

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Laura Lavorato Soldati

**Epidemiologia das candidúrias e perfil de susceptibilidade a agentes
antifúngicos de amostras isoladas nos últimos anos em um Hospital
Universitário de Minas Gerais**

JUIZ DE FORA
2024

Laura Lavorato Soldati

Epidemiologia das candidúrias e perfil de susceptibilidade a agentes antifúngicos de amostras isoladas nos últimos anos em um Hospital Universitário de Minas Gerais

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Produtos Naturais e Sintéticos Ativos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Priscila de Faria Pinto

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Francis Moreira Borges

JUIZ DE FORA

2024

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

Lavorato Soldati, Laura.

Epidemiologia das candidúrias e perfil de susceptibilidade a agentes antifúngicos de amostras isoladas nos últimos anos em um Hospital Universitário de Minas Gerais / Laura Lavorato Soldati. -- 2024.

102 f. : il.

Orientadora: Priscila de Faria Pinto

Coorientadora: Francis Moreira Borges

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2024.

1. Candida. 2. Candidíase. 3. Infecções Urinárias. 4. Espectrometria de Massas por Ionização e Dessorção a Laser Assistida por Matriz. 5. Antifúngicos. I. de Faria Pinto, Priscila, orient. II. Moreira Borges, Francis, coorient. III. Título.

Laura Lavorato Soldati

Epidemiologia das candidúrias e perfil de susceptibilidade a agentes antifúngicos de amostras isoladas nos últimos anos em um Hospital Universitário de Minas Gerais

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestra em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Produtos Naturais e Sintéticos Ativos.

Aprovada em 23 de agosto de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Dra. Priscila de Faria Pinto - Orientadora
Universidade Federal de Juiz de Fora

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

Dra. Patrícia Guedes Garcia
Universidade Federal de Juiz de Fora

Dra. Carolina dos Santos Fernandes da Silva
Universidade Presidente Antônio Carlos - Juiz de Fora

Dra. Magna Cristina de Paiva

Universidade Federal de São João del Rei

Juiz de Fora, 16/08/2024.



Documento assinado eletronicamente por **Priscila de Faria Pinto, Professor(a)**, em 26/08/2024, às 12:16, 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 **Magna Cristina de Paiva, Usuário Externo**, em 26/08/2024, às 13:17, 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 26/08/2024, às 13:53, 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 **Carolina dos Santos Fernandes da Silva, Usuário Externo**, em 26/08/2024, às 14:47, 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 **Patrícia Guedes Garcia, Professor(a)**, em 27/08/2024, às 16:34, 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) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **1928477** e o código CRC **6C8D8654**.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de iniciar agradecendo a Deus e à Nossa Senhora, por guiarem meus passos e colocarem pessoas iluminadas em meu caminho que me auxiliaram na realização e conclusão desse trabalho.

À minha mãe, Elenir, suas palavras me fortalecem e me conduzem em caminhos que eu não imaginava percorrer, nem em meus maiores sonhos. Escrever boa parte desse trabalho com sua voz ao fundo, me chamando ou chamando as “meninas”, foi um presente que me deu a energia que eu precisava para tal feito. Obrigada pelas conversas, desde as mais despretensiosas e simples às mais profundas. Eu te amo mais do que palavras possam descrever. E a meu pai e anjo Cleber, conversar com você em meus pensamentos continua sendo meu porto seguro.

Ao meu irmão Pedro, que durante esse processo esteve sempre presente, me escutando, dando dicas e conselhos. Você é minha fonte de inspiração e uma das minhas maiores admirações. Te amo! À minha cunhada Fernanda, obrigada pelas risadas, por toda a ajuda e pela força que me motivaram a iniciar e concluir esse processo. Aos meus irmãos Gil e Eliana, não tenho palavras para descrever meu amor por vocês. Eu aguardo meses e atravesso o mundo para encontrá-los. Meus melhores momentos sempre são aqueles em que estamos juntos.

À toda a minha família; tios, primos, aos meus sogros e à minha cunhada pela torcida e encorajamento. Aos meus amigos da faculdade, residência e da vida, obrigada pelo enorme incentivo para a realização desse trabalho e por tornarem essa caminhada mais leve.

Às minhas orientadoras, professora Priscila e professora Francis, as quais devo toda a minha gratidão. Obrigada pelas palavras, conselhos, orientações, por me receberem tão bem e me guiarem nesse caminho. Devo essa conquista a vocês!

Aos companheiros de trabalho, residentes e amigos do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário da UFJF/EBSERH, em especial à equipe da Microbiologia do HU Santa Catarina. Obrigada por todo o apoio e compreensão durante minha ausência nesse período.

Estendo meus agradecimentos a todos que contribuíram direta e indiretamente para o desenvolvimento desse trabalho, citando a equipe do Laboratório de Estrutura e Função de Proteínas e do Centro de Estudos em Micologia do Instituto de Ciências Biológicas/UFJF, e a equipe do Centro de Ciências da Saúde do Instituto de

Microbiologia Paulo de Góes/UFRJ.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, pela oportunidade e possibilidade de realização desse trabalho.

Por último e não por menos, ao meu marido, Luiz Fernando. Você tornou possível viver bem, trabalhar, estudar, escrever, fazer experimentos, tudo junto enquanto cuidava de mim de uma maneira imensurável. Eu posso expressar agora apenas uma pequena medida do amor e felicidade que você trouxe para a minha vida.

RESUMO

O isolamento de espécies de *Candida* em amostras de urina (candidúria) tem aumentado notadamente nas últimas décadas, associadas à infecções do sistema genito-urinário e até a candidemias, principalmente em indivíduos com fatores de risco para estas condições. Pelo exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar retrospectivamente o perfil epidemiológico e de susceptibilidade a agentes antifúngicos disponíveis comercialmente e também a novos compostos de origem natural, em amostras isoladas de pacientes internados com candidúria, em um Hospital Universitário da Zona da Mata Mineira. Foram isoladas 107 leveduras de urina de 75 pacientes, no período de março de 2021 a janeiro de 2023. A maioria dos indivíduos eram idosos (67%), do sexo feminino (75%), internados por longos períodos em Centro de Terapia Intensiva (44,9%) e em uso de sonda vesical de demora (90,6%). A taxa de mortalidade dos indivíduos avaliados foi de 38,7%. A identificação fúngica foi realizada por métodos fenotípicos manuais e MALDI-TOF MS, havendo boa concordância entre os métodos manuais e molecular. As espécies mais isoladas foram a *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*. O teste de susceptibilidade aos antifúngicos foi determinado por disco-difusão e os antifúngicos relacionados a maiores taxas de resistência foram o fluconazol, voriconazol, itraconazol e caspofungina; e a levedura que apresentou maior perfil de resistência foi a *C. glabrata*. O principal antifúngico utilizado no manejo terapêutico dos indivíduos avaliados neste estudo foi o fluconazol, no qual foi associado a uma taxa de mortalidade de 4%, quando administrado para o tratamento de infecções causadas por linhagens resistentes. A pesquisa da atividade antifúngica foi feita para os extratos das plantas *Amaranthus viridis*, *Stachys lanata*, *Glycyrrhiza inflata*, *Pothomorphe umbellata* e *Renealmia petasites*, por meio da metodologia de microdiluição em caldo. Apenas o extrato de *P. umbellata* apresentou atividade inibitória moderada e fungicida frente à algumas linhagens de *Candida* sp. Destaca-se portanto, a importância de estudos de caracterização das espécies e que avaliem a resistência aos antifúngicos de leveduras isoladas de amostras clínicas, bem como a busca de novos ativos com atividade antifúngica.

Palavras-chave: *Candida*. Candidíase. Infecções Urinárias. Espectrometria de Massas por Ionização e Dessorção a Laser Assistida por Matriz. Antifúngicos.

ABSTRACT

The isolation of *Candida* species in urine samples (candiduria) has increased significantly in recent decades, associated with genitourinary system infection and candidemia, especially in individuals with risk factors for these conditions. Therefore, the aim of this study was to retrospectively evaluate the epidemiological and susceptibility profile of commercially available antifungal agents and also of new natural products, in samples isolated from patients hospitalized with candiduria at a University Hospital in the Zona da Mata Mineira. A total of 107 yeasts were isolated from urine of 75 patients, from March 2021 to January 2023. Most individuals were elderly ones (67%), females (75%), hospitalized for long periods in the Intensive Care Unit (44.9%) and using an indwelling urinary catheter (90.6%). The mortality rate of the evaluated individuals was 38.7%. Fungal identification was performed by phenotypic methods and MALDI-TOF MS, showing a good rate of matching between the manual methods and the molecular one. The most isolated species were *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* and *C. parapsilosis*. Antifungal susceptibility testing was determined by disk diffusion method and the antifungals related to the highest resistance rates were fluconazole, voriconazole, itraconazole and caspofungin; and the yeast that presented the uppermost resistance profile was *C. glabrata*. The main antifungal agent used in the therapeutic management of the individuals evaluated in this study was fluconazole, which was associated with a mortality rate of 4% when administered for the treatment of infections caused by resistant strains. The antifungal activity of different extracts was investigated for the plants *Amaranthus viridis*, *Stachys lanata*, *Glycyrrhiza inflata*, *Pothomorphe umbellata* and *Renealmia petasites*, performed by using the broth microdilution assay. Only the extract of *P. umbellata* showed moderate inhibitory and fungicidal activity against some strains of *Candida* sp. As a result, we highlight the importance of studies that characterize the species and evaluate the frequency of antifungal resistance in yeasts isolated from clinical samples, as well as the search for new products with antifungal activity.

