	VORICONAZOL						Total resistência	Valor de $\rho^*$
	Fungemia (2015-2018) n=84			Coinfeção (2019-2021) n=51				
	R	I	S	R	I	S		
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)		
<i>C. albicans</i>	21 (81)	--	5 (19)	4 (15)	--	22 (85)	25 (48)	< 0.0001
<i>C. tropicalis</i>	1 (5)	--	18 (95)	2 (13)	--	14 (87)	3 (9)	0,0481
<i>C. glabrata</i>	3 (33)	1 (11)	5 (56)	3 (50)	--	3 (50)	6 (40)	0,0027
<i>C. krusei</i>	1 (25)	1 (25)	2 (50)	--	--	--	1 (25)	Isento de análise pois não houve isolado semelhante em ambos grupos
<i>C. parapsilosis</i>	--	--	9 (100)	--	--	--	--	
<i>C. orthopsilosis</i>	--	--	4 (100)	--	--	--	--	
<i>C. lusitaniae</i>	--	--	6 (100)	--	--	--	--	
<i>Cryptococcus neoformans</i>	--	--	3 (100)	--	--	--	--	
<i>C. haemulonii</i>	--	--	4 (100)	--	--	--	--	
<i>Trichosporon asahii</i>	--	--	--	1 (50)	--	1 (50)	1 (50)	
<i>Pichia kudriavzevii</i>	--	--	--	--	--	1 (100)	--	

-- dado numérico igual a zero\* teste qui-quadrado entre os dois grupos. R= resistente; I= intermediário; S= sensível; \*\*RI= resistência intrínseca

Fonte: elaborado pelo autor (2022).

Voriconazol fica sendo restrito ao uso por ser considerado uma droga de reserva, constituindo uma das últimas opções terapêuticas para infecções fúngicas. No entanto, já é notada presença de linhagens resistentes a esse fármaco em nosso estudo, principalmente para o grupo das fungemias e a espécie *C. albicans*. Dentre os azóis, foi a droga que apresentou menor perfil de resistência, se destacando para as demais espécies de *Candida sp.*

**Quadro 6-** Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de fungos a anfotericina B nas fungemias (2015-2018) e coinfeção (2019-2021).

Espécie	ANFOTERICINA B							Valor de $\rho^*$
	Fungemia (2015-2018) n=84			Coinfeção (2019-2021) n=51			Total resistência	
	R	I	S	R	I	S		
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
<i>C. albicans</i>	--	--	26 (100)	1(4)	--	25 (96)	1 (2)	0,1742
<i>C. tropicalis</i>	--	--	19 (100)	1 (6)	--	15 (94)	1 (3)	0,0544
<i>C. glabrata</i>	--	--	9 (100)	--	--	6 (100)	--	1
<i>C. krusei</i>	1 (25)	--	3 (75)	--	--	--	1 (25)	Isento de análise pois não houve isolado semelhante em ambos grupos
<i>C. parapsilosis</i>	--	--	9 (100)	--	--	--	--	
<i>C. orthopsilosis</i>	--	--	4 (100)	--	--	--	--	
<i>C. lusitaniae</i>	6 (100)	--	--	--	--	--	6 (100)	
<i>Cryptococcus neoformans</i>	--	--	3 (100)	--	--	--	--	
<i>C. haemulonii</i>	4 (100)	--	--	--	--	--	4 (100)	
<i>Trichosporon asahii</i>	--	--	--	--	--	2 (100)	--	
<i>Pichia kudriavzevii</i>	--	--	--	--	--	1 (100)	--	

-- dado numérico igual a zero\* teste qui-quadrado entre os dois grupos. R= resistente; I= intermediário; S= sensível; \*\*RI= resistência intrínseca

Fonte: elaborado pelo autor (2022).

**Quadro 7-** Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de fungos a caspofungina nas fungemias (2015-2018) e coinfeção (2019-2021).

Espécie	CASPOFUNGINA							Valor de $\rho^*$
	Fungemia (2015-2018) n=84			Coinfeção (2019-2021) n=51			Total resistência	
	R	I	S	R	I	S		
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
<i>C. albicans</i>	--	--	26 (100)	1 (4)	--	25 (96)	1 (2)	0,9172
<i>C. tropicalis</i>	--	--	19 (100)	1 (6)	--	15 (94)	1 (3)	0,9197
<i>C. glabrata</i>	--	--	9 (100)	--	--	6 (100)	--	1
<i>C. krusei</i>	--	--	4 (100)	--	--	--	--	Isento de análise pois não houve isolado semelhante em ambos grupos
<i>C. parapsilosis</i>	2 (22)	--	7 (78)	--	--	--	2 (22)	
<i>C. orthopsilosis</i>	--	--	4 (100)	--	--	--	--	
<i>C. lusitaniae</i>	--	--	6 (100)	--	--	--	--	
<i>Cryptococcus neoformans</i>	3 (100)	--	--	--	--	--	3 (100)	
<i>C. haemulonii</i>	--	--	4 (100)	--	--	--	--	
<i>Trichosporon asahii</i>	--	--	--	2 (100)	--	--	2 (100)	
<i>Pichia kudriavzevii</i>	--	--	--	--	--	1 (100)	--	

-- dado numérico igual a zero\* teste qui-quadrado entre os dois grupos. R= resistente; I= intermediário; S= sensível; \*\*RI= resistência intrínseca

Fonte: elaborado pelo autor (2022).

Anfotericina B e caspofungina apresentaram maior perfil de sensibilidade comparado aos azóis, não existindo diferença significativa entre os grupos estudados. Para a anfotericina B, todos os estudos têm demonstrado linhagens de *C. lusitaniae* totalmente resistentes, ainda sendo avaliada a sua resistência intrínseca ou não a essa droga (ARENDRUP., 2013).

A partir dos dados tabelados, pode-se observar que houve diferença significativa ( $\rho \leq 0,05$ ) entre os grupos quanto ao perfil de resistência de *C. albicans* frente ao fluconazol; *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. glabrata* frente ao itraconazol; e *C.*

*albicans*, *C. tropicalis* e *C. glabrata* frente ao voriconazol. As demais espécies não foram isoladas em ambos grupos.

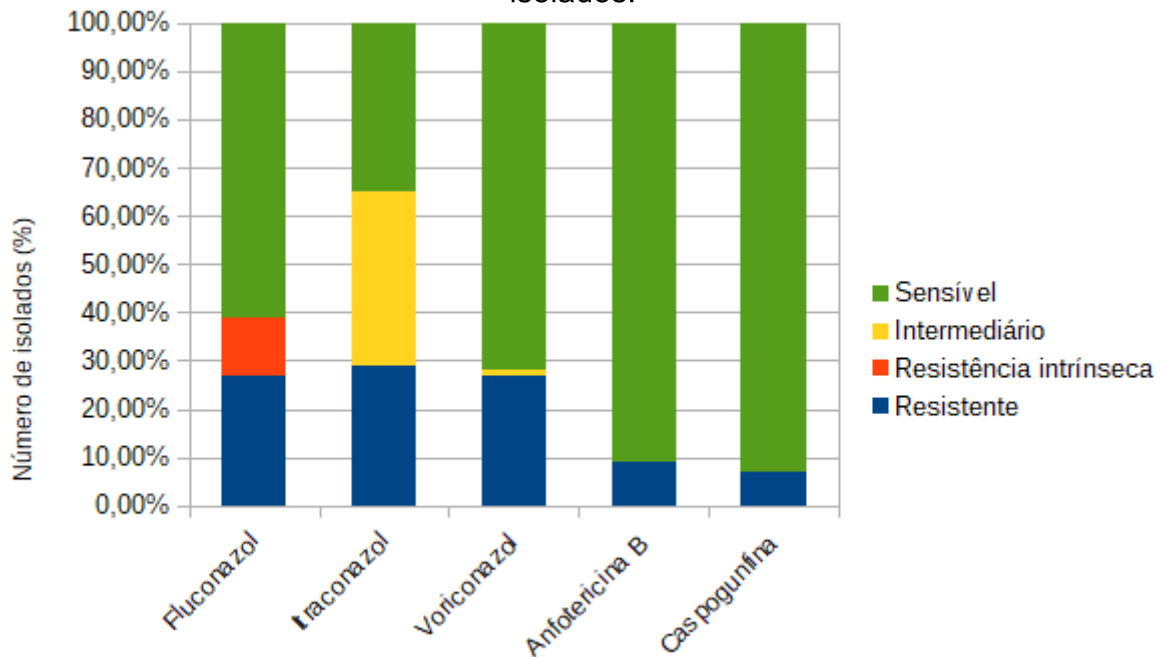
A resistência de *Trichosporon asahii* frente a equinocandinas já é conhecida na totalidade de isolados, como no presente estudo, não sendo recomendado para tratamento. Seu potencial de resistência frente a anfotericina B também já vem sendo estudado e reportado. Frente aos azóis, o fluconazol é o menos eficaz e o voriconazol é o mais recomendado na clínica (SELLAMI et al., 2017; ALMEIDA JR et al., 2021).

A identificação de *C. haemulonii* é necessária, pois trata-se de uma espécie considerada multirresistente, com falha terapêutica já demonstrada às drogas anfotericina B e as da classe dos azóis, o que também corrobora com os achados atuais do estudo. Além disso, o complexo *C. haemulonii* é composto por *C. pseudohaemulonii* e *C. auris*, que também são multirresistentes. Em um estudo brasileiro, foi possível avaliar o mesmo perfil apresentado em nosso estudo, onde 12 linhagens testadas apresentaram resistência a anfotericina B e ao fluconazol em sua totalidade, 3 isolados considerados intermediários ao itraconazol com os demais resistentes, apenas 4 isolados sensíveis ao voriconazol e todos sendo sensíveis a caspofungina, tornando-a a melhor opção terapêutica para essa espécie (RAMOS et al., 2015).

*C. lusitaniae* tem se caracterizado por apresentar desenvolvimento rápido de resistência frente a anfotericina B, com dados de isolados 100% resistentes, como em nosso estudo (NGUYEN et al., 2000; ARENDRUP, 2013).

Nota-se que para os azóis testados, houve maior fenótipo de resistência nas espécies isoladas de infecções hematogênicas (72%), enquanto para anfotericina B e caspofungina houve maior índice de sensibilidade nesse grupo (97%). As demais espécies de *Candida sp* foram sensíveis aos antifúngicos testados, onde também se concentraram maiores valores de halos interpretados como intermediário (cujos valores de concentração inibitória mínima encontram-se próximos à concentração sérica máxima obtida pelo antimicrobiano).

**Gráfico 1-** Perfil geral de susceptibilidade aos antifúngicos das espécies de fungos isolados.



Fonte: elaborado pelo autor (2022)

A partir dos dados gerais de ambos os grupos, observa-se maior concentração de fenótipos de resistência na classe testada de azóis (itraconazol 29%, fluconazol 27% e voriconazol 27%), seguido de caspofungina (7%) e anfotericina B (5%) (**Gráfico 1**), demonstrando que os azóis podem ser menos eficazes no tratamento empírico. As resistências intrínsecas já conhecidas estão concentradas no fluconazol, enquanto que para anfotericina B ainda existem divergências para a espécie *C. lusitanae*. Os representantes das classes de polienos e equinocandinas foram os que apresentaram maior sensibilidade, seguida da segunda geração de azóis, voriconazol.

Do total de 135 amostras, 68 (50,4%) delas apresentaram resistência a pelo menos um antifúngico, sendo que destes, 21 (16%) eram resistentes a apenas uma droga. A expressão de resistência simultânea a duas drogas testadas ocorreu em 17 (12,5%) dos isolados e a três drogas em 27 (20%) dos isolados. Espécies fúngicas resistentes a quatro drogas foi igual a uma (*Trichosporon asahii*, sensível somente a anfotericina B) e a todos os antifúngicos testados igual a duas amostras (*C. albicans* e *C. tropicalis*), sendo esses isolados provenientes de indivíduos com coinfeção na COVID-19 (**Quadro 8**).

Amostras que se apresentaram resistentes a pelo menos duas drogas não tiveram resistência à caspofungina, 26 (19%) isolados tiveram resistência frente a todos os azóis testados, ou seja, alta resistência frente a essa classe.

**Quadro 8-** Distribuição dos fenótipos de resistência aos antifúngicos selecionados para o estudo.

Fenótipo de Resistência					Número de isolados	
					N	%
FLU					5	3,7
ICZ					3	2,2
VO					1	0,1
AMB					6	4,4
CAS					6	4,4
FLU	VO				7	5,2
FLU	ICZ				7	5,2
FLU	AMB				3	2,2
FLU	ICZ	VO			26	19,3
FLU	ICZ	AMB			1	0,1
FLU	VO	AMB			1	0,1
FLU	ICZ	VO	CAS		1	0,1
FLU	ICZ	VO	CAS	AMB	2	1,5

Legenda: FLU (fluconazol); ICZ (itraconazol); VO (voriconazol); AMB (anfotericina B); CAS (caspofungina). Fonte: elaborado pelo autor (2022).

Resistências frente a equinocandinas e anfotericina B são consideradas raras no Brasil e na América Latina, enquanto já é notado o aumento das resistências frente à classe dos azóis (DOI et al., 2016).

A resistência ao fluconazol foi encontrada em 37,4% das amostras, número muito superior comparado a literatura, que testou apenas essa droga em isolados de *Candida sp* em uma unidade hospitalar de São Paulo no período de 1994 a 2004, com 2,47% de resistência relatada (WILLE et al., 2013). A literatura aponta que há correlação entre o aumento da prescrição de azóis e aumento de resistência aos antifúngicos em geral e de isolados de outras espécies de *Candida sp* (RAMOS et al., 2015).

Um estudo levantou dados de 205.329 isolados clínicos de leveduras em 40 diferentes países em um período de oito anos e meio para demonstrar o perfil de resistência frente ao fluconazol e voriconazol a partir do método de disco-difusão, como em nosso estudo. Verificou-se que 90% dos isolados foram sensíveis ao

fluconazol e cerca de 95% ao voriconazol. Os dados foram levantados até o ano de 2005, logo nosso estudo vem demonstrando aumento de linhagens resistentes nos últimos anos. O estudo ainda relatou aumento na prevalência de outras espécies de *Candida sp* e com conseqüente perfil mais resistente ao longo dos anos estudados. É notado que há uma correlação na crescente de resistência, uma vez que o aumento de linhagens resistentes ao fluconazol tem levado a aumento na resistência frente ao voriconazol, outros azóis, bem como outras classes de antifúngicos, fato que pode ser observado também em nosso estudo (PFALLER et al., 2007).

Ao mesmo tempo em que novas moléculas antifúngicas foram sintetizadas com o objetivo de tratar infecções fúngicas, como o voriconazol, droga de última escolha e a classe das equinocandinas, já se observa também o aumento de resistências inclusive para novas drogas (ARENDRUP, 2013).

O primeiro relato de resistência ao itraconazol se deu em 1997, e desde então, até 2009, a taxa aumentou de 2,5 para 20% em alguns países. Comparações feitas entre dois países demonstraram que o uso de itraconazol no setor de saúde primária levou ao aumento de resistência à classe dos azóis, impulsionando a seleção dessas linhagens e aumentando o número de infecções por outras leveduras oportunistas. O uso profilático e indiscriminado de itraconazol também pode estar associado a resistência ao voriconazol e outros azóis, segundo observação ao induzir resistência *in vitro* (ARENDRUP, 2013; GONCALVES et al., 2015).

O amplo espectro de ação da anfotericina B já é bem conhecida, e a baixa taxa de fenótipos de resistência relatadas na literatura faz dele padrão ouro e uma ótima opção terapêutica, incluindo para fungos filamentosos. Apesar disso, a cautela deve ser mantida quando se trata de exposição desnecessária a essa droga, uma vez que já se observa perfis de resistência, incluindo CIM cada vez maiores, demonstrando uma correlação positiva para seleção de linhagens resistentes que já chegaram a 27% para algumas espécies, principalmente *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. krusei* e, em especial, *C. lusitaniae* com até 100% de resistência, como em nosso estudo (ARENDRUP, 2013; GONCALVES et al., 2015).

No presente estudo é possível avaliar que indivíduos com infecção hematogênica estavam internados há mais tempo antes da fungemia, e com isso a



exposição do paciente ao ambiente hospitalar propiciou a infecção por linhagens mais resistentes que aqueles indivíduos provenientes da comunidade com COVID-19, que vinham a ser internados sem histórico progresso de internação prolongada ou ainda possuíam comorbidades e fatores de risco diferentes dos demais indivíduos.

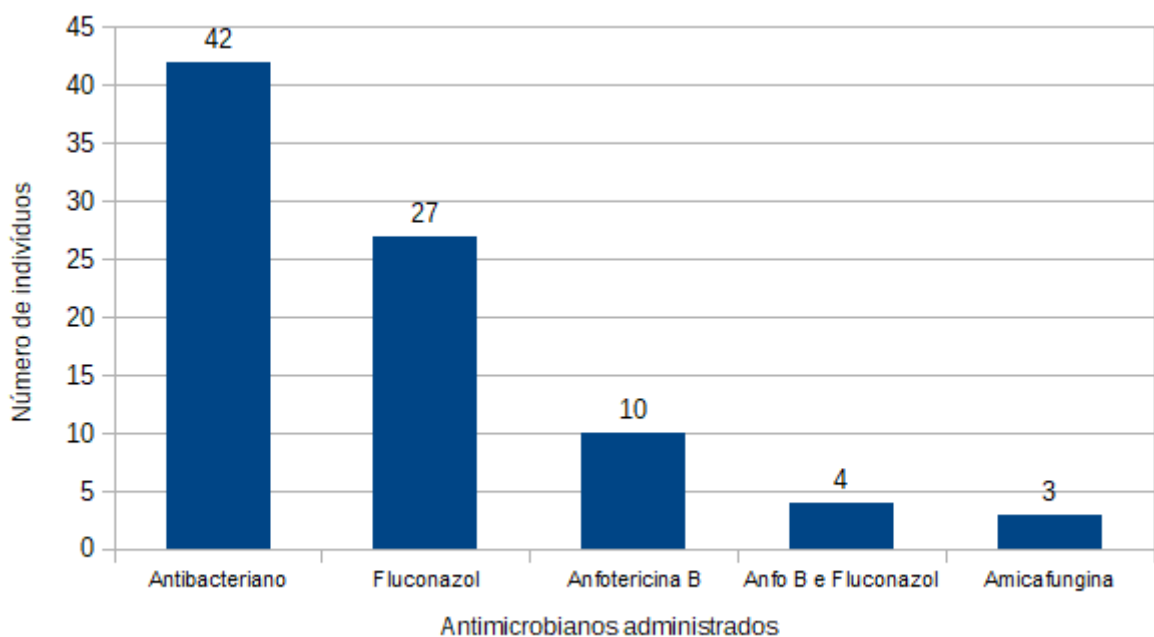
Uma das formas de adquirir resistência está na exposição prolongada do microrganismo à droga de escolha, no entanto, com o uso de antifúngicos restrito ao fluconazol, anfotericina B e amicafungina, vale destacar que fenótipos de resistência apresentados às demais drogas podem ser resultantes de prévia exposição dessas linhagens a essas drogas em algum momento. Considerando o conceito de Saúde Única, vale ainda destacar que para infecções de origem endógena pode-se avaliar a preexistência dessas linhagens na própria microbiota, e conseqüentemente, levar em consideração o estilo de vida do indivíduo (PFALLER et al., 2007; ARENDRUP, 2013; GONCALVES et al., 2015).

Com relação ao sítio de infecção, nota-se maior resistência relacionada a isolados de corrente sanguínea, seguido de trato urinário e trato respiratório, respectivamente. Isso pode se dar devido a forma de administração e a distribuição do fármaco no organismo, bem como a resposta orgânica frente ao tratamento; além de buscar o sítio primário de infecção e anterior exposição a mesma droga ou classe (PFALLER et al., 2007; ARENDRUP, 2013; GONCALVES et al., 2015).

#### 5.4 Correlação teste de susceptibilidade aos antifúngicos, tratamento e desfecho clínico

O total de 135 isolados foram provenientes de 86 indivíduos que receberam antibacteriano, fluconazol, anfotericina B e/ou amicafungina como tratamento, seja profilático ou empírico (**Gráfico 2**).

**Gráfico 2**- Casos de infecção fúngica de acordo com os antimicrobianos utilizados. Vale destacar que todos os indivíduos receberam tratamento antibacteriano.