Keywords: *Candida*. Candidiasis. Urinary Tract Infections. Spectrometry, Mass, Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization. Antifungal Agents.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	- Características morfológicas de algumas espécies de <i>Candida</i> ..	24
Figura 2	- Descrição da técnica de MALDI-TOF MS	28
Figura 3	- Mecanismo de ação e estrutura da anfotericina B	30
Figura 4	- Mecanismo de ação dos azóis e estrutura do fluconazol	32
Figura 5	- Mecanismo de ação das equinocandinas e estrutura da caspofungina	33
Gráfico 1	- Número de amostras positivas para <i>Candida</i> spp. isoladas de urina de pacientes, de acordo com unidades de internação.....	51
Gráfico 2	- Predomínio de espécies de <i>Candida</i> isoladas de urina através de metodologia fenotípica manual.....	54
Gráfico 3	- Predomínio de espécies de <i>Candida</i> isoladas de urina através da identificação por MALDI-TOF MS	55
Figura 6	- Representação do teste de susceptibilidade aos antifúngicos	67
Quadro 1	- Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de leveduras à anfotericina B nas candidúrias (03/2021 a 01/2023)	68
Quadro 2	- Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de leveduras à nistatina nas candidúrias (03/2021 a 01/2023)	69
Quadro 3	- Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de leveduras à caspofungina nas candidúrias (03/2021 a 01/2023)	69
Quadro 4	- Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de leveduras ao fluconazol nas candidúrias (03/2021 a 01/2023)	70
Quadro 5	- Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de leveduras ao itraconazol nas candidúrias (03/2021 a 01/2023)	70
Quadro 6	- Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de leveduras ao voriconazol nas candidúrias (03/2021 a 01/2023)	71
Gráfico 4	- Perfil geral de susceptibilidade aos antifúngicos das espécies de levedura isoladas.....	74
Gráfico 5	- Perfil geral de utilização de antimicrobianos nos pacientes avaliados com candidúria	78

Quadro 7	- Demonstração de indivíduos com candidúria com seu respectivo tratamento, perfil de sensibilidade ao antifúngico administrado e desfecho (03/2021 a 01/2023)	80
----------	---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Características morfológicas de algumas espécies de <i>Candida</i> ...	23
Tabela 2	- Características dos extratos utilizados nas análises de teste de susceptibilidade a compostos naturais	47
Tabela 3	- Perfil clínico-epidemiológico de indivíduos com candidúria no período de março de 2021 a janeiro de 2023	53
Tabela 4	- Identificação de leveduras em amostras de urina (março/2021 a dezembro/2022)	61
Tabela 5	- Distribuição dos fenótipos de resistência aos antifúngicos selecionados para o estudo	75
Tabela 6	- Atividade antifúngica <i>in vitro</i> dos extratos testados frente a linhagens de <i>Candida</i> sp.	84

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg/mL	Micrograma por mililitro
µL	Mililitro
AIDS	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASD	Ágar Sabouraud Dextrose
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BHI	Caldo Infusão de Cérebro-Coração
CEMIC	Centro de Estudos em Microbiologia
CFM	Concentração Fungicida Mínima
CH	Cirurgia do Homem
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	<i>Clinical & Laboratory Standards Institute</i>
CM	Cirurgia da Mulher
COVID-19	<i>Coronavirus disease 2019</i>
CTI	Centro de Terapia Intensiva
DMSO	Dimetilsulfóxido
EBSERH	Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares
FDA	<i>Federal Drug Administration</i>
GN	Ginecologia
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HU-UFJF	Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora
IL-6	Interleucina 6
IRAS	Infecções relacionadas à assistência à saúde
ITU	Infecção do trato urinário
LACEN	Laboratório Central de Saúde Pública
LMGO	Laboratório de Micologia de Goiás
MALDI-TOF MS	<i>Matrix Associated Laser Desorption-Ionization – Time of Flight Mass Spectrometry</i>
MH	Medicina do Homem
MM	Medicina da Mulher

MTCC	<i>Microbial Type Culture Collection and Gene Bank</i>
NEFRO	Nefrologia
PANC	Planta alimentícia não convencional
PED	Pediatria
RPMI-1640	<i>Roswell Park Memorial Institute 1640</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
TMO	Transplante de Medula Óssea
TNF- α	Fator de necrose tumoral α
UFC	Unidade formadora de colônia
UTI	Unidade de Terapia Intensiva

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	INFECÇÕES RELACIONADAS À ASSISTÊNCIA À SAÚDE	16
2.2	INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO.....	17
2.3	CANDIDÚRIA.....	18
2.4	DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA CANDIDÚRIA.....	25
2.4.1	Diagnóstico por Espectrometria de massas	26
2.5	ANTIFÚNGICOS E RESISTÊNCIA	29
2.6	COMPOSTOS DE ORIGEM NATURAL COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	36
2.6.1	Espécies vegetais com potencial atividade antifúngica	37
3	OBJETIVOS	42
3.1	OBJETIVO GERAL.....	42
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
4	MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1	DELINEAMENTO DO ESTUDO	43
4.2	COLETA E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS	44
4.3	IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISES DE DADOS POR MALDI-TOF MS.....	45
4.4	TESTES DE SUSCEPTIBILIDADE AOS AGENTES ANTIFÚNGICOS.....	46
4.5	TESTES DE SUSCEPTIBILIDADE A NOVOS COMPOSTOS DE ORIGEM NATURAL	47
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	49
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
5.1	PERFIL CLÍNICO E PREVALÊNCIA DE ESPÉCIES FÚNGICAS.....	50

5.2	COMPARAÇÃO ENTRE IDENTIFICAÇÃO FENOTÍPICA E POR MALDI-TOF MS.....	59
5.3	PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE AOS AGENTES ANTIFÚNGICOS	66
5.4	CORRELAÇÃO TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIFÚNGICOS, TRATAMENTO E DESFECHO CLÍNICO	77
5.5	DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DOS EXTRATOS DE <i>Stachys lanata</i> , <i>Glycyrrhiza inflata</i> , <i>Pothomorphe umbellata</i> , <i>Renealmia petasites</i> E <i>Amaranthus viridis</i> EM AMOSTRAS DE <i>Candida</i> sp. RESISTENTES A UM OU MAIS ANTIFÚNGICOS TESTADOS	81
6	CONCLUSÃO	86
	REFERÊNCIAS.....	87

1 INTRODUÇÃO

As leveduras do gênero *Candida* têm grande importância pela alta frequência com que colonizam e infectam o hospedeiro humano. Suas espécies são consideradas saprófitas e são encontradas principalmente na microbiota da mucosa bucal, trato gastrointestinal e geniturinário de indivíduos saudáveis. Estes microrganismos comensais tornam-se patogênicos caso ocorram alterações nos mecanismos de defesa do hospedeiro, que podem ser decorrentes de mudanças fisiológicas características da infância e envelhecimento ou, mais frequentemente, associadas a doenças degenerativas, neoplásicas, imunodeficiências congênitas ou adquiridas e imunossupressão induzida por atos médicos (SARDI *et al.*, 2013).

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) são caracterizadas como um dos eventos mais frequentes adquiridos após ou durante a internação ou procedimento em um estabelecimento de saúde. São altamente associadas a um aumento das taxas de morbi-mortalidade relacionadas à assistência, além de contribuir para o acréscimo dos custos ao sistema de saúde (ANVISA, 2021).

A infecção do trato urinário (ITU) é uma das causas mais prevalentes de IRAS em ambientes hospitalares. Nas últimas décadas, o aumento do isolamento de espécies de *Candida* em amostras de urina (candidúria) se tornou muito frequente, principalmente em indivíduos com fatores de risco para esta condição, como pacientes do sexo feminino, idosos, pós cirúrgicos, imunossuprimidos, internados em unidade de terapia intensiva, diabéticos, em uso de sonda vesical de demora ou terapia antibacteriana de largo espectro. Em indivíduos saudáveis, as leveduras são detectadas em amostras de urina em menos de 1% da população, porém em hospitais e centros de atenção terciária podem corresponderem até 10% dos casos (GAJDÁCS *et al.*, 2019).

A candidúria pode indicar desde a colonização ou contaminação durante a coleta de urina por leveduras, como também pode representar uma infecção alta ou baixa do sistema urinário, bem como indicar ou predispor uma doença sistêmica causada por *Candida* spp. (FISHER *et al.*, 2011). As infecções invasivas causadas por espécies de *Candida* estão relacionadas ao aumento da morbi-mortalidade em pacientes internados, sendo esse aumento intimamente ligado à demora na recuperação e identificação da levedura, assim como o início da terapia antifúngica (MCCARTY; WHITE; PAPPAS, 2021). O desenvolvimento de coinfeções fúngicas,

principalmente com o advento da COVID-19, é facilitado por fatores de risco bem descritos, como imunossupressão, internação em unidades de terapia intensiva, uso de cateter venoso central e corticosteroides (HOENIGL *et al.*, 2022).

A utilização de testes de susceptibilidade a antifúngicos não é uma prática laboratorial comum na área da microbiologia clínica, mas recomendada diante da emergência de resistência em espécies de *Candida* (COLOMBO; GUIMARÃES, 2007). O monitoramento de amostras clínicas pode ser uma ferramenta extremamente útil, pois permite a escolha do fármaco e dose adequadas a serem usados para cada paciente, evitando-se tanto a administração de dose excessiva, e consequentemente seus efeitos indesejáveis, como a seleção de microrganismos resistentes (GARCIA-VIDAL *et al.*, 2018).

Dada a natureza eucariótica da célula fúngica, o número de fármacos disponíveis para o tratamento das doenças fúngicas permanece limitado. A eficácia desses agentes se encontra atualmente comprometida devido à emergência de linhagens resistentes documentadas na literatura e prática clínica (LEE *et al.*, 2021). Compostos derivados de plantas podem apresentar uma alternativa no tratamento de diversas doenças infecciosas, devido à presença de numerosos componentes fitoquímicos em sua composição com potencial atividade antimicrobiana, além de oferecerem outras vantagens, como baixo custo terapêutico e toxicidade limitada (ABABUTAIN; ALGHAMDI, 2021).

A identificação de leveduras e a interpretação do achado de candidúria podem contribuir para avaliar possíveis fontes de surtos hospitalares e estabelecer identidade das linhagens presentes no ambiente hospitalar, ferramenta importante na epidemiologia hospitalar (GARCIA-VIDAL *et al.*, 2018). Desse modo, a avaliação de dados locais pode refletir sobre a situação do município e servir de comparação com dados regionais e nacionais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 INFECÇÕES RELACIONADAS À ASSISTÊNCIA À SAÚDE

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) são definidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) como infecções adquiridas após uma internação ou procedimento em um estabelecimento de saúde, quando se iniciam pelo menos após 3 dias do primeiro dia de internação ou a partir da data de realização do procedimento (ANVISA, 2021).

Historicamente conhecida como “Infecções Hospitalares”, as IRAS tiveram seu conceito ampliado de forma a englobar eventos ocorridos em qualquer ambiente de assistência à saúde (PADOVEZE; FORTALEZA, 2014). É considerada um grave problema de saúde pública, com altos custos diários estimados de pacientes acometidos por estas infecções, além de estar relacionada ao aumento do tempo de internação e surgimento de outras comorbidades. O desenvolvimento de IRAS está intimamente atrelado à condição de saúde do paciente, mais comum em casos envolvendo imunossupressão, tempo prolongado de internação, cirurgias prévias e resistência a antimicrobianos (ANVISA, 2021).

Nos Estados Unidos, as IRAS são a sexta maior causa de morte do país, com dados sugerindo 99.000 mortes anuais, superando dados de mortalidade relacionados à HIV/AIDS, câncer e acidentes automobilísticos. É estimado que cerca de 25 a 32 bilhões de dólares podem ser poupados com medidas de controle da incidência dessas infecções (CDC, 2017; LIU; DICKTER, 2020). No Brasil, maiores taxas de IRAS e infecções por microrganismos multirresistentes foram associadas a longas internações hospitalares e ao uso de ventilação mecânica, principalmente depois do surgimento da pandemia da COVID-19 (POLLY *et al.*, 2022). Estima-se que o custo diário de internação hospitalar de um paciente com IRAS aumente em cerca de 55% (ANVISA, 2021).

Entre as IRAS mais prevalentes no mundo estão, em primeiro lugar, as infecções do trato urinário associadas a cateteres, seguida pelas pneumonias, infecções da corrente sanguínea e infecções de sítio cirúrgico. As infecções do trato urinário inferior são conhecidamente precursoras das infecções do trato urinário superior, podendo acometer a corrente sanguínea, caracterizada como a IRAS mais relacionada ao aumento das taxas de morbidade e mortalidade (LIU; DICKTER,

2020). Espécies de *Candida* são consideradas atualmente os patógenos mais comuns isolados em casos de infecção de corrente sanguínea associadas a cateter central, em enfermarias e Unidades de Terapia Intensiva (UTIs), correspondendo a 25% dos patógenos isolados em UTIs (WEINER-LASTINGER *et al.*, 2020).

2.2 INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO

A infecção do trato urinário (ITU) é uma questão de saúde cada vez mais comum em pacientes hospitalizados. São responsáveis por 35 a 45% das IRAS em pacientes adultos e podem ser definidas como infecções associadas a cateter vesical de demora, não associada a cateter ou não relacionada a procedimentos urológicos. Aproximadamente 15 a 25% dos pacientes são submetidos a cateterismo vesical, muitas vezes inseridos inadequadamente e sem indicação clínica, além do risco associado ao uso prolongado do cateter. Como a maioria das ITUs estão relacionadas à utilização de cateteres vesicais, é considerada uma IRAS com grande potencial preventivo (ANVISA, 2017; LIU, DICKTER, 2020).

A colonização e infecção bacteriana ou fúngica está estritamente relacionada com o tempo de permanência da cateterização vesical, podendo ocorrer intralúmen ou extralúmen, através da formação de biofilmes. Após cerca de 30 dias, todos os tipos de cateteres são totalmente colonizados com biofilmes, sendo a remoção do cateter a única forma de erradicar essa colonização. A formação de biofilmes auxilia na propagação dos microrganismos, que podem se tornar mais resistentes aos tratamentos farmacológicos, desempenhando um papel estratégico nas infecções relacionadas a cateteres (ANVISA, 2017; LIU; DICKTER, 2020; CELA-LÓPEZ *et al.*, 2021).

Algumas estratégias de prevenção da incidência de ITUs relacionadas a cateter podem ser realizadas a fim de evitar a colonização microbiana do trato urinário, e incluem: diminuir o tempo de permanência com o cateter e sua utilização desnecessária, manter todo o ambiente asséptico e utilizar equipamentos esterilizados para a colocação do dispositivo, além de garantir treinamento e qualificação dos profissionais responsáveis pela atividade (LIU; DICKTER, 2020).

O diagnóstico da ITU se dá através de exames de urina (qualitativos e quantitativos) e a terapêutica geralmente é conduzida em pacientes sintomáticos, o que corresponde de 10 a 25% dos pacientes com cultura de urina positiva.

O diagnóstico precoce é de extrema importância devido a potencialidade de evoluir para uma infecção da corrente sanguínea e levar a quadros letais (IACOVELLI *et al.*, 2014).

As ITUs podem afetar qualquer parte do trato urinário, se desenvolvendo ou migrando para a uretra, bexiga ou rins. São mais prevalentes em mulheres do que em homens, devido ao menor comprimento da uretra, fatores hormonais e outras condições que podem facilitar a colonização microbiana (CELA-LÓPEZ *et al.*, 2021). A infecção pode se iniciar através da ascensão microbiana pela uretra, vindo de um local de colonização no trato genitourinário ou através da corrente sanguínea, se instalando nos rins (GAJDÁCS *et al.*, 2019).

Entre os agentes etiológicos mais comuns causadores de ITUs estão as bactérias gram-negativas, como a *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. e *Pseudomonas aeruginosa*; bactérias gram-positivas, como as do gênero *Enterococcus*; e leveduras do gênero *Candida*. Esses agentes podem, inicialmente, colonizar o trato urinário do paciente e em seguida, levar à modificação da microbiota local por diversas causas, entre elas a utilização de antimicrobianos (WEINER-LASTINGER *et al.*, 2020). Como a maioria das ITUs são causadas por bactérias, a interpretação da presença de leveduras na urina ainda não é padronizada e está sujeita a diferentes análises (SINGULANI *et al.*, 2023).

2.3 CANDIDÚRIA

A candidúria é denominada como a presença de espécies de *Candida* em amostras de urina, considerada um dos microrganismos mais prevalentes causadores de infecções urinárias em pacientes imunossuprimidos e em uso de cateter vesical de demora.

A candidúria pode frequentemente representar uma gama de condições que requerem a interpretação e a distinção pelo clínico assistente: pode indicar colonização do trato urinário ou contaminação durante a coleta de urina por leveduras, identificada principalmente em pacientes assintomáticos; como também pode sugerir infecção alta ou baixa do sistema urinário. Infelizmente, não há diretrizes técnicas ou protocolos bem estabelecidos para diferenciar a colonização do trato urinário da infecção por *Candida* spp. (FISHER *et al.*, 2011; ODABASI; MERT, 2020). Entretanto, a identificação da presença de leveduras em urina não

deve ser desconsiderada, visto que pode indicar alguma patologia do sistema geniturinário ou predispor uma candidemia, principalmente em pacientes críticos, a qual é relacionada com uma mortalidade de 30 até 50% dos pacientes acometidos (PONGRÁCZ *et al.*, 2015).

A maioria dos pacientes diagnosticados com candidúria são assintomáticos. Pacientes com infecção urinária baixa podem apresentar sintomas como disúria e urgência ou maior frequência para urinar, com alguns casos evoluindo para febre e dor abdominal. Indivíduos submetidos a cirurgia ou com alguma obstrução do trato urinário devem ser avaliados com cautela, devido ao risco de complicação da infecção e disseminação para a corrente sanguínea (ODABASI; MERT, 2020).

Embora a presença de leveduras em urina não seja um grande fator de risco para sua disseminação na corrente sanguínea, algumas associações já foram descritas entre candidúria e candidemia. Wang *et al.* (2019) encontrou que, dos 4.240 pacientes diagnosticados com candidúria em um período de 13 anos em um hospital nos Estados Unidos, 6,2% tinham candidemia concomitante. Uso de cateter venoso central, nutrição parenteral, presença de tumores ginecológicos e hematológicos e o uso de antibacterianos inibidores da beta-lactamase foram alguns dos fatores descritos nesses pacientes que aumentaram o risco de desenvolvimento da candidemia.

Outros fatores de risco observados em pacientes internados em centros de atenção terciária são descritos como predisponentes para a candidúria como: internação em unidades de terapia intensiva; uso de imunossupressores, sonda vesical de demora ou terapia antibacteriana de largo espectro; além de também ser mais comum em pacientes do sexo feminino, idosos ou diabéticos (COLOMBO; GUIMARÃES, 2007). Em um estudo prospectivo multicêntrico, a incidência de candidúria foi encontrada em 22% dos pacientes internados por mais de 7 dias em UTIs, com um índice de mortalidade 25% maior nesses pacientes (ALVAREZ-LERMA *et al.*, 2003).

Leveduras geralmente não apresentam tropismo pelos tecidos do trato urinário, com baixa aderência à mucosa da bexiga, o que reforça a necessidade da correta interpretação do achado da candidúria, principalmente quando se tratar de pacientes com fatores de risco para o desenvolvimento de uma ITU e/ou candidemia (FISHER *et al.*, 2011).

Dentre as espécies de leveduras mais descritas causadoras de candidúria, a

Candida albicans é a mais relacionada com a patogênese da doença, sendo isolada em cerca de 50 a 70% dos casos. Isto se deve ao fato dessa espécie expressar níveis mais altos de fatores de virulência comparado com outras espécies, colonizar facilmente sítios anatômicos próximos ou de fácil acesso ao trato urinário, e por fazer parte da microbiota normal de 15 a 60% da população (FISHER *et al.*, 2011). Outra espécie comumente descrita é a *Candida glabrata* (atualmente denominada *Nakaseomyces glabrata* pela nova nomenclatura, responsável por até 20% das ITU), seguida por outras espécies de leveduras do gênero *Candida*, incluindo: *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Pichia kudriavzevii* (*Candida krusei*), *Clavispora lusitaniae* (*Candida lusitaniae*) e *Meyerozyma guilliermondii* (*Candida guilliermondii*) (COLOMBO; GUIMARÃES, 2007; WHO, 2022; KIDD; ABDOLRASOULI; HAGEN, 2023). Neste trabalho, continuaremos utilizando a nomenclatura antiga para a denominação das espécies de *Candida*.

No Brasil, um estudo realizado para identificar a incidência de fatores de risco associados com a presença de leveduras em urina de pacientes hospitalizados em Goiânia, durante um período de 12 meses, reuniu 45 episódios de candidúria. A distribuição por sexo foi semelhante nesta casuística sendo a média e mediana de idade dos pacientes de 48 anos. O tempo decorrido entre a internação e a primeira cultura de urina positiva para *Candida* spp. foi maior que 1 semana para 80% dos pacientes. *C. albicans* foi a espécie mais isolada em 35,6% dos pacientes, seguida por *C. tropicalis*, que foi a mais comumente isolada dentre as outras leveduras do gênero *Candida* (22,2%). Os dados obtidos neste estudo demonstram que a candidúria é uma condição infecciosa encontrada em pacientes em uso de terapia antibacteriana de largo espectro, sondagem vesical de demora, ou que foram submetidos a procedimentos cirúrgicos, com maior tempo de hospitalização (KOBAYASHI *et al.*, 2004).

A habilidade de espécies de *Candida* em colonizar, aderir e causar ITU depende de uma série de fatores. Esta invasão no trato urinário pode ocorrer de forma anterógrada (microrganismo levado aos rins pela corrente sanguínea) ou retrógrada (ascensão do microrganismo pela uretra ou bexiga). Alguns fatores de virulência foram descritos para essas espécies como galvanotropismo e tigmotropismo, pleomorfismo, produção de proteínas de adesão e enzimas hidrolíticas como aspartil proteinases, fosfolipases e hemolisinas, além da formação de biofilmes. Esses fatores permitem a adesão da levedura às células endoteliais e

uroteliais, a evasão do sistema imune do hospedeiro e a posterior disseminação para outros tecidos (FISHER *et al.*, 2011).