Fonte: elaborado pelo autor (2022).

Na maioria dos casos, o uso de antifúngicos é realizado de forma empírica seguindo a terapêutica proposta em protocolos e pelos quais seguem a disponibilidade de medicamentos e o Formulário Terapêutico contendo a padronização dos antifúngicos definidos por instituição. Para ação sistêmica, são citados: anfotericina B injetável e fluconazol (cápsula, injetável e suspensão oral), podendo, a critério e disponibilidade, ser adquiridos cetoconazol comprimido, itraconazol cápsula, micafungina injetável, voriconazol comprimido e injetável e anfotericina B lipossomal injetável.

Os principais antifúngicos utilizados no manejo terapêutico dos indivíduos neste estudo foram: fluconazol (20%; n=27) e anfotericina B (7,4%; n=10), seguido

de anfotericina B e fluconazol associados (3%; n=4), sendo ainda identificados casos em que amifungina foi administrada (2,2%; n=3). Além disso, em 48,8% dos casos foram usados apenas antibacterianos, podendo estar relacionado ao tempo para obtenção de cultura positiva para fungos, bem como à identificação do mesmo, além de ser observado indivíduos que tiveram óbito antes mesmo de uma possível positividade da cultura e a identificação dos fungos. Vale destacar que todos os indivíduos estudados receberam antibacteriano, seja com objetivo profilático seja como intervenção terapêutica no combate a infecção bacteriana.

Dentro do grupo estudado, houve coinfeção bacteriana em 69% das fungemias (n=29) e em 43% dos indivíduos com COVID-19 (n=19), totalizando 55,8% dos indivíduos (n=48), justificando o uso de antibacterianos para a maioria dos casos.

Um estudo canadense demonstrou que o fluconazol é a droga mais utilizada para tratar infecções fúngicas, seguida de equinocandinas, voriconazol, anfotericina B e combinação de drogas, sendo que a maior parte dos indivíduos não chegaram a receber terapia antifúngica. O tratamento antifúngico varia de acordo com a região geográfica e protocolos específicos preestabelecidos, como nos Estados Unidos, onde a anfotericina B foi a primeira escolha terapêutica durante muitos anos (HAIDER et al., 2014).

Um levantamento na base de dados da *Prospective Antifungal Therapy Alliance* (PATH) demonstrou que o fluconazol foi o antifúngico mais administrado até 2008, seguido de caspofungina, micafungina, anfotericina B e voriconazol, respectivamente. Também foi demonstrado que o uso de fluconazol é mais frequente para infecções causadas por *C. albicans*, voriconazol e anfotericina B para *C. krusei*, equinocandinas para *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*. Segundo a Sociedade Americana de Doenças Infecciosas, o tratamento antifúngico deve ser realizado de acordo com a espécie fúngica isolada e identificada (HORN et al., 2009).

No total, o número de indivíduos com desfecho óbito e que apresentavam infecção fúngica foi de n=62 (67%), sendo que para o grupo com infecção hematogênica por fungos a taxa de mortalidade foi maior (74%) do que o grupo com

infecção fúngica em sítios diferentes e que foram positivos para COVID-19 (61%) (Quadros 9 e 10).

**Quadro 9-** Demonstração de indivíduos com seu respectivo tratamento, perfil de sensibilidade ao antifúngico administrado e desfecho das fungemias (2015-2018).

Tratamento	Fenótipo			
	Resistente		Sensível	
	Óbito (%)	Alta (%)	Óbito (%)	Alta (%)
<b>Fluconazol</b>	11	11	16	7
<b>Anfotericina B</b>	2	0	9	5

Fonte: elaborado pelo autor (2022).

**Quadro 10-** Demonstração de indivíduos com seu respectivo tratamento, perfil de sensibilidade ao antifúngico administrado e desfecho das coinfeções fúngicas (2019-2021).

Tratamento	Fenótipo			
	Resistente		Sensível	
	Óbito (%)	Alta (%)	Óbito (%)	Alta (%)
<b>Fluconazol</b>	4	4	12	0
<b>Anfotericina B</b>	2	0	4	8
<b>Amicafungina</b>	0	0	6	0

Fonte: elaborado pelo autor (2022).

Considerando a definição, no total houve uso assertivo de antifúngicos em n=30 (32%) dos indivíduos, os demais tiveram apenas antibacteriano (n= 49) 53% administrado como antimicrobiano durante o tratamento ou foram administrados antifúngicos contra linhagens que expressavam fenótipo de resistência. Dentre os

indivíduos que receberam somente antibacteriano, houve óbito em todos os casos de fungemia.

Dentre os indivíduos que apresentaram fenótipo de resistência (n=14), o desfecho foi de óbito em sete indivíduos (50%). Ao analisar a correlação entre antifúngico administrado, expressão fenotípica de resistência e desfecho óbito através da análise de ANOVA e Bonferroni, houve diferença significativa quando utilizado fluconazol em indivíduos com espécies resistentes a droga ( $\rho \leq 0,05$ ), para as demais correlações não houve diferença significativa ( $\rho \geq 0,05$ ). No entanto, para o desfecho óbito não houve diferença significativa entre as três variáveis ( $\rho = 0,7066$ ).

As análises realizadas demonstraram que houve uso de antifúngicos para tratar infecções com linhagens resistentes à droga administrada, podendo agravar o estado do paciente, principalmente o uso indevido de fluconazol, onde se concentra a maioria dos fenótipos de resistência. No entanto, o desfecho óbito está mais relacionado a todos os fatores de risco do paciente, somado a terapia incorreta, que o torna mais crítico e propício ao óbito.

Estudo de susceptibilidade aos antifúngicos não encontrou correlação entre o tratamento e a mortalidade dentro de sua amostragem, mas a mortalidade aumentou quando não houve terapia antifúngica e diminuiu quando houve tratamento empírico por equinocandinas. Assim, sugere-se que três principais fatores estão envolvidos no prognóstico: quão grave é a doença de base e fator de risco, a patogenicidade do microrganismo e a susceptibilidade e escolha terapêutica (ARENDRUP, 2013).

A taxa de mortalidade em indivíduos com infecção fúngica invasiva varia de 35% a 83%. O bom prognóstico está diretamente relacionado a identificação correta do foco infeccioso, o conhecimento dos fatores de risco, suspeita clínica precoce do caso, que levam ao início de testes diagnósticos, tratamento preventivo ou empírico segundo aspectos epidemiológicos conhecidos. Há dados que parecem não levar em consideração a correlação entre metodologia diagnóstica e a recuperação do paciente (HORN et al., 2009).

A maior taxa de mortalidade por infecção fúngica já detectada no Brasil foi de 72,2%, considerada superior aos números do hemisfério Norte, sendo que todas

estão acima de 50%, valores elevados e semelhantes ao presente estudo. Essas altas taxas podem ser explicadas pela própria condição de doença severa do paciente, hospitalização em UTI, diagnóstico tardio da infecção, e desconhecimento da terapia e manejo correto, como por exemplo o uso de fluconazol em vez de equinocandinas (DOI et al., 2016).

## 6 CONCLUSÕES

Nossos resultados demonstram que o aumento no uso de antifúngicos têm culminado no aumento de linhagens multirresistentes, se destacando a classe dos azóis, incluindo as novas drogas de última geração e a classe dos polienos e equinocandinas, bem como o aparecimento de outras espécies de *Candida sp.*

A realização do teste de susceptibilidade aos antifúngicos bem como a correta identificação do agente etiológico se fazem necessárias na prática clínica para correta terapia antifúngica e o bom prognóstico do paciente. O estudo epidemiológico local torna-se importante para a correta conduta no tratamento empírico desses indivíduos na ausência destes testes, atentando para o uso de equinocandinas para melhor evolução clínica na população estudada.

As espécies de *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis* são os mais prevalentes em ambos os grupos estudados, com expressão maior de fenótipo de resistência em linhagens isoladas de infecções hematogênicas, se destacando a resistência frente ao fluconazol.

Houve diferença significativa entre o grupo de indivíduos com e sem COVID-19 quando avaliadas as idades, os fatores de risco, o uso de antimicrobianos e as espécies isoladas, se destacando maior diversidade e maior fenótipo de resistência no grupo sem COVID-19.

O desfecho óbito está mais relacionado aos fatores de risco e o estado do paciente, somado a terapia incorreta, que o torna mais crítico, aumentando a taxa de mortalidade nestes indivíduos.

Foi demonstrado que houve correlação ao associar o uso de fluconazol em linhagens com fenótipo de resistência e o desfecho óbito, alertando para o uso indiscriminado de terapia empírica e a necessidade de testes laboratoriais.

Espera-se com esse estudo demonstrar a importância de conhecer a epidemiologia local, bem como a implementação de testes laboratoriais na rotina clínica que direcionam o correto tratamento antifúngico.

Faz-se necessário o estudo do desenvolvimento e aparecimento das linhagens resistentes levando em consideração o novo conceito de Saúde Única, bem como entender os mecanismos de resistência envolvidos nesse processo.