O tigmotropismo reflete a capacidade da *C. albicans* em reorientar seu eixo de crescimento em torno das discontinuidades da superfície mucosa ou endotelial, de forma a enfrentar menor resistência ao seu desenvolvimento local. Já o galvanotropismo é a capacidade das suas hifas de se reorientarem de acordo com o campo elétrico do ambiente, podendo afetar os locais de formação e ramificação do tubo germinativo e a direção da extensão hifal (FISHER *et al.*, 2011).

A formação de biofilmes por leveduras pode desempenhar um papel importante na sua patogênese, como forma de proteção para o desenvolvimento e sobrevivência da linhagem. Uropatógenos formadores de biofilmes são frequentemente associados a persistência à longo prazo, além de exibirem uma resistência aumentada a agentes antimicrobianos. Essa comunidade multicelular é a forma mais encontrada em superfícies bióticas e abióticas, incluindo diversos dispositivos, como próteses, cateteres ou outras superfícies infectadas por leveduras. A adesão de células é mediada por forças eletrostáticas e hidrofóbicas, em conjunto com proteínas de superfície celular conhecidas como adesinas (SARDI *et al.*, 2013).

Características morfológicas das leveduras também são descritas como importantes fatores envolvidos no mecanismo de infecção. *C. albicans* e *C. dubliniensis* são capazes de formarem hifas verdadeiras e pseudohifas, e por isso são denominadas leveduras pleomórficas. As pseudohifas são originadas por brotamento, a partir de células de leveduras ou hifas; o novo filamento se alonga, permanecendo ligado à célula-mãe e apresentando constrições nas junções entre as células. Já o desenvolvimento de hifas verdadeiras envolve a formação do tubo germinativo, que se alonga e ramifica em septos que dividem as hifas em unidades separadas, não apresentando constrição no ponto de origem. A formação do tubo germinativo é uma característica exclusiva das espécies *C. albicans* e *C. dubliniensis*. Acredita-se que a formação de hifas esteja relacionada à maior capacidade de invadir tecidos e à maior resistência à fagocitose (SILVA *et al.*, 2012).

A *C. glabrata* é uma levedura não pleomórfica, se apresentando apenas na forma de blastoconídeos menores, com ausência de pseudohifas. Tem como característica inerente à espécie a presença de um conjunto de adesinas epiteliais. Foi verificado que a expressão de um tipo específico de gene codificador de um grupo

de adesinas (*EPA6*) é aumentada *in vivo* em espécies de *C. glabrata* envolvidas no desenvolvimento de ITUs (DE LAS PEÑAS *et al.*, 2003). Semelhante à *C. albicans*, *C. glabrata* apresentou um grau importante de hidrofobicidade em sua superfície celular, fato também relacionado ao aumento da aderência (PANAGODA; ELLEPOLA; SAMARANAYAKE, 2001). A formação de biofilmes também é comum nessa espécie, demonstrado em ensaios *in vitro* por Silva *et al.* (2010), como a espécie que mais produziu biofilme em superfícies de silicone, quando na presença de urina artificial.

A *C. tropicalis* é descrita como formadora de pseudohifas e, em alguns casos, hifas verdadeiras. Suas pseudohifas precoces podem ser similares à formação do tubo germinativo de *C. albicans* e *C. dubliniensis*, porém produzem uma área de constrição característica adjacente à célula mãe. Produzem fosfolipases e aspartil proteinases responsáveis, respectivamente, por hidrolisar fosfolipídeos em ácidos graxos e degradar proteínas como queratina, mucina, anticorpos, citocinas e colágeno durante a invasão tecidual. Acredita-se que essas ações contribuem para a colonização e invasão do trato urinário (FISHER *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2012).

A *C. parapsilosis* gera pseudohifas grandes e curvas, com produção de biofilme mais expressiva em situações que envolvem maior concentração de glicose e lipídeos, fato correlacionado com sua alta prevalência em infecções de corrente sanguínea (PANAGODA; ELLEPOLA; SAMARANAYAKE, 2001). Produzem menores quantidades de proteinases, o que pode explicar a causa dessa espécie ser encontrada com menos frequência em ITUs (FISHER *et al.*, 2011).

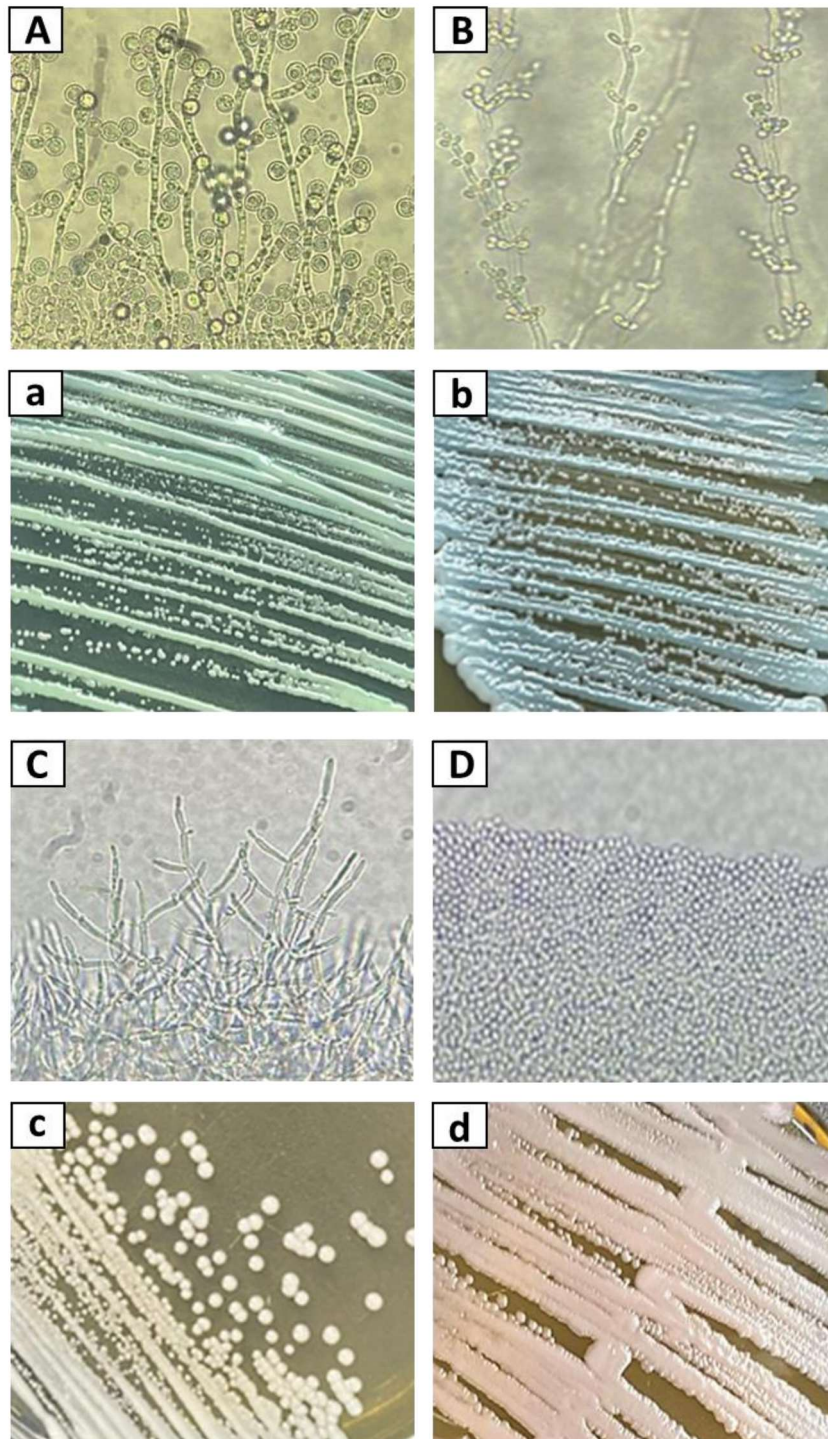
Algumas características morfológicas e de fatores de virulência expressos por espécies de *Candida* são descritos na Tabela 1 e Figura 1.

Tabela 1 – Características morfológicas de algumas espécies de *Candida*

ESPÉCIE	FORMAÇÃO DO TUBO GERMINATIVO	HIFA/ PSEUDOHIFA	TAMANHO DA CÉLULA (μm)	FATORES DE VIRULÊNCIA
<i>Candida albicans</i>	+	+	4–6 a 6–10	Adesinas epiteliais, hidrofobicidade da membrana, biofilme, aspartil proteinases
<i>Candida dubliniensis</i>	+	+	4–5 a 6–10	Aspartil proteinases
<i>Candida tropicalis</i>	-	+	4–8 a 5–11	Fosfolipases e aspartil proteinases
<i>Candida parapsilosis</i>	-	+	2.5–4 a 2.5–9	Biofilme
<i>Candida glabrata</i>	-	+	1–4	Adesinas epiteliais, hidrofobicidade da membrana, biofilme

Fonte: Adaptado de SILVA *et al.* (2012).

Figura 1 – Características morfológicas de algumas espécies de *Candida*



Legenda: Estruturas microscópicas de espécies de *Candida* em ágar fubá + Tween 80 e colônias macroscópicas em ágar cromogênico CHROMagar® *Candida*. Estruturas microscópicas: (A) *Candida albicans*; (B) *Candida tropicalis*; (C) *Candida parapsilosis*; (D) *Candida glabrata*. Colônias macroscópicas: (a) *C. albicans*; (b) *C. tropicalis*; (c) *C. parapsilosis*; (d) *C. glabrata*. Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Foi descrita pela primeira vez em 2009 uma espécie emergente de *Candida* denominada *Candida auris*, isolada do canal auditivo externo de um paciente no Japão. Posteriormente essa espécie foi reconhecida como um importante agente de infecção sistêmica invasiva, pela grande propensão em colonizar a pele humana e persistência nosocomial, além de ser multirresistente a fármacos antifúngicos, representando uma séria ameaça à saúde global (LOCKHART *et al.*, 2017; LEE *et al.*, 2021). Desde então, infecções por *C. auris* foram descritas em mais de 30 países, incluindo Japão, Coréia do Sul, Índia, Paquistão, África do Sul, Quênia, Kuwait, Israel, Venezuela, Colômbia, Reino Unido e, nos últimos anos, nos Estados Unidos e Canadá (SARIS; MEIS; VOSS, 2018).

No Brasil foi publicado um Comunicado de Risco pela ANVISA em março de 2017 (atualizado em outubro de 2022), de forma a definir a Rede Nacional para identificação de *C. auris* em serviços de saúde. Esse documento detalha orientações para a vigilância laboratorial, encaminhamento de amostras suspeitas de *C. auris* para laboratórios de referência, além de medidas de prevenção e controle de IRAS (ANVISA, 2022). O primeiro caso no Brasil foi identificado em dezembro de 2020, isolado de uma amostra de ponta de cateter de um paciente internado em um hospital da Bahia, com o segundo caso isolado ocorrendo em outro hospital também na Bahia. O terceiro surto teve início em janeiro de 2022 em isolados de amostras de urina de 2 pacientes internados em um hospital de Pernambuco, totalizando 47 casos ao longo de alguns meses de monitoramento. Novos surtos foram identificados em maio de 2023 em 3 hospitais de Pernambuco, com um dos casos mais recentes notificado em junho de 2023, envolvendo um recém-nascido internado em hospital de São Paulo. A confirmação da identificação de *C. auris* está sendo realizada por meio da metodologia de MALDI-TOF MS ou por sequenciamento genético da região ITS e/ou D1/D2 do DNAr do microrganismo (BORGES; NASCIMENTO, 2021; ANVISA, 2022; 2023).

2.4 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA CANDIDÚRIA

A candidúria é definida por alguns autores como a presença de um número maior que 10^4 UFC (unidades formadoras de colônia) de *Candida* sp. em amostras de urina (ALVAREZ-LERMA *et al.*, 2003; PADAWER *et al.*, 2015; ODABASI; MERT, 2020). É importante ressaltar que este ponto de corte definido não diferencia

a colonização da infecção do trato urinário e a presença de coinfeção bacteriana também não é incomum (ODABASI; MERT, 2020).

A identificação laboratorial de leveduras em amostras clínicas é realizada através de métodos envolvendo cultura e testes bioquímicos que conseguem diferenciar espécies entre si devido às suas diferenças fenotípicas. A cultura de leveduras envolve a semeadura do material biológico em Ágar Sabouraud Dextrose e, após o crescimento das colônias, a realização de testes bioquímicos como a assimilação e fermentação de carboidratos e provas diferenciais como a formação do tubo germinativo. Atualmente existem também no mercado kits prontos contendo reagentes para provas bioquímicas e detecção de enzimas específicas de *Candida* spp. Alguns outros testes baseados em dados morfológicos como análises microscópicas também são realizados, permitindo a visualização de estruturas reprodutivas, blastósporos e pseudohifas. Para o diagnóstico de espécies de *Candida*, a utilização do meio de coloração diferencial CHROMagar® *Candida* (CHROMagar®, Paris, França) é também muito presente na rotina laboratorial, como método de triagem. O meio permite diferenciar, presuntivamente, algumas espécies (SILVA *et al.*, 2012).

Apesar de serem a única opção de diagnóstico em vários laboratórios do Brasil, a utilização de sistemas manuais de classificação de espécies de leveduras possui algumas limitações críticas, entre elas a dificuldade na diferenciação de espécies em situações que os fungos são muito semelhantes morfológicamente ou não desenvolvem estruturas reprodutivas. Além disso, testes manuais necessitam de maior tempo de realização, e podem sofrer atrasos substanciais para a definição de conduta no tratamento dos pacientes (PASTERNAK, 2012).

2.4.1 Diagnóstico por Espectrometria de massas

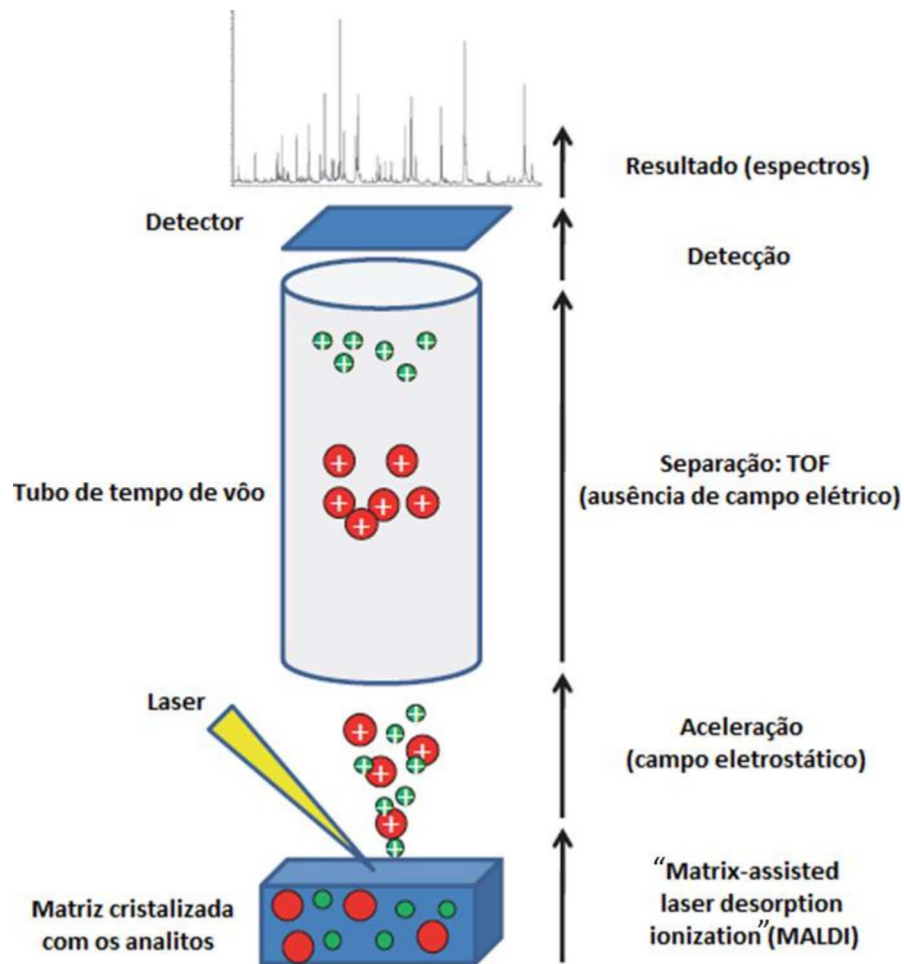
Tecnologias moleculares revolucionaram o diagnóstico de infecções por *Candida* spp. nas últimas décadas, principalmente por permitir a manipulação de microrganismos não viáveis e por não dependerem do crescimento fúngico. Técnicas que utilizam ácidos nucleicos como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) são capazes de detectar quantidades muito pequenas de material genético fúngico em amostras biológicas ou culturas, e por esse motivo são muito utilizadas em pesquisa. Entretanto, essa metodologia possui algumas desvantagens, como o

alto custo e a necessidade de mão de obra especializada, características não atrativas para a rotina de um laboratório clínico (PASTERNAK, 2012; SILVA *et al.*, 2012).

Estudos proteômicos foram desenvolvidos e incluídos como uma alternativa para o diagnóstico microbiológico rápido. O MALDI-TOF MS, sigla para “Matrix Associated Laser Desorption-Ionization – Time of Flight Mass Spectrometry” consiste em um sistema baseado na espectrometria de massas para a análise de moléculas orgânicas e biomarcadores. É considerada por diversos autores como uma técnica precisa, rápida e econômica, que pode ser utilizada para identificação de diversos microrganismos em isolados clínicos, incluindo fungos. Quando aplicada à identificação de leveduras, a técnica está ligada a análise de proteínas ribossomais e de parede celular (CROXATTO; PROD’HOM; GREUB, 2012; SANTOS *et al.*, 2011).

A técnica baseia-se na incidência de um laser em uma placa contendo uma matriz polimérica na qual uma colônia do microrganismo isolado é adicionada. O laser é responsável pela vaporização da amostra e ionização dos analitos na fase gasosa, que são primeiro acelerados através de um campo eletrostático e depois aspirados em um tubo a vácuo. De acordo com a razão massa/carga (m/z) dessas moléculas, estas são separadas e levadas a um detector. O tempo de chegada ao detector, chamado de tempo de voo (“time of flight”), é diferente para cada molécula, que pode ter massas moleculares variando entre 2000 e 20000 Da, com moléculas menores levando menos tempo que moléculas maiores. A chegada ao detector origina diferentes espectros, que são únicos para cada espécie microbiológica. O gráfico final é tratado em uma base de dados contendo espectros teóricos e experimentais para diversas espécies, comparando a presença ou ausência de picos referentes às proteínas analisadas (Figura 2) (CROXATTO; PROD’HOM; GREUB, 2012; PASTERNAK, 2012).

Figura 2 - Descrição da técnica de MALDI-TOF MS



Fonte: Adaptado de CROXATTO; PROD’HOM; GREUB (2012).

O MALDI-TOF MS é considerado atualmente uma técnica proteômica de alto rendimento capaz de diferenciar espécies anteriormente consideradas de difícil identificação. Essa diferenciação muitas vezes era possível apenas através de outras técnicas de biologia molecular baseadas na detecção do material genético do microrganismo, devido às semelhanças fenotípicas entre as espécies (SANTOS *et al.*, 2011; CROXATTO; PROD’HOM; GREUB, 2012). A técnica permitiu identificação rápida de espécies emergentes de leveduras, abrindo novas possibilidades para a microbiologia diagnóstica e tornando possível a diferenciação de microrganismos patogênicos. É importante ressaltar que os bancos de dados se tornam mais completos e complexos à medida que a utilização desta técnica aumenta (PASTERNAK, 2012).

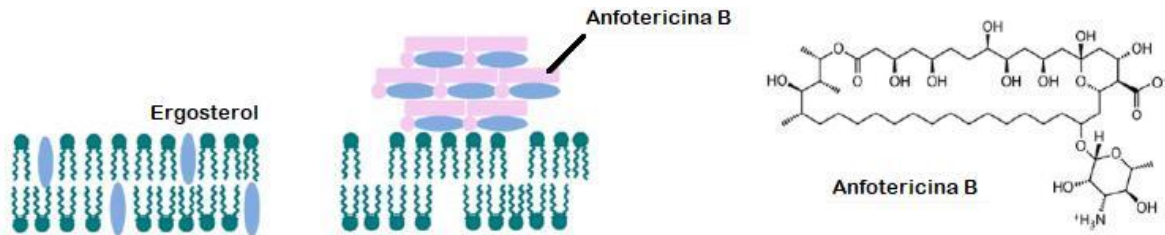
2.5 ANTIFÚNGICOS E RESISTÊNCIA

Fungos patogênicos são conhecidamente responsáveis por provocar doenças em humanos, infectando bilhões de pessoas anualmente, com grande impacto na mortalidade. Com o surgimento e maior prevalência de indivíduos imunocomprometidos, a incidência de doenças graves provocadas por fungos aumentou muito nas últimas décadas, assim como a inefetividade de diversos antimicrobianos existentes no mercado. No contexto de patógenos fúngicos, a pouca variedade de classes de fármacos antifúngicos e a disseminação de microrganismos multirresistentes tem um impacto negativo para o tratamento dessas enfermidades (FISHER *et al.*, 2018; LEE *et al.*, 2021).