## REFERÊNCIAS

- ALANGADEN, G.J. Nosocomial Fungal Infections: Epidemiology, Infection Control, and Prevention. **Infect Dis Clin N Am**, v. 25, p. 201-225, 2011.
- ALMEIDA JR, J.N.; MORENO, L.; FRANCISCO, E.C.; MARQUES, G.N.; MENDES, A.V.; BARBERINO, M.G.; COLOMBO, A.L. *Trichosporon asahii* superinfections in critically ill COVID-19 patients overexposed to antimicrobials and corticosteroid. **Mycoses**, v. 64, p. 817-822, 2021.
- ANGUS, D.C.; ZWIRBLE, W.T.L.; LIDICKER, J.; CLERMONT, G.; CARCILLO, J.; PINSKY, M.R. Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. **Clin Care Med**, v.29, n.7, p. 1303-1310, 2001.
- ANTINORI, S.; MILAZZO, L.; SOLLIMA, S.; GALLI, M.; CORBELLINO, M. Candidemia and invasive candidiasis in adults: A narrative review. **European J of Int Med**, v.34, p.21-28, 2016.
- ANVISA**. AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Comunicado de Risco nº01/2017 – GVIMS/GGTES/ANVISA. Brasília, 2017.
- ANVISA**. AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Microbiologia Clínica para o controle de infecção relacionada à Assistência à Saúde**. 1ºed., Brasília, 2010.
- ANVISA**. AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Programa nacional de prevenção e controle de infecções relacionadas à assistência à saúde (pnpciras) 2021 a 2025. Brasília, 2021.
- ANVISA**. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde**. 1ºed., Salvador, 2004.
- ARENDRUP, M.C. C. and C.emia Susceptibility and Epidemiology. **Danish Medical Journal**, v. 60, n. 11, 2013.
- BADER, O. MALDI – TOF MS – based species identification and typing approaches in medical mycology. **Proteomics**, v.13, p.788-799, 2013.
- BATEN, N.; WAJED, S.; TALUKDER, A.; MASUM, H.U.; RAHMAN, M. Coinfection of fungi with SARS-CoV-2 is a detrimental health risk for COVID-19 patients. **Beni-Suef Univ J Basic Appl Sci**, v. 11, n. 64, 2022.
- BECKER, P.T.; STUBBE, D.; CLAESSENS, J.; ROESEMS, S.; BASTIN, Y.; PLANARD, C.; CASSAGNE, C.; PIARROUX, R.; HENDRICKX, M. Quality control in culture collections: Confirming identify of filamentous fungi by MALDI – TOF MS. **Mycoscience**, v.30, p.1-7, 2014.
- BERKOW, E.L.; LOCKHART, S.R.; ZEICHNER, L.O. Antifungal Susceptibility Testing: Current Approaches. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 33, n. 3, 2020.
- BOEV, C.; KISS, E. Hospital-Acquired Infections Current Trends and Prevention. **Crit Care Nurs Clin N Am**, v. 29, p. 51-65, 2017.

BORGES, F.M.; PAULA, T.O.; SARMIENTO, M.R.A.; OLIVEIRA, M.G.; PEREIRA, M.L.M.; TOLEDO, I.V.; NASCIMENTO, T.C.; MACHADO, A.B.F.; SILVA, V.L.; DINIZ, C.G. Fungal Diversity of Human Gut Microbiota Among Eutrophic, Overweight, and Obese Individuals Based on Aerobic Culture Dependent Approach. **Current Microbiology**, v. 18, 2018.

CALVO, B.; MELO, A.S.A.; MENA, A.P.; HERNANDEZ, M.; FRANCISCO, E.C.; HAGEN, F.; MEIS, J.F.; COLOMBO, A.L. First report of *C. auris* in America: Clinical and microbiological aspects of 18 episodes of candidemia. **Journal of Infection**, v.73, p.369-74, 2016.

CALVO, G.S.; ARAUJO, G.R.S.; PASTOR, E.L.; CARRILLO, J.; HERNANDEZ, M.H.; REY, L.; MELEAN, N.R.; ESCRIBANO, I.; ANTON, E.; ZAMARRO, C.; SALMONES, M.G.; FRASES, S. *Candida spp.* co-infection in COVID-19 patients with severe pneumonia: Prevalence study and associated risk factors. **Respiratory Medicine**, v. 188, 2021.

CANTEY, J.B.; MILSTONE, A.M. Bloodstream Infections Epidemiology and Resistance. **Clin Perinatol**, p.1-12, 2014.

CASTANHEIRA, M.; DESHPANDE, L.M.; DAVIS, A.P.; RHOMBERG, P.R.; PFALLER, M.A. Monitoring Antifungal Resistance in a Global Collection of Invasive Yeasts and Molds: Application of CLSI Epidemiological Cutoff Values and Whole-Genome Sequencing Analysis for Detection of Azole Resistance in *C. albicans*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.61, n.10, p.1-20, 2017.

CAWCUTT, K.A.; PATERS, S.G. Severe Sepsis and Septic Shock: Clinic Overview and Update on Management. **Mayo Clinic**, n.89, v. 11, p. 1572-1578, 2014.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Reported clinical cases of *C. auris*, March 1, 2021-February 28, 2022**. Department of Health and Human Services, 15 fev. 2022. Disponível em: <https://www.cdc.gov/fungal/C.-auris/tracking-c-auris>. Acesso em: 27 out. 2022.

CLANCY, C.J.; NGUYEN, M.H. Emergence of *C. auris*: An International Call to Arms. **Clinical Infectious Diseases**, v. 64, n. 2, p. 141-143, 2017.

CLSI, author. **Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts**. 3rd ed. (M44-Ed3) Clinical and Laboratory Standards Institute; Wayne, PA: 2018.

CLSI, author. **Performance standards for antifungal susceptibility testing of yeasts**. 2nd ed. (M60-Ed2) Clinical and Laboratory Standards Institute; Wayne, PA: 2020.

COLOMBO, A.L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida spp.* **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.36, n.5, p.599-607, 2003.

CORREA, C.; TAPIA, C. *C. parapsilosis* complex. **Rev Chilena Infectol**, v. 32, n. 5, p. 569-570, 2015.

CROXATTO, A.; PROD'ROM, G.; GREUB, G. Applications of MALDI – TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. **FEMS Microbiol Rev**, v.36, p.380-407, 2012.

DEMITTO, F.O.; AMARAL, R.C.R.; BIASI, R.P.; GUILHERMETTI, E.; SVIDZINSKI, T.I.E.; BAEZA, L.C. Suscetibilidade a antifúngicos in vitro de *Candida spp.* em indivíduos do Hospital Universitário Regional de Maringá-PR. **Bras Patol Med Lab**, v. 48, n. 5, p. 315-321, 2012.

DIANESE, J.C.; SANTOS, L.T.P. A identificação de Fungos pela Espectrometria de Massa Através da Técnica de MALDI – TOS ICMS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICOLOGIA, 6., 2010, Brasília. **Anais**, Campus Universitário Darcy Ribeiro – UnB, 2010. p.566-574.

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

ERCOLINI, D. PCR – DGGE fingerprinting: novel strategies for detection of microbes in food. **Journal of Microbiology Methods**, v.56, p.297-314, 2004.

FACCIOLA, A.; PELLICANO, G.F.; VISALLI, G.; PAOLUCCI, I.A.; RULLO, E.V.; CECCARELLI, M.; D'ALEO, F.; PIETRO, A.D.; SQUERI, R.; NUNNARI, G.; FAUCI, V.L. The role of the hospital environment in the healthcare-associated infections: a general review of the literature. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 23, p. 1266-1278, 2019.

FAKIH, M.G.; BUFALINO, A.; STURM, L.; HUANG, R.H.; OTTENBACHER, A.; SAAKE, K.; WINEGAR, A.; FOGEL, R.; CACCHIONE, J. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic, central-line-associated bloodstream infection (CLABSI), and catheter-associated urinary tract infection (CAUTI): The urgent need to refocus on hardwiring prevention efforts. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 70, p. 1-6, 2021.

FENG, X.; YAO, Z.; LING, B.; REN, D.; LIAO, W. *Perilla frutescens* seed agar, a new medium for identification of the *Cryptococcus* species complex: Evaluation for all major molecular type. **Journal of Microbiological Methods**, v. 84, p. 359-361, 2011.

GIOLO, M.P.; SVLDZLNSKL, T.I.E. Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da cadidemia. **Bras Patol Med Lab**, v.46, n.3, p.225-234, 2010.

GIORDANO, Ana Luisa Perini Leme. **Biblioteca local para identificação de isolados clínicos de fungos e diagnóstico da suscetibilidade antifúngica por espectrometria de massas (MALDI-TOF)**. 2021. Dissertação (Mestre em Ciências, Patologia Clínica) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2021.

GONCALVES, S.S.; SOUZA, A.C.R.; CHOWDHARY, A.; MEIS, J.F.; COLOMBO, A.L. Epidemiology and molecular mechanisms of antifungal resistance in *C.* and *Aspergillus*. **Mycoses**, v. 59, p. 198-219, 2016.

GONZALEZ, E.G.; ORTIZ, A.C.; NORIEGA, E.R.; AHUMADA, S.E.; TREVINO, S.F.; IBARIAS, P.B.; RODRIGUEZ, L.T.; OTERO, R.M. Comparison of Matrix-assisted Laser Desorption Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) and the Vitek 2 System for Routine Identification of Clinically Relevant Bacteria and Yeast. **Annals of Clinical & Laboratory Science**, v. 50, n. 1, p. 119-127, 2020.

GONZALEZ, Yolanda Canonico. **Marcadores moleculares específicos de *C. parapsilosis***. 2015. Dissertação (Mestre em Microbiologia) - Faculdade de Ciências Biológicas, Universidad Autonoma de Nuevo Leon, Mexico, 2015.

GOUBA, N.; DRANCOURT, M. Digestive tract mycobiota: A source of infection. **Médecine et maladies infectieuses**, v.45, p.9-16, 2015.

GUINEA, J. Global trends in the distribution of *Candida* species causing candidemia. **Clin Microbiol and Infect**, v.20, n.6, p.5-10, 2014.

HAIDER, S.; ROTSTEIN, C.; HORN, D.; LAVERDIERE, M.; AZIE, N.. The Prospective Antifungal Therapy Alliance® registry: A two-centre Canadian experience. **Can J Infect Dis Med Microbiol**, v. 25, n. 1, p. 17-23, 2014.

HE, S.; HANG, J.P.; ZHANG, L.; WANG, F.; ZHANG, D.C.; GONG, F.H. A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum 1,3- $\beta$ -d-glucan for invasive fungal infection: Focus on cutoff levels. **J of Microbiol, Immunol and Infect**, v.48, n.4, p.351-361, 2015.

HIDRON, A.I.; EDWARDS, J.R.; PATEL, J.; HORAN, T.C.; SIEVERT, D.M.; POLLOCK, D.A.; FRIDKIN, S.K. Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Annual Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006–2007. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 29, n. 11, p. 996-1011, 2008.

HORN, D.L. NEOFYTOS, D.; ANAISSIE, E.J.; FISHMAN, J.A.; STEINBACH, W.J.; OLYAEI, A.J.; MARR, K.A.; PFALLER, M.A.; CHANG, C.H.; WEBSTER, K.M. Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: Data from the prospective antifungal therapy alliance registry. **Clin. Infect. Dis.**, v. 48, p. 1695-1703, 2009.