A resistência a antifúngicos pode ser definida como a não susceptibilidade de um patógeno a fármacos antifúngicos, determinada por teste de susceptibilidade *in vitro*, podendo ser caracterizada como resistência intrínseca ou adquirida. A resistência intrínseca é aquela encontrada naturalmente em algumas espécies de leveduras, sem exposição prévia ao fármaco; e a adquirida é aquela que se desenvolve após a exposição ao medicamento, em linhagens anteriormente susceptíveis, como resultado de alterações na expressão gênica. É importante ressaltar que uma linhagem pode apresentar mais de um mecanismo de resistência, e que qualquer mudança na expressão gênica pode ter efeitos aditivos no desenvolvimento da mesma ou levar à resistência cruzada (SANGUINETTI; POSTERARO; LASS-FLÖRL, 2015).

Os polienos foram a primeira classe de antifúngicos disponíveis no mercado para tratar infecções sistêmicas causadas por fungos. Os fármacos mais utilizados atualmente dessa classe, a anfotericina B (Figura 3) e a nistatina, foram introduzidos na clínica nos anos 1950 como potentes antifúngicos com ação em uma ampla gama de espécies. Os polienos são compostos fungicidas que se ligam a um componente de membrana essencial na célula fúngica, o ergosterol, e o complexo fármaco-ergosterol leva à formação de poros na membrana, levando ao extravasamento do conteúdo intracelular (OSTROSKY- ZEICHNER *et al.*, 2010).

Figura 3 – Mecanismo de ação e estrutura da anfotericina B



Fonte: Adaptado de LEE *et al.* (2021).

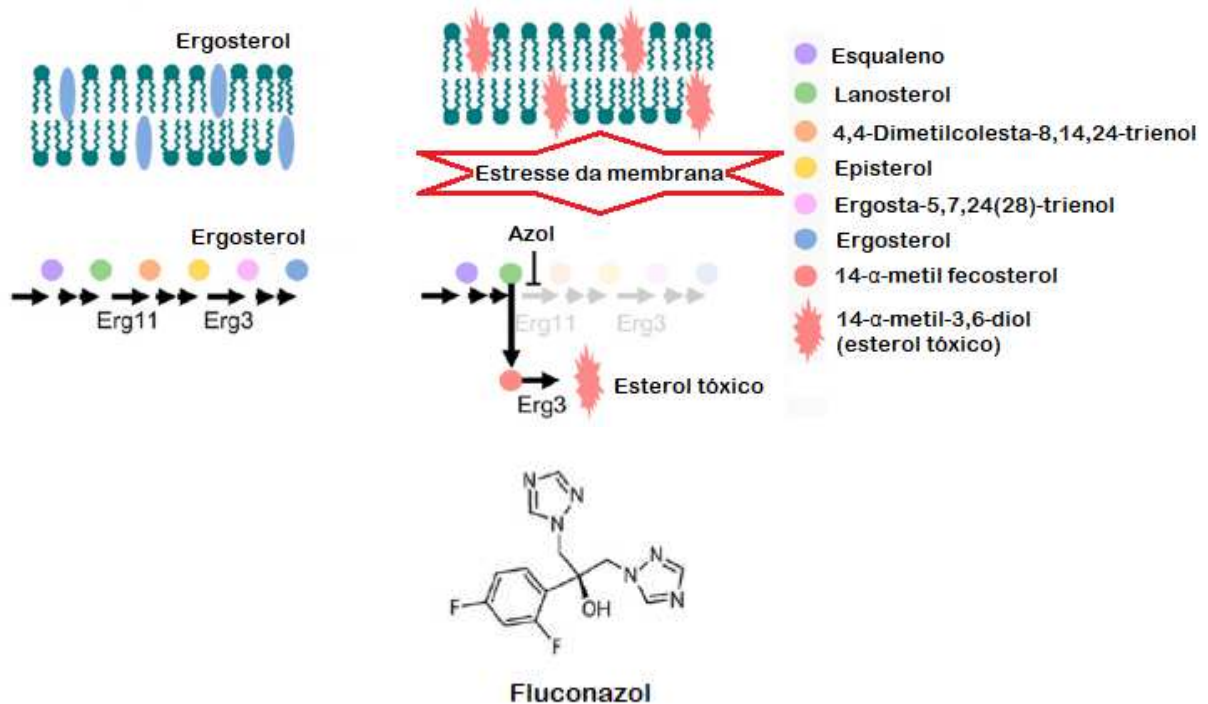
A nistatina é prescrita mais comumente na forma de pomada e suspensão oral, para tratamento da candidíase. Já a anfotericina B é administrada sob a forma intravenosa e tem amplo espectro de ação, mas é considerada tóxica dependendo da dose administrada, devendo ser usada com cautela em pacientes com problemas renais. Essa toxicidade se dá devido à interação do fármaco com o colesterol presente na membrana plasmática das células do hospedeiro, em razão de sua semelhança com o ergosterol das células fúngicas. A formulação mais utilizada é denominada anfotericina B desoxicolato e apresenta, além da nefrotoxicidade, outros efeitos adversos como calafrios, febre, dispnéia, hipocalcemia e baixa tolerabilidade. Em meados dos anos 1990, surgiram no mercado formulações lipídicas da anfotericina B (anfotericina B lipossomal e complexo lipídico), oferecendo uma alternativa menos nefrotóxica para pacientes que não respondem a outras classes antifúngicas (FISHER *et al.*, 2018).

A diminuição na susceptibilidade a polienos é incomum, porém nas situações em que ocorre, tem sido atribuída a alguns fatores, entre eles mutações em enzimas envolvidas na biossíntese do ergosterol do tipo *ERG2*, *ERG3*, *ERG5* e *ERG11*, que reduzem a afinidade de ligação do fármaco ao alvo, resultando na resistência à sua ação, característica encontrada principalmente em *C. albicans*. Para *C. glabrata* resistentes a polienos isoladas de amostras clínicas são descritas também mutações no gene *ERG6*. Em *C. auris*, o sequenciamento genético de linhagens resistentes após a administração de anfotericina B revelou mutações em diversos genes da síntese do ergosterol, entre eles *ERG1*, *ERG2*, *ERG6* e *ERG13*. Além das alterações genéticas, já foi descrito o aumento da resistência aos polienos em espécies de *Candida* após o tratamento com azóis, em razão da redução do conteúdo de ergosterol da membrana promovido pelo uso prévio de azóis (LEE *et*

al., 2021).

Os azóis são a classe de antifúngicos mais prescrita na clínica, e incluem os triazóis fluconazol, itraconazol e voriconazol; e os imidazóis cetoconazol, miconazol e clotrimazol. Foram descobertos a partir da década de 80 e são considerados a primeira escolha no tratamento das principais patologias relacionadas a infecções fúngicas, devido principalmente à sua ampla ação, perfil farmacocinético favorável e baixa toxicidade. Atuam principalmente a nível de membrana plasmática, inibindo a ação da enzima lanosterol desmetilase, que converte lanosterol em ergosterol, responsável pela integridade da membrana e atividade de várias enzimas e proteínas ligadas à membrana. Com o conteúdo de ergosterol diminuído na célula fúngica, a função e estrutura da membrana celular se torna alterada, levando à inibição do crescimento fúngico (Figura 3). Mutações pontuais no gene *ERG11* (gene que codifica a lanosterol desmetilase), hiperexpressão de genes que codificam bombas de efluxo (genes *CDR* e *MDR*) e alterações em proteínas de parede celular e outras enzimas que participam da via de biossíntese do ergosterol, são alguns dos mecanismos envolvidos na resistência aos azóis (CASALINUOVO; DI FRANCESCO; GARACI, 2004; SANGUINETTI; POSTERARO; LASS-FLÖRL, 2015).

Figura 4 – Mecanismo de ação dos azóis e estrutura do fluconazol



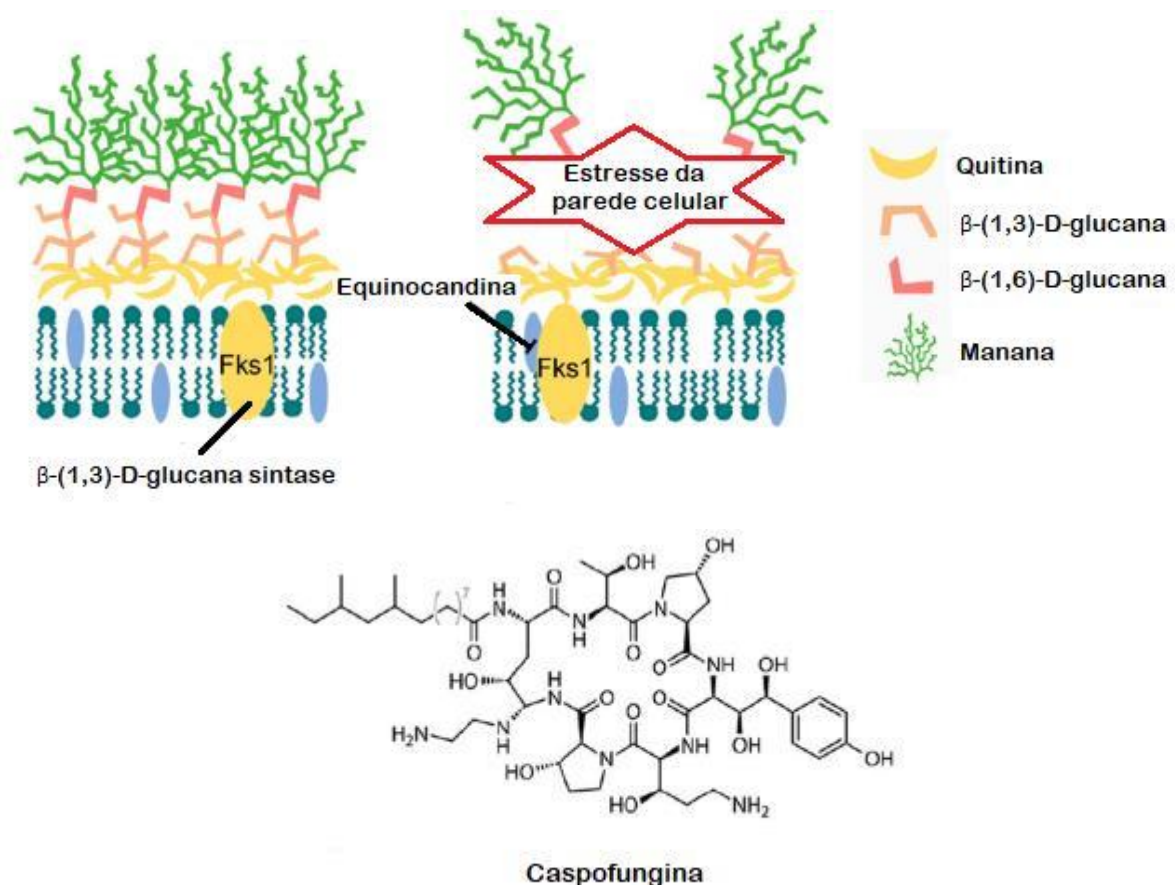
Fonte: Adaptado de LEE *et al.* (2021).

Algumas espécies possuem resistência bem descrita ao fluconazol como a *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. auris*. A resistência de *C. glabrata* tem sido relacionada com a regulação positiva de transportadores ABC (“ATP-binding cassette”), responsáveis por aumentar o efluxo do fármaco. Outro mecanismo descrito envolve a capacidade da espécie de crescer em condições de composição alterada do conteúdo de esterol na membrana (COLOMBO; ALMEIDA-JÚNIOR; GUINEA, 2017). Para *C. krusei*, os mecanismos responsáveis pela resistência intrínseca são pouco conhecidos. Foram sugeridas mutações no gene *ERG11* e aumento da expressão de bombas de efluxo como prováveis mecanismos. A resistência aos azóis exibida pela *C. auris* (mais de 90% dos isolados identificados apresentam concentrações inibitórias mínimas acima das concentrações permitidas para uso clínico) pode ser causada pela substituição da sequência de aminoácidos no alvo *ERG11*, com possíveis outros mecanismos envolvendo bombas de efluxo. Resistência por parte de *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* são consideradas raras, com estimativa global de 1,4%; 3,6% e 4,1% de resistência entre isolados clínicos, respectivamente (SANGUINETTI; POSTERARO; LASS-FLÖRL, 2015;

LEE *et al.*, 2021).

A classe das equinocandinas é considerada a mais nova a ser comercializada e incluem os medicamentos anidulafungina, micafungina e caspofungina. Agem através da inibição da enzima β -(1,3)-D-glucana sintase, bloqueando a síntese da β -(1,3)-D-glucana, componente essencial para a manutenção da integridade da parede celular fúngica. Essa ação culmina em um desequilíbrio na pressão osmótica da célula, caracterizando seu efeito fungicida. As equinocandinas tem potente atividade contra espécies de *Candida*, bom perfil de segurança e baixo potencial para interações com outros medicamentos (LEE *et al.*, 2021).

Figura 5 – Mecanismo de ação das equinocandinas e estrutura da caspofungina



Fonte: Adaptado de LEE *et al.* (2021).

A β -(1,3)-D-glucana sintase é codificada pelos genes *FKS1* e *FKS2* e mutações nesse grupo de genes são responsáveis pela resistência adquirida à equinocandinas na maioria das espécies de *Candida*, em especial a *C. parapsilosis*,

para a qual concentrações inibitórias mínimas mais altas foram relatadas. Outro potencial mecanismo de resistência envolve respostas adaptativas da célula fúngica quando submetidas a situações de estresse, como por exemplo a presença do antifúngico. A inibição da síntese da β -(1,3)-D-glucana causa defeitos na parede celular, que são detectados por proteínas transmembrana, levando a ativação de diversas vias de sinalização (via da proteína quinase C, calcineurina e glicerol de alta osmolaridade), iniciando mecanismos de recuperação de danos. A parede celular fúngica tem características dinâmicas e compensatórias para aumentar a síntese de um componente celular quando outro é inibido. Dessa forma ocorre um aumento da síntese de quitina e a redistribuição de polissacarídeos na parede celular, provocando a anulação dos efeitos das equinocandinas. Essa resposta contribui para o fenômeno conhecido como efeito paradoxal observado em *C. albicans*, capazes de crescer exponencialmente quando altas concentrações de equinocandinas são utilizadas, em razão de seu alto conteúdo de quitina (SANGUINETTI; POSTERARO; LASS-FLÖRL, 2015; LEE *et al.*, 2021).

A terapêutica adotada para pacientes diagnosticados com candidúria varia de acordo com o aparecimento de sintomas. Em pacientes assintomáticos, o ideal é repetir a cultura de urina para excluir contaminação, além de avaliar se o paciente possui algum fator de risco para piora da infecção. O tratamento antifúngico nesses casos é recomendado apenas se o paciente se enquadrar em situações de alto risco para o desenvolvimento de candidemia. Para o tratamento de ITUs sintomáticas causadas por *Candida* spp., o fármaco de escolha geralmente é o fluconazol, devido à alta biodisponibilidade oral, boa tolerância e excreção do fármaco na urina. Entretanto, o fluconazol está envolvido em algumas situações que podem restringir o seu uso clínico, como a possibilidade de interações medicamentosas com um grande número de fármacos, a hepatotoxicidade e a resistência por parte de algumas espécies de *Candida*, principalmente quando há formação de biofilmes. Outros azóis como o voriconazol e o itraconazol não são muito utilizados pois não são bem excretados como fármaco ativo na urina (PAPPAS *et al.*, 2016; ODABASI; MERT, 2020).

As equinocandinas não são recomendadas como tratamento de primeira linha em ITUs por *Candida* spp. pois apresentam baixas concentrações do fármaco inalterado na urina. Entretanto, atingem boas concentrações no parênquima renal e por isso sua maior utilização se dá em infecções complicadas (KAUFFMAN, 2014;

PAPPAS *et al.*, 2016). O fármaco de escolha para o tratamento das ITUs por *Candida* spp. resistentes ao fluconazol é a anfotericina B desoxicolato, pois apresenta maior excreção na urina em comparação com as formulações lipídicas. Contudo, seus efeitos adversos conhecidamente nocivos para alguns grupos de indivíduos podem prejudicar sua escolha como opção de tratamento. Nesses pacientes, o uso de irrigação do fármaco no local de ação por meio de um cateter urinário pode ser uma alternativa no tratamento de linhagens resistentes, efeitos adversos importantes ou intolerância ao fármaco (KAUFFMAN, 2014; PAPPAS *et al.*, 2016).

O desenvolvimento de novas opções terapêuticas é uma grande demanda no contexto das doenças fúngicas, assim como a necessidade de prever e prevenir a evolução da resistência aos atuais antifúngicos comercializados (OSTROSKY-ZEICHNER *et al.*, 2010). Novos agentes antifúngicos vem sendo desenvolvidos nos últimos anos, alguns ainda em fase de pesquisa clínica e outros já aprovados para comercialização. O “Food and Drug Administration” (FDA) aprovou em junho de 2021 o ibrexafungerp, um antifúngico triterpenóide utilizado para tratamento da candidíase vulvovaginal. O oteseconazol também foi aprovado com a mesma finalidade em abril de 2022, e é o primeiro tetrazol com maior afinidade pelo CYP51 fúngico, possuindo maior eficácia e menos efeitos colaterais comparado aos outros azóis. Em março de 2023 foi aprovada a rezafungina, uma equinocandina similar estruturalmente às outras comercializadas, porém com características farmacocinéticas e de estabilidade que permitem sua administração intravenosa apenas uma vez por semana (MCCARTY; PAPPAS, 2021; THOMPSON III *et al.*, 2024).

Já se sabe que a terapia antimicrobiana impacta a população microbiológica e contribui para a emergência de espécies de patógenos, incluindo a *Candida* sp. como fonte de colonização ou infecção. Portanto, a compreensão dos aspectos epidemiológicos da candidúria pode promover um melhor entendimento sobre a população fúngica presente em indivíduos hospitalizados, fornecendo informações sobre o perfil de susceptibilidade aos atuais antifúngicos disponibilizados na rotina hospitalar.

2.6 COMPOSTOS DE ORIGEM NATURAL COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

O grande desenvolvimento de resistência por parte das linhagens fúngicas e o advento de novas espécies com resistência intrínseca identificadas em unidades hospitalares reforça a necessidade de encontrar opções para o tratamento das principais doenças fúngicas. Compostos naturais oferecem uma alternativa frente à demanda de se obter novos compostos com atividade antifúngica (FABRI *et al.*, 2021; HARLEY *et al.*, 2022).

Diversos compostos bioativos com atividades antifúngicas foram caracterizados e isolados de extratos vegetais. No trabalho de Martins *et al.* (2015), o extrato aquoso de *Salvia officinalis* apresentou atividade antifúngica na maioria de linhagens de *Candida* spp. testadas, possivelmente relacionada à alta concentração de compostos fenólicos e flavonóides no extrato, incluindo ácido rosmarínico e luteolina-7-O-glucoronídeo. Outras espécies com importante atividade antifúngica descritas são *Rosmarinus officinalis*, *Arrabidaea chica* e *Mentha piperita*, com concentrações inibitórias mínimas variando entre 60 a 1 µg/mL (HÖFLING *et al.*, 2010).

Promover a aplicação de antifúngicos naturais derivados de plantas como uma possível abordagem para o tratamento de candidúria recorrente e prevenção de infecções já está sendo foco de estudo de alguns trabalhos, porém com maiores informações restritas à *C. albicans*. Alshami e Alharbi (2014) testaram a atividade *in vitro* do extrato de cálices de *Hibiscus sabdariffa* contra linhagens clínicas de *C. albicans* resistentes a fluconazol, isoladas de pacientes com candidúria recorrente; além dos efeitos do extrato na formação de biofilmes por *C. albicans* uropatogênica. Os autores verificaram que o extrato inibiu significativamente o crescimento fúngico (atividade fungistática), prevenindo a formação *in vitro* de biofilme. O extrato de *H. sabdariffa* é conhecidamente possuidor de alta concentração de compostos fenólicos, incluindo flavonóides e cianidinas, possivelmente responsáveis pelas atividades encontradas.

Outros estudos também mostraram a aplicação de compostos fenólicos, como as proantocianidinas encontradas em extrato de cranberry, para prevenção de ITUs. Os resultados encontrados foram a inibição da aderência celular, reduzindo a formação de biofilmes urinários de *C. albicans* em dispositivos de poliestireno ou

silicone (FELDMAN *et al.*, 2012; SUNDARARAJAN *et al.*, 2018).

Um medicamento novo derivado de plantas denominado Itxasol® foi autorizado recentemente na Espanha para o tratamento adjuvante de ITUs. É composto por β - arbutin, umbeliferona e N-acetil l-cisteína, que agem reduzindo a inflamação, a formação de biofilmes e o número de microrganismos viáveis no trato urinário. O arbutin é um glicosídeo derivado das folhas de *Arctostaphylos uva-ursi*, que depois de metabolizado *in vivo*, é transformado em glicose e hidroquinona, esta última responsável pelas atividades antimicrobiana e de redução da inflamação renal. A umbeliferona é uma cumarina extraída de uma série de frutas e plantas, com atividades antitumoral, antioxidante, anti-inflamatória e protetora renal. A N-acetil l-cisteína é um precursor da glutathione, capaz de reduzir os níveis de espécies reativas de oxigênio, com capacidade de destruir ou reduzir a formação de biofilmes bacterianos ou fúngicos. Todos esses componentes se mostraram eficazes contra *C. albicans*, com a premissa da possibilidade da sua utilização por um período maior de tempo, sem gerar resistência microbiana (CELA-LÓPEZ *et al.*, 2021).