INGROFF, A.E.; CANTON, E.; GIBBS, D.; WANG, A. Correlation of Neo-Sensitabs Tablet Diffusion Assay Results on Three Different Agar Media with CLSI Broth Microdilution M27-A2 and Disk Diffusion M44-A Results for Testing Susceptibilities of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans* to Amphotericin B, Caspofungin, Fluconazole, Itraconazole, and Voriconazole. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 3, p. 858-864, 2007.

ISHAM, N.; GHANNOUM, M.A. Antifungal activity of miconazole against recent *C.* strains. **Mycoses**, v.53, p.434-7, 2009.

JUNIOR, J.N.A. **Padronização de espectrometria de massa MALDI – TOF para identificação de cepas de *Trichosporon* spp de importância médica**. 2014. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina, São Paulo.

KAKEYA, H. Medical mycology seen through a One Health Approach. **Med. Mycol**, v. 63, p. 11-15, 2022.

KHAN, Z.U.; RANDHAWA, H.S.; CHEHADEH, W.; CHOWDHARY, A.; KOWSHIK, T.; CHANDY, R. *Cryptococcus neoformans* serotype A and *Cryptococcus gattii* serotype B isolates differ in their susceptibilities to fluconazole and voriconazole. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 33, p. 559-563, 2009.

KOLECKA, A.; KHAYHAN, K.; GROENEWALD, M.; THEELEN, B.; ARABATZIS, M.; VELEGRAKI, A.; KOSTRZEWA, M.; MARES, M.; ALDEEN, S.J.T.; BOEKHOUT, T. Identification of Medically Relevant Species of Arthroconidial Yeasts by Use of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight Mass Spectrometry. **Journal of Clinical Microbiology**, v.51, n.8, p.2491-2500, 2013.

KUMAR, S.; NYODU, R.; MAURYA, V.K.; SAXENA, S.K. Host Immune Response and Immunobiology of Human SARS-CoV-2 Infection. In: SAXENA, S.K. **Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), Medical Virology: from Pathogenesis to Disease Control**, 1. ed. , 2020. p. 43-53.

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

MACHADO, A.B.F.; MOREIRA, A.P.B; ROSA, D.D.; PELUZIO, M.C.G.; TEIXEIRA, T.F.S. **Microbiota Gastrintestinal – Evidências da sua influência na Saúde e na Doença**. 1a edição. Rio de Janeiro: Rubio, 2015.

MACHADO, G.S.; DALMOLIN, T.V.; BRANDAO, F. *C. auris* – fungo emergente que ameaça a saúde global. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.7, n.1, p. 9673-9681, 2021

MARTINEZ, R.M.; WOLK, D.M. Bloodstream Infections. **Microbiol Spectrum**, v.4, p.653-689, 2016.

MELLINGHOFF, S.C.; HOENIGL, M.; KOEHLER, P.; KUMAR, A.; LAGROU, K.; FLORL, C.L.; MEIS, J.F.; MENON, V.; RICHARDSON, R.R.; CORNELLY, O.A. EQUAL C. Score: An ECMM score derived from current guidelines to measure QUALity of Clinical C.emia Management. **Mycoses**, v. 61, p. 326-330, 2018.

MURPHY, S.E.; BICANIC, T. Drug Resistance and Novel Therapeutic Approaches in Invasive Candidiasis. **Front. Cell. Infect. Microbiol.**, v. 11, 2021.

NAGARATHNAMMA, T.; CHUNCHANUR, S.K.; RUDRAMURTHY, S.M.; VINEETHA, K.R.; RAMAMURTHY, K.; JOSEPH, J.; AMBICA, R. Outbreak of *Pichia kudriavzevii* fungaemia in a neonatal intensive care unit. **Journal of Medical Microbiology**, v. 66, p. 1759-1764, 2017.

NARGESI, S.; BONGOMIN, F.; HEDAYATI, M. The impact of COVID-19 pandemic on AIDS-related mycoses and fungal neglected tropical diseases: Why should we worry?. **PLOS Neglected Tropical Disease**, v. 15, n. 2, 2021.

NEUFELD, P.M.; MELHEM, M.S.C.; SZESZS, M.W.; RIBEIRO, M.D.; AMORIM, E.L.T.; SILVA, M.; LAZERA, M.S. Nosocomial candidiasis in Rio de Janeiro State: Distribution and fluconazole susceptibility profile. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 2, p. 477-484, 2015.

NGUYEN, A.M.; FAVEL, A.; CHASTIN, C.; SELVA, M.; REGLI, P. Comparative Evaluation of a Commercial System for Identification of *C. lusitanae*. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 19, p. 393-395, 2000.

NUNES, E.B.; NUNES, B.N.; MONTEIRO, J.C.M.S.; PAES, A.L.V. Perfil de sensibilidade do gênero *C. a* antifúngicos em um hospital de referência da Região Norte do Brasil. **Rev Pan-Amaz Saude**, v. 2, n. 4, p. 23-30, 2011.

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

PEDROSO, R.S.; MENEZES, R.P.; FERREIRA, J.C.; PENATTI, M.P.A.; SA, W.M.; MALVINO, L.D.S.; CANDIDO, R.C.; MOREIRA, T.A. Sensibilidade de isolados de *Candida spp.* a antifúngicos por disco-difusão em ágar e microdiluição em caldo. **Biosci. J**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 304-311, 2014.

PFALLER, M.A.; DIEKEMA, D.J.; GIBBS, D.L.; NEWELL, V.A.; MEIS, J.F.; GOULD, I.M.; FU, W.; COLOMBO, A.L.; NORIEGA, E.R. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2005: an 8.5-Year Analysis of Susceptibilities of *Candida* species and Other Yeast Species to Fluconazole and Voriconazole Determined by CLSI Standardized Disk Diffusion Testing. **Journal of Clinical Microbiology**, v.45, n. 6, p. 1735-1745, 2007.

RAMOS, L.S.; CARVALHO, M.H.G.F.; BARBEDO, L.S.; ZICCARDI, M.; CHAVES, A.L.S.; OLIVEIRA, R.M.Z.; PINTO, M.R.; SGARBI, D.B.G.; RIBEIRO, M.D.; BRANQUINHA, M.H.; SANTOS, A.L.S. *C. haemulonii* complex: species identification and antifungal susceptibility profiles of clinical isolates from Brazil. **J Antimicrob Chemother**, v. 70, p. 111-115, 2015.

ROGERS, T.R.; VERWEIJ, P.E.; CASTANHEIRA, M.; DANNAOUI, E.; WHITE, P.L.; ARENDRUP, M.C. Molecular mechanisms of acquired antifungal drug resistance in principal fungal pathogens and EUCAST guidance for their laboratory detection and clinical implication. **J Antimicrob Chemother**, v. 77, p. 2053-2073, 2022.

SALEHI, M.; AHMADIKIA, K.; BADALI, H.; KHODAVAISY, S. Opportunistic Fungal Infections in the Epidemic Area of COVID-19: A Clinical and Diagnostic Perspective from Iran. **Mycopathologia**, V. 185, P. 607-611, 2020.

SANTOS, J.R.; SOUZA, I.A.M.; BORGES, R.G.; SOUZA, L.B.S.; SANTANA, W.J.; COUTINHO, H.D.M. Características gerais da ação, do tratamento e da resistência fúngica ao fluconazol. **Scientia Medica**, v.15, n.3, p.189-97, 2005.

SANTOS, L.S. BERNARDES, R.C.; MAGALHAES, L.M.; SIQUEIRA, F.S. KHOURI, S. **Perfil de sensibilidade de amostras isoladas de casos de candidúrias hospitalares aos antifúngicos convencionais**. Anais (XIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IX Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba), 2009.

SATOH, K.; MAKIMURA, K.; HASUMI, Y.; NISHIYAMA, Y. UCHIDA, K.; YAMAGUCHI, H. *C. auris* sp. nov., a novel ascomycetous yeast isolated from the external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital. **Microbiol Immunol**, v.53, p.41-4, 2009.

- SCHULTHESS, B.; LEDERMANN, R.; MOUTTET, F.; ZBINDEN, A.; BLOEMBERG, G.V.; BOTTGER, E.C.; HOMBACH, M. Use of the Bruker MALDI Biotyper for Identification of Molds in the Clinical Mycology Laboratory. **Journal of Clinical Microbiology**, v.52, n.8, p.2797-2803, 2014.
- SELLAMI, H.; TRABELSI, H.; NEJI, S.; AMOURI, I.; CHEIKHROUHOU, F.; MAKNI, F.; AYADI, A. First genotype identification of *Trichosporon asahii* in Sfax, Tunisia. **Journal of Medical Microbiology**, v. 66, p. 397-401, 2017.
- SHAMA, S.; KUMAR, A. Antimicrobial Management of Sepsis and Septic Shock. **Clin Chest Med**, v.29, p.677-687, 2008.
- SHARMA, O.; SULTAN, A.A.; DING, H.; TRIGGLE, C.R. A Review of the Progress and Challenges of Developing a Vaccine for COVID-19. **Front. Immunol**, v. 11, 2020.
- SHISHIDO, A.A.; MATHEW, M.; BADDLEY, J.W. Overview of COVID- 19- Associated Invasive Fungal Infection. **Current Fungal Infection Reports**, v. 16, p. 87-97, 2022.
- SIDRIM, J.J.C.; MOREIRA, J.L.B. **Fundamentos clínicos e laboratoriais da micologia Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1999.
- SILVA, Adriana Correa. **Caracterização do mecanismo de ação do composto natural plumieridina contra *Cryptococcus gattii***. 2016. Dissertação (Mestre em Biologia Celular e Molecular) - Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2016.
- SMITH, A.J.; TAORI, S.K.; SCHELENZ, S.; JEFFERY, K.; JOHNSON, E.M.; BORMAN, A.. *C. auris*: a Review of the Literature. **Clinical Microbiology Reviews**, v.31, n.1, p.1-17, 2018.
- SOBEL, J.D.; OHMIT, S.E.; SCHUMAN, P.; KLEIN, R.S.; MAYER, K.; DUERR, A.; VAZQUEZ, J.A.; ROMPALO, A. The Evolution of *Candida* species and Fluconazole Susceptibility among Oral and Vaginal Isolates Recovered from Human Immunodeficiency Virus (HIV)–Seropositive and At-Risk HIV-Seronegative Women. **The Journal of Infections Diseases**, v.183, p.286-293, 2001.
- TARAMASSO, L.; TATARELLI, P.; DI BIAGIO, A. Bloodstream Infections in HIV-infected patients. **Virul**, v.7, n.3, p.320-328, 2016.
- TORTORANO, A.M.; PRIGITANO, A.; MORRONI, G.; BRESCINI, L.; BARCHIESI, F. Candidemia: Evolution of Drug Resistance and Novel Therapeutic Approaches. **Infection and Drug Resistance**, v. 14, p. 5543-5553, 2021.
- TURE, Z.; ALP, E. Infection control measures to prevent hospital transmission of *C.* **Hospital Practice**, 2377-1003 (Online), 2018.
- VICTOR, V.S.; DIAZ, M.C.J.; FEBRE, N. Vigilancia de la resistencia de levaduras a antifúngico. **Rev Chil Infect**, v. 19, n. 2, p. 149-156, 2002.
- WATERER, G. Advances in anti-fungal therapies. **Mycopathologia**, v. 186, p. 665-672, 2021.