2.6.1 Espécies vegetais com potencial atividade antifúngica

Dentro do conjunto de espécies vegetais conhecidas por apresentarem atividades antimicrobianas, algumas espécies foram selecionadas para serem abordadas nesse trabalho, entre elas: *Amaranthus viridis*, *Stachys lanata*, *Pothomorphe umbellata*, *Renealmia petasites* e *Glycyrrhiza inflata*.

Amaranthus viridis L. (Amaranthaceae), conhecida como “caruru”, é uma planta cultivada em diferentes localidades ao redor do mundo e com diversos usos terapêuticos, entre eles: anti-inflamatório, antiulceroso, antiasmático, antilipêmico, analgésico, antipirético, diurético e para o tratamento de doenças reumáticas e diabetes mellitus. É considerada uma planta alimentícia não convencional (PANC) popularmente utilizada em saladas e como incremento em cozidos. Em sua análise fitoquímica foram encontrados diversos metabólitos secundários, entre eles flavonóides e compostos fenólicos em maior quantidade, seguido de alcalóides, esteróides, aminoácidos e proteínas. Alguns dos componentes fenólicos mais encontrados e com propriedades antioxidantes são o ácido gulônico, kaempferol e ácido clorogênico (KUMAR; LAKSHMAN; KN, 2011; DEVI; 2018; KRISHNA *et al.*, 2023).

Um dos componentes bioativos da *A. viridis*, o kaempferol (flavonóide), assim como o extrato metanólico da planta inteira, mostrou uma importante atividade profilática contra cardiotoxicidade, lipotoxicidade, estresse oxidativo e disfunção cardíaca induzida em ratos (KRISHNA *et al.*, 2023). Em relação à outro componente ativo, uma lectina isolada das sementes de *A. viridis*, foi observada uma ação efetiva desta contra dois fungos fitopatogênicos (*Botrytis cinerea* e *Fusarium oxysporum*) no estudo de Kaur *et al.* (2006); além de apresentar atividade antiproliferativa de tumores em um modelo murino proposto no mesmo estudo.

Conhecida popularmente como “peixinho da horta”, a *Stachys byzantina* K. Koch (sin. *Stachys lanata* Jacq.), pertencente a família Lamiaceae, é uma PANC distribuída em países tropicais e subtropicais. O gênero *Stachys* também é conhecido pelo uso como planta medicinal por suas propriedades antiinflamatória, antinociceptiva, ansiolítica e antimicrobiana, além do tratamento da tosse, dores de garganta, infecções de pele, problemas digestivos, distúrbios respiratórios, tumores e doenças renais. Estudos fitoquímicos detectaram a presença de glicosídeos feniletanóides, terpenóides, esteróides, diterpenos, saponinas e flavonóides, que conferem importantes atividades antioxidantes para o gênero (SAEEDI *et al.*, 2008; EBRAHIMABADI *et al.*, 2010; AMINFAR; ABTAHI; PARASTAR, 2019).

Extratos metanólicos de partes aéreas e flores de algumas espécies de *Stachys*, entre elas a *S. byzantina*, apresentaram atividade antibacteriana, principalmente contra cocos gram-positivos (*Staphylococcus aureus* PTCC 1112), porém não apresentaram atividade antifúngica contra *C. albicans* PTCC 5027 (SAEEDI *et al.*, 2008). Já o óleo essencial de *S. byzantina*, apresentou boa atividade contra *C. albicans* ATCC 10231, com concentração inibitória mínima (CIM) encontrada de 250 µg/mL (DUARTE *et al.*, 2005).

Pothomorphe umbellata, também nomeada *Piper umbellatum* L., *Lepianthes umbellata* L. Raf. e *Peperomia umbellata* L. Kunth, é popularmente conhecida no Brasil como “caapeba” ou “pariparoba”, e é frequentemente usada na medicina popular como tratamento para diarreia, queimaduras, distúrbios hepáticos, febre, inflamação e reumatismo. Alguns estudos demonstram a presença de amidas, flavonóides, terpenos e alcalóides como constituintes fitoquímicos dessa espécie; com ênfase especial no 4-nerolidilcatecol, um dos principais constituintes bioativos encontrados na *P. umbellata*, com efeitos já descritos antitumorais, antimaláricos e antihelmínticos (ROERSCH, 2010; COSTA *et al.*, 2023; GUIMARÃES *et al.*, 2023).

Outra propriedade desta planta muito descrita na literatura é sua atividade antioxidante (ROERSCH, 2010; FERNANDES *et al.*, 2013). O extrato etanólico de folhas de *P. umbellata* apresentou a melhor atividade antioxidante, quando comparado às extrações água-metanol, cloreto de metileno, acetato de etila, 4-nerolidilcatecol isolado e algumas frações de esteróis. Os autores atribuíram esse resultado à maior presença de compostos polares no extrato etanólico, o que aumentaria a solubilidade e estabilidade de outros constituintes ativos. Estes compostos podem agir sinergicamente com o 4-nerolidilcatecol, melhorando seus parâmetros farmacocinéticos e aumentando significativamente sua atividade antioxidante (LOPES *et al.*, 2013).

Isobe, Ohsaki e Nagata (2002) isolaram 4 compostos das partes aéreas de *P. umbellata*: N-benzoilmescalina, wogonina, uvangoletina e β -sitosterol. O principal componente, a N-benzoilmescalina, mostrou atividade antibacteriana quando testada em linhagens de *Helicobacter pylori* NCTC 11637, com CIM de 2,5 $\mu\text{g/mL}$.

A espécie *Renealmia petasites* Gagnep (Zingiberaceae), é popularmente conhecida no Brasil como “pacova” ou “bananeira do mato”, muito cultivada na região sul e sudeste do país. Seu uso na medicina popular envolve o alívio da dor e redução da inflamação (NEGRELLE, 2015).

Um estudo *in vitro* utilizando o extrato hidroalcoólico de rizomas, caules e folhas de *R. petasites* demonstrou a potente atividade antioxidante da planta; além da inibição da produção de mediadores inflamatórios, como o óxido nítrico, ânion superóxido, fator de necrose tumoral α (TNF- α) e interleucina 6 (IL-6). Estas atividades encontradas foram associadas ao conteúdo de compostos polifenólicos presentes na espécie, como flavonóides e diarilheptanóides (SOARES *et al.*, 2021). Diarilheptanóides são substâncias que possuem uma gama de propriedades biológicas distintas, incluindo atividade antioxidante, antiinflamatória, antitumoral, neuro-protetora, estrogênica, antitripanossômica, antiviral e leishmanicida (ALBERTI; RIETHMÜLLER; BÉNI, 2018).

Atividades antifúngicas já foram descritas para o gênero *Renealmia*. Rangel (2010) identificou atividade sobre *C. krusei* LMGO 174 (CIM de 31,5 $\mu\text{g/mL}$), *C. parapsilosis* ATCC 22019 e *C. glabrata* LMGO 44 (CIM em ambas de 125 $\mu\text{g/mL}$), assim como para *Cryptococcus neoformans* (CIM de 7,81 $\mu\text{g/mL}$), quando testado o extrato diclorometânico do rizoma de *Renealmia alpinia*. Já Silva (2008) evidenciou 100% de inibição do desenvolvimento de *Trichophyton rubrum* com a

utilização do extrato hexânico de folhas de *R. alpinia*.

Alcaçuz é a raiz de plantas do gênero *Glycyrrhiza* (Fabaceae). Seu uso como medicamento em regiões da Europa e Ásia é datado de milhares de anos atrás, eficaz no tratamento da asma, tosse, doenças hepáticas e intoxicações alimentares e medicamentosas. Algumas de suas espécies mais comuns, *Glycyrrhiza inflata* Bat., *Glycyrrhiza glabra* L., e *Glycyrrhiza uralensis* Fisch são muito usadas na indústria alimentícia e farmacêutica, em razão de seu sabor doce. A maioria de seus constituintes são triterpenóides e flavonóides, com diferentes predomínios entre as espécies: *G. glabra* e *G. uralensis* possuem um perfil rico em isoflavonas preniladas, enquanto a *G. inflata* possui um predomínio de retrochalconas, um grupo de flavonóides precursores de vários compostos heterocíclicos. Outro metabólito muito conhecido entre as espécies, a glicirrizina, é uma saponina triterpenóide e é a grande responsável pelo sabor “adocicado” conferido aos produtos contendo derivados da planta (YANG *et al.*, 2017; ALI *et al.*, 2022; VAN DINTEREN *et al.*, 2022).

Investigações fitoquímicas dos extratos de raízes de alcaçuz revelaram que os flavonóides e chalconas são os compostos mais importantes relacionados com suas atividades antimicrobianas. Um estudo prévio com compostos isolados de raízes de alcaçuz, obtiveram uma CIM de 16 µg/mL para glabridina (composto mais encontrado em *G. glabra*), 26 µg/mL para licochalcona A (mais encontrado em *G. inflata*) e 16 µg/mL para glicicumarina (muito encontrado em *G. uralensis*), quando testadas em *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA) OM481 (HATANO *et al.*, 2000).

Há relatos na literatura sobre a atividade antifúngica da *G. glabra*, atribuída à presença de glabridina. Roque *et al.* (2018) encontrou que o extrato etanólico de raízes e galhos de *G. glabra* continha glabridina e foi o extrato que mais apresentou atividade contra *C. albicans* ATCC 10231 (atividade fungistática), atingindo uma CIM de 625 µg/mL. Já Fatima *et al.* (2009) obteve a glabridina isolada através do extrato bruto de raízes de *G. glabra*, na qual foi mais potente contra linhagens de *C. albicans* resistentes à anfotericina B (MTCC 1637). Além disso, os autores encontraram que o extrato etanólico de *G. glabra* foi também eficaz contra outras linhagens de *C. albicans* resistentes, além de alguns fungos filamentosos, como o *Nannizzia gypsea*, com CIM de 15,6 µg/mL. A atividade foi avaliada também para alguns isolados clínicos de leveduras patogênicas e foi encontrada CIM de 125

µg/mL para *C. albicans* (KGCAl01) e *C. krusei* (PGCk01).

As atividades biológicas de extratos de *G. inflata* foram menos abordadas na literatura, com informações mais encontradas a respeito de compostos isolados da planta. Zhou e Wan (2015), ao testarem 9 constituintes fenólicos e dihidroflavonas isolados de extratos etanólicos das partes aéreas de *G. inflata*, encontraram que apenas um dos compostos testados apresentou moderada