WIEDERHOLD, N.P. The antifungal arsenal: alternative drugs and future targets. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.51, n.3, p.333-9, 2018.

WILLE, M.P.; GUIMARAES, T.; FURTADO, G.H.C.; COLOMBO, A.L. Historical trends in the epidemiology of C.emia: analysis of an 11-year period in a tertiary care hospital in Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 108, n. 3, p. 288-292, 2013.

XU, S.; ZHOU, C.; ZHANG, P.; FENG, C.; ZHANG, T.; SUN, Z.; ZHUANG, H.; CHEN, H.; CHANG, Q.; JIANG, R.; LI, H.; NI, Y. Diagnostic Performance of MALDI-TOF MS Compared to Conventional Microbiological Cultures in Patients with Suspected Endophthalmitis. **Ocular Immunology & Inflammation**, v. 0, n. 0, p. 1-8, 2019.

ZINGG, W.; HOLMES, A.; DETTENKOFER, M.; GOETTING, T.; SECCI, F.; CLACK, L.; ALLEGRANZI, B.; MAGIORAKOS, A.P.; PITTET, D. Hospital organisation, management, and structure for prevention of health-care-associated infection: a systematic review and expert consensu. **Lancet Infect Di**, v. 14, 1473-3099 (Online), 2014.



## ANEXO A



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Epidemiologia das infecções hematogênicas por leveduras do gênero Candida e perfil de susceptibilidade aos agentes antifúngicos de amostras isoladas entre 2015 e 2018 no Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora.

**Pesquisador:** FRANCIS MOREIRA BORGES

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 12659819.5.0000.5147

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Juiz de Fora UFJF

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 3.455.080

**Apresentação do Projeto:**

Apresentação do projeto está clara, detalhada de forma objetiva, descreve as bases científicas que justificam o estudo, estando de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12 de 2012, item III.

**Objetivo da Pesquisa:**

Os Objetivos da pesquisa estão claros bem delineados, apresenta clareza e compatibilidade com a proposta, tendo adequação da metodologia aos objetivos pretendido, de acordo com as atribuições definidas na Norma Operacional CNS 001 de 2013, item 3.4.1 - 4.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos e benefícios descritos em conformidade com a natureza e propósitos da pesquisa. O risco que o projeto apresenta é caracterizado como risco mínimo e benefícios esperados estão adequadamente descritos. A avaliação dos Riscos e Benefícios está de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12 de 2012, itens III; III.2 e V.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

O projeto está bem estruturado, delineado e fundamentado, sustenta os objetivos do estudo em sua metodologia de forma clara e objetiva, e se apresenta em consonância com os princípios éticos norteadores da ética na pesquisa científica envolvendo seres humanos elencados na

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N  
 Bairro: SAO PEDRO CEP: 36.036-900  
 UF: MG Município: JUIZ DE FORA  
 Telefone: (32)2102-3788 Fax: (32)1102-3788 E-mail: cep.propesq@ufjf.edu.br



Continuação do Parecer: 3.455.080

resolução 466/12 do CNS e com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

O protocolo de pesquisa está em configuração adequada, apresenta FOLHA DE ROSTO devidamente preenchida, com o título em português, identifica o patrocinador pela pesquisa, estando de acordo com as atribuições definidas na Norma Operacional CNS 001 de 2013 item 3.3 letra a; e 3.4.1 item 16. Apresenta o TERMO DE DISPENSA DO TCLE de acordo com a Resolução CNS 466 de 2012, item: IV.8. O Pesquisador apresenta titulação e experiência compatível com o projeto de pesquisa, estando de acordo com as atribuições definidas no Manual Operacional para CPEs. Apresenta DECLARAÇÃO de infraestrutura e de concordância com a realização da pesquisa de acordo com as atribuições definidas na Norma Operacional CNS 001 de 2013 item 3.3 letra h.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Diante do exposto, o projeto está aprovado, pois está de acordo com os princípios éticos norteadores da ética em pesquisa estabelecido na Res. 466/12 CNS e com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS. Data prevista para o término da pesquisa: 28/08/2020.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa CEP/UFJF, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 466/12 e com a Norma Operacional Nº001/2013 CNS, manifesta-se pela APROVAÇÃO do protocolo de pesquisa proposto. Vale lembrar ao pesquisador responsável pelo projeto, o compromisso de envio ao CEP de relatórios parciais e/ou total de sua pesquisa informando o andamento da mesma, comunicando também eventos adversos e eventuais modificações no protocolo.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1344019.pdf	04/07/2019 14:21:55		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoFrancisRev.pdf	04/07/2019 14:20:06	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Parecer Anterior	Biorrepositoriouso.pdf	04/07/2019 13:55:27	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N  
 Bairro: SAO PEDRO CEP: 36.036-900  
 UF: MG Município: JUIZ DE FORA  
 Telefone: (32)2102-3788 Fax: (32)1102-3788 E-mail: cep.propesq@ufjf.edu.br





Continuação do Parecer: 3.455.080

Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Biorrepositorio.pdf	04/07/2019 13:54:20	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Orçamento	ViabilidadeEconomicaHU.pdf	26/04/2019 12:47:14	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Infraestrutura2.pdf	26/04/2019 12:46:52	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Infraestrutura.pdf	26/04/2019 12:46:44	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Outros	CadastroPesquisadorHU.pdf	26/04/2019 12:45:50	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Outros	CadastroProjetoHU.pdf	26/04/2019 12:45:20	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	DispensaTCLE.pdf	26/04/2019 12:43:59	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto.pdf	26/04/2019 12:43:18	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não



JUIZ DE FORA, 15 de Julho de 2019

---

**Assinado por:  
Jubel Barreto  
(Coordenador(a))**

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N  
 Bairro: SAO PEDRO CEP: 36.036-900  
 UF: MG Município: JUIZ DE FORA  
 Telefone: (32)2102-3788 Fax: (32)1102-3788 E-mail: cep.propeq@ufjf.edu.br

## ANEXO B

	<b>HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA</b> Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HU- LUFJF	
---	---	---

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr. (a) está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa **"COINFECÇÕES, BACTERIANAS E FÚNGICAS, ASSOCIADAS A PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE CORONAVÍRUS (COVID-19) INTERNADOS EM HOSPITAIS DE UM MUNICÍPIO DA ZONA DA MATA MINEIRA: ASPECTOS CLÍNICOS, MICROBIOLÓGICOS E EPIDEMIOLÓGICOS"**.

Nesta pesquisa pretendemos avaliar infecções fúngicas e bacterianas em pacientes internados em hospitais de Juiz de Fora com diagnóstico de COVID-19. Serão avaliados os aspectos clínicos, microbiológicos e epidemiológicos dos pacientes com a finalidade de avaliar possíveis correlações de gravidade e agravamento do quadro da COVID-19 relacionado a coinfeções.



De acordo com os órgãos internacionais de saúde, investigações direcionadas ao entendimento dos fatores envolvidos no agravamento e gravidade da COVID-19, considerando aspectos clínicos, microbiológicos e epidemiológicos, deverão contribuir para melhor manejo dos pacientes e identificação de fatores de risco associados a maior gravidade da COVID-19.

Esses conhecimentos poderão contribuir e suscitar discussões sobre o envolvimento de fatores associados ao agravamento da COVID-19. Além disso, os resultados poderão gerar indicadores a serem usados no manejo e predição de fatores de risco associados a COVID-19.

Para este estudo estão sendo recrutados indivíduos de todas as faixas etárias e ambos os sexos recrutados em hospitais do município de Juiz de Fora – MG com diagnóstico confirmado para SARS-CoV-2 em estado grave que apresentem coinfeções bacterianas e/ou fúngicas.

- Considerando-se os riscos envolvendo pesquisa com seres humanos, de acordo com o preconizado pela legislação vigente (resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde), o estudo é classificado como de risco mínimo, isto é, o procedimento não acarretará riscos para os participantes, maiores do que aqueles a quais estariam expostos na sua rotina.
- Eventuais desconfortos físicos ou emocionais serão minimizados, uma vez que os dados clínicos e epidemiológicos serão obtidos diretamente do prontuário médico de acordo com a anuência do participante, expressa neste termo e as amostras de bactérias e/ou fungos avaliadas serão àquelas já isoladas a partir de culturas de rotina realizadas pelo laboratório de análises clínicas do hospital.
- Para participar da pesquisa o Sr. (a) não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Terá o esclarecimento sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a sua recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou alteração na forma em que é atendido pelo pesquisador, que tratará a sua identidade com padrões profissionais de sigilo.
- Os resultados da sua pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão e o (a) Sr. (a) não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar.

## ANEXO C

	<p style="text-align: center;"><b>HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA</b> Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HU- UFJF</p>	
---	---	---

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável, no Instituto de Ciências Biológicas UFJF/ Setor de Microbiologia e outra será fornecida ao senhor (a). Os dados e instrumentos utilizados na

pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos, e após esse tempo serão destruídos.

Eu, \_\_\_\_\_, portador do documento de identidade \_\_\_\_\_ fui informado do objetivo da pesquisa "COINFEÇÕES, BACTERIANAS E FÚNGICAS, ASSOCIADAS A PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE CORONAVÍRUS (COVID-19) INTERNADOS EM HOSPITAIS DE UM MUNICÍPIO DA ZONA DA MATA MINEIRA: ASPECTOS CLÍNICOS, MICROBIOLÓGICOS E EPIDEMIOLÓGICOS", de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim desejar.

Declaro que concordo em participar. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer minhas dúvidas.

Juiz de Fora, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_

Nome	Assinatura participante	Data
Nome	Assinatura pesquisador	Data
Nome	Assinatura testemunha	Data

Em caso de dúvidas, com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:

CEP/HU/ UFJF – COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UFJF

RUA CATULDO BREVIGLIERI, S/Nº - BAIRRO: SANTA CATARINA

JUIZ DE FORA – MG CEP: 36036-110

PHONE: (32) 4009-5187 E-MAIL: cep.hu@ufjf.edu.br

PESQUISADORA RESPONSÁVEL: FRANCIS MOREIRA BORGES

DEPTO DE PARASITOLOGIA, MICROBIOLOGIA E IMUNOLOGIA

ICB/ UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

RUA JOSÉ LOURENÇO KELMER S/Nº - CAMPUS UNIVERSITÁRIO

BAIRRO: MARTELOS – CEP-36036-330 – JUIZ DE FORA – MG

E-MAIL: francis.borges@ufjf.edu.br



UFJF - HOSPITAL  
UNIVERSITÁRIO DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
JUIZ DE FORA - MG



## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Coinfecções bacterianas e fúngicas, associadas a pacientes com diagnóstico de Coronavírus (COVID-19) internados em hospitais de um município da Zona da Mata Mineira: aspectos clínicos, microbiológicos e epidemiológicos.

**Pesquisador:** FRANCIS MOREIRA BORGES

**Área Temática:** A critério do CEP

**Versão:** 3

**CAAE:** 32572820.6.0000.5133

**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA UFJF

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.134.574

#### Apresentação do Projeto:

##### Resumo:

A COVID-19 é uma doença causada pelo coronavírus SARS-CoV-2, que apresenta um quadro clínico que varia de infecções assintomáticas a quadros respiratórios graves. Relatada no final de 2019 em Wuhan, China, desde então, disseminou-se amplamente na China e no mundo. A maioria das pessoas infectadas com a COVID-19 têm sintomas leves ou nenhum sintoma, mas algumas ficam gravemente doentes e morrem. Os sintomas podem incluir febre, tosse e falta de ar. Coinfecções têm sido relatadas em adultos infectados com SARS-CoV-2 internados em UTIs nos hospitais de vários países levando a maioria ao óbito. Os tipos de infecção variaram entre pneumonia bacteriana ou fúngica, pneumonia com bacteremia e infecção bacteriana do trato urinário, em sua maioria causada por microrganismos altamente resistentes à antimicrobianos. Em conclusão, a mortalidade de pacientes críticos com pneumonia por SARS-CoV-2 é alta. A gravidade da pneumonia por SARS-CoV-2 representa grande pressão para as unidades hospitalares de cuidados críticos, especialmente se elas não dispõem de pessoal ou recursos adequados. Assim, relatos de infecções bacterianas e fúngicas que complicam com a COVID-19 estão sendo feitos por profissionais de saúde de diversas partes do mundo. Portanto, serão necessários antimicrobianos de amplo espectro para tratar pacientes com a COVID-19 gravemente.

**Endereço:** Rua Carlos Braccini, s/n

**Bairro:** Santa Catarina

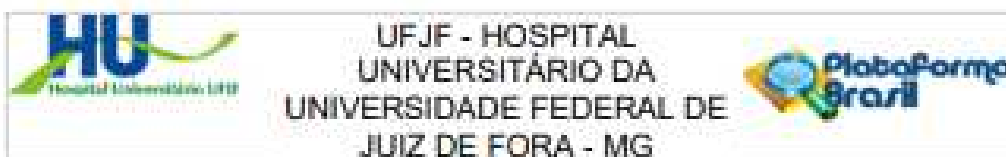
**CEP:** 36.036-110

**UF:** MG

**Município:** JUIZ DE FORA

**Telefone:** (31)4009-5217

**E-mail:** cep.hu@ufjf.edu.br



Continuação do Protocolo nº 4.136.5/21

doentes, principalmente

em UTIs. O uso generalizado de antimicrobianos de amplo espectro em pacientes com a COVID-19 em estado grave pode promover o surgimento de mais resistência a antimicrobianos em hospitais. Assim, devido até o presente momento existirem raros relatos na literatura apresentando e relacionando as características clínicas, microbiológicas e epidemiológicas das coinfeções em pacientes com COVID-19, torna-se necessário o conhecimento sobre a incidência dessas com a COVID-19 para melhor delineamento de estratégias de prevenção e tratamento desses pacientes, bem como o monitoramento de microrganismos resistentes aos antimicrobianos disponíveis para uso. Espera-se que o estudo avaliando as características clínicas, microbiológicas e epidemiológicas das coinfeções em pacientes com COVID-19, possa gerar informações que poderão contribuir para a construção de bancos de dados para vigilância epidemiológica podendo servir de base para ações estratégicas que visem minimizar os riscos de ocorrência de infecção durante o processo de internação, além de minimizar o impacto de infecções oportunistas bacterianas e fúngicas em pacientes com diagnóstico para COVID-19 e evitar o surgimento de infecções relacionadas a assistência à saúde nos hospitais, além de auxiliar no tratamento e reduzir a taxa de mortalidade da COVID-19.

**Hipótese:**

Coinfeções bacterianas e/ou fúngicas são responsáveis pelo agravamento das infecções pelo vírus SARS-CoV-2 e estão relacionadas ao aumento da mortalidade.

**Metodologia Proposta:**

Obtenção das Linhagens bacterianas e fúngicas da Coleção de Culturas dos Laboratórios. Será mantida uma coleção de microrganismos (linhagens de bactérias e/ou fungos) cedidos das coleções de culturas de microrganismos dos laboratórios de análises clínicas dos hospitais participantes que serão armazenadas em biorepositório, no CEMIC – ICB – UFJF, de acordo com o que determina a Resolução nº 441/11 do Conselho Nacional de Saúde, com o objeto de realização de experimentos bioquímicos-fisiológicos para determinação de fatores de virulência e de susceptibilidade in vitro a drogas antimicrobianas. Os critérios para seleção dos microrganismos que serão utilizados na pesquisa estão descritos no item critérios de inclusão e são determinados

Endereço: Rua Castelo Branco, s/n  
 Bairro: Santa Catarina CEP: 36.038-110  
 UF: MG Município: JUIZ DE FORA  
 Telefone: (32)4009-5217 E-mail: cex.hu@ufjf.edu.br



UFJF - HOSPITAL  
UNIVERSITÁRIO DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
JUIZ DE FORA - MG



Contribuição do Paciente: R. 114.574

pelas características dos pacientes dos quais foram isolados os microrganismos a partir de amostras biológicas nos laboratórios de análises clínicas dos hospitais participantes. As amostras biológicas dos pacientes, poderão ser sangue, urina, liquor, lavado broncoalveolar ou material de biópsia coletadas pela equipe dos hospitais participantes da pesquisa através de solicitação de exame realizada pelo corpo clínico do hospital. Após isolamento e identificação realizado pelos laboratórios de análises clínicas dos hospitais participantes da pesquisa, os microrganismos isolados, mantidos na coleção de culturas dos respectivos hospitais, serão transportados ao CEMIC estarão acondicionados de forma a preservar a sua integridade e estabilidade, bem como a segurança do pesquisador envolvido, durante o processo de transporte. Os microrganismos armazenados em tubos adequados, identificados com o nome do microrganismo e o código que identifica o paciente serão colocados em embalagens apropriadas lacradas e recipientes refrigerados adequados para o transporte. O recipiente será identificado com o símbolo internacional de risco biológico. O transporte será realizado de acordo com a RDC nº 20/2014 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Os microrganismos pertencentes ao biopositório pertencerão as classes I e II de risco biológico, de acordo com a Portaria nº 2349/2017 do Ministério da Saúde, portanto todos os cuidados relacionados as essas classes de risco biológico serão adotados. O CEMIC apresenta estrutura adequada para manutenção, manuseio e armazenamento dos microrganismos pertencentes as classes I e II de risco biológico. Os microrganismos serão armazenados em meios de cultura contendo criopreservantes, como o meio de cultura Skin Milk e congelados a -5°C atendendo a todos os critérios de biossegurança necessários (ANVISA, 2013a; CLSI, 2014).

Confirmação da identificação dos microrganismos obtidos das coleções dos laboratórios. Serão utilizados testes bioquímicos e fisiológicos padronizados para a identificação dos microrganismos, bem como análises moleculares utilizando iniciadores específicos, quando pertinente (ANVISA, 2013b; ANVISA, 2013c). Ensaio para verificação de fatores de virulência Os ensaios para verificação da presença dos fatores de virulência serão realizados através de provas bioquímicas e fisiológicas, como por exemplo teste para detecção de enzimas ou análises moleculares para determinação de genes de virulência presentes nos microrganismos (ANVISA, 2013b; ANVISA, 2013c). Ensaio para determinação da susceptibilidade in vitro às drogas antimicrobianas. Os ensaios serão realizados para determinação da susceptibilidade in vitro dos microrganismos relacionados ao agravamento da COVID-19 a drogas antimicrobianas utilizadas na prática clínica, através de metodologias padronizadas (CLSI, 2017; CLSI, 2018). Dados clínicos e epidemiológicos.

**Endereço:** Rua Carlos Drummond, s/n

Bairro: Santa Catarina

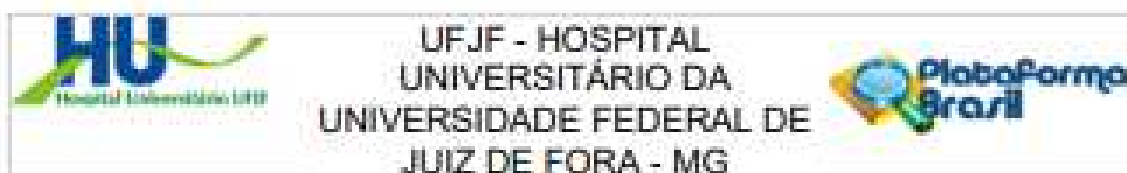
CEP: 36.036-110

UF: MG Município: JUIZ DE FORA

Telefone: (32)4009-5217

E-mail: cep@uuf.edu.br





Continuação do Protocolo: A 136.034

Para esta pesquisa, também deverão ser coletadas informações referentes aos dados clínicos e epidemiológicos coletados nos prontuários dos pacientes com diagnóstico de COVID-19, internados nos hospitais do município de Juiz de Fora, como cidade de origem, comorbidades, idade, sexo, defeito, tempo da internação.

#### **Critério de Inclusão:**

Como critério de inclusão neste estudo prospectivo, serão considerados dados clínicos, epidemiológicos e amostras de microrganismos (fungos e/ou bactérias) obtidos da coleção de culturas de microrganismos dos hospitais participantes da pesquisa atendidos com diagnóstico confirmado para SARS-CoV-2 em estado grave que apresentem coinfeções bacterianas e/ ou fúngicas. Serão considerados pacientes adultos (com idade superior a 18 anos), com pleno uso de sua capacidade cognitiva e mental, sem doenças psiquiátricas, para que possam decidir por sua participação ou não na pesquisa, de ambos os sexos, que apresentem ou não comorbidades como diabetes, hipertensão e doenças autoimunes.

#### **Critério de Exclusão:**

Como critério de exclusão neste estudo prospectivo, não serão considerados dados clínicos, epidemiológicos e amostras de microrganismos (fungos e/ou bactérias) obtidos da coleção de culturas de microrganismos dos hospitais participantes da pesquisa de pacientes que não tenham diagnóstico confirmado para SARS-CoV-2 ou que não apresentem coinfeções bacterianas e/ ou fúngicas. Serão excluídos os pacientes de ambos os sexos, que apresentem doenças psiquiátricas ou capacidade mental ou cognitiva reduzida que o impeçam de decidir por sua participação, que apresentem outras coinfeções relacionadas a COVID-19, como por exemplo parasitoses, para que não ocorram interferências na qualidade dos dados e interpretação dos resultados.

Tamanho da Amostra no Brasil: 200

#### **Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:**

Avaliar as características clínicas, microbiológicas e epidemiológicas dos pacientes com COVID-19,

Endereço: Rua Caetano Brilhante, s/n  
 Bairro: Santa Cebalva CEP: 36.036-110  
 UF: MG Município: JUIZ DE FORA E-mail: osp.hu@ufjf.edu.br  
 Telefone: (32)4909-5217



UFJF - HOSPITAL  
UNIVERSITÁRIO DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
JUIZ DE FORA - MG



Continuação do Protocolo 1.134/2016

que podem fornecer evidências pela estratificação de risco e auxiliar no melhoramento da prática clínica e redução da mortalidade.

#### Objetivo Secundário:

- Descrever dados clínicos associados às coinfeções por bactérias e fungos em pacientes com diagnóstico de Coronavírus (COVID-19);
- Descrever dados epidemiológicos relacionados aos pacientes com diagnóstico de Coronavírus (COVID-19) apresentando coinfeções por bactérias e fungos;
- Constituir uma coleção de culturas de microrganismos (Biorrepositório) no Centro de Estudos em Microbiologia (CEMIC) do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) para realização dos ensaios microbiológicos;
- Descrever dados microbiológicos associados às coinfeções por bactérias e fungos em pacientes com diagnóstico de Coronavírus (COVID-19);
- Realizar testes bioquímico-fisiológicos relacionados à virulência e resistência de bactérias e fungos associadas às coinfeções em pacientes com diagnóstico de Coronavírus (COVID-19).

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

##### Riscos:

De acordo com a orientação contida na Resolução CNS 466/2012, a pesquisa é caracterizada como de risco mínimo, uma vez que o método utiliza a coleta de informações a partir de fontes secundárias de dados dos pacientes. Não haverá interferência do pesquisador em nenhum aspecto do bem-estar físico, psicológico e social do participante. A identificação dos pacientes será feita por número de registro da pesquisa que será fornecido a cada ficha do presente estudo e esta lista será mantida em sigilo com os pesquisadores principais até o limite permitido pelas leis e/ou regulamentos aplicáveis. Em caso de publicação dos resultados do estudo, as identidades dos pacientes observados permanecerão confidenciais. Não haverá nenhum tipo de intervenção no paciente. Não haverá coleta de amostras biológicas do paciente, como sangue, urina, lavado broncoalveolar, liquor, dentre outros. As amostras biológicas serão coletadas nos hospitais participantes a partir de solicitação médica para diagnóstico das suspeitas de infecções microbianas pelos profissionais responsáveis de cada hospital, com a finalidade de diagnóstico de infecções microbianas. Os microrganismos isolados a partir do diagnóstico laboratorial de rotina.

Endereço: Rua Castelo Branco, s/n

Bairro: Santa Catarina

CEP: 36.036-110

UF: MG

Município: JUIZ DE FORA

Telefone: (32)4333-5217

E-mail: osp.hu@ufjf.edu.br



UFJF - HOSPITAL  
UNIVERSITÁRIO DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
JUIZ DE FORA - MG



Continuação do Formulário L136/04

dos hospitais participantes, constantes da coleção de culturas de microrganismos de cada hospital serão fornecidos aos pesquisadores para realização da pesquisa. Portanto, não haverá nenhuma intervenção direta dos pesquisadores no paciente, seja através de coleta de amostras biológicas ou de questionários para inquéritos epidemiológicos. Importante ressaltar que não serão solicitadas coletas de material biológico dos pacientes por parte dos pesquisadores, serão utilizados apenas os microrganismos isolados a partir dos exames solicitados pelo corpo clínico dos hospitais. Os participantes receberão esclarecimentos sobre a pesquisa e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

#### Benefícios:

Dentre os benefícios proporcionados pela pesquisa, podemos considerar a construção de bancos de dados para vigilância epidemiológica, o fornecimento de subsídios para indicação adequada e segura do emprego de antimicrobianos no tratamento de infecções relacionadas a Covid19 e a implantação de medidas de controle da disseminação de microrganismos resistentes, proporcionando estratégias que visem minimizar os riscos de infecções relacionadas a assistência a saúde do grupo.

#### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Esse projeto já havia sido avaliado pelo Comitê de Ética e pela CONEP as pendências geradas anteriormente foram todas sanadas pelo pesquisador, portanto está apto para o seu desenvolvimento.

O projeto está bem estruturado, delineado e fundamentado, sustenta os objetivos do estudo em sua metodologia de forma clara e objetiva, e se apresenta em consonância com os princípios éticos norteadores da ética na pesquisa científica envolvendo seres humanos elencados na resolução 466/12 do CNS e com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS.

#### Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os seguintes termos anexados foram avaliados:

- 1- PE\_INFORMAÇÕES\_BÁSICAS\_DO\_PROJETO\_1565227.pdf
- 2- CartaResposta.pdf

Endereço: Rua Castelo Branco, s/n

Bairro: Santa Catarina

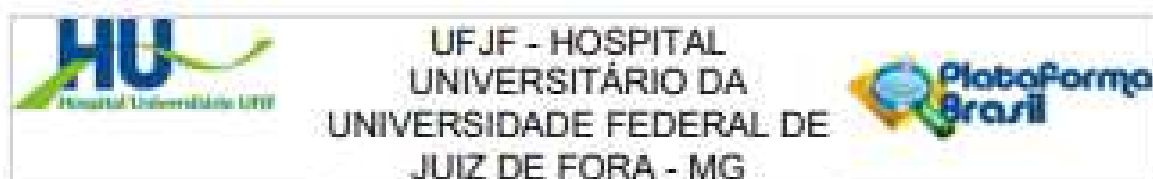
CEP: 36.036-110

UF: MG

Município: JUIZ DE FORA

Telefone: (32)4929-5217

E-mail: osp.ha@ufjf.edu.br



Continuação do Parecer: 4.138/204

3- CadastrodeProjetosGEP.pdf

4- Projeto.pdf

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Diante do exposto, o projeto está aprovado, pois está de acordo com os princípios éticos norteadores da ética em pesquisa estabelecido na Res. 466/12 CNS e com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_P BOJETO_1585987.pdf	02/07/2020 20:43:33		Aceito
Outros	CartaResposta.pdf	02/07/2020 20:40:33	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Brochura Pesquisa	CadastrodeProjetosGEP.pdf	02/07/2020 14:59:35	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	02/07/2020 14:59:22	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
TCE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCE.pdf	30/06/2020 11:22:51	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DeclaracaoSubCEP.pdf	27/05/2020 20:01:10	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Outros	TermoResponsabilidadePandemia.pdf	27/05/2020 20:00:18	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Outros	TermoCEMIC.pdf	27/05/2020 19:59:36	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Outros	TermoTransporte.pdf	27/05/2020 19:58:52	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorrepositório / Biobanco	Declaracaodloneposteriorrev.pdf	27/05/2020 19:58:07	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Outros	LattesVanessa.pdf	27/05/2020 19:57:04	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Outros	LattesVania.pdf	27/05/2020 19:58:33	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito

Endereço: Rua Celso Braugher, s/n

Bairro: Santa Catarina

CEP: 36.036-110

UF: MG

Município: JUIZ DE FORA

Telefone: (32)4005-5217

E-mail: cep.hu@ufjf.edu.br



UFJF - HOSPITAL  
UNIVERSITÁRIO DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
JUIZ DE FORA - MG



Continuação do Parecer: 6.126.076

Outros	LattesClaudioRev.pdf	27/05/2020 19:55:11	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Outros	LattesThiago.pdf	27/05/2020 19:54:40	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Outros	LattesFrancis.pdf	27/05/2020 19:54:12	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Outros	TermoSigilo.pdf	27/05/2020 19:53:34	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Infraestruturashmtj.pdf	27/05/2020 19:51:59	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Infraestruturashj.pdf	27/05/2020 19:51:43	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Infraestruturashunimed.pdf	27/05/2020 19:51:10	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Orçamento	orcamento.pdf	27/05/2020 19:50:43	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Outros	CartaEncaminhamento.pdf	27/05/2020 19:49:17	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Outros	CadastroPesquisador.pdf	27/05/2020 19:48:41	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto.pdf	27/05/2020 19:46:44	FRANCIS MOREIRA BORGES	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JUIZ DE FORA, 04 de Junho de 2020

Assinado por:  
Leticia Coutinho Lopes Moura  
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Carlos Breviglieri, 488

Bairro: Santa Catarina

CEP: 36.036-110

UF: MG

Município: JUIZ DE FORA

Telefone: (32)4028-5217

E-mail: [cep.hu@ufjf.edu.br](mailto:cep.hu@ufjf.edu.br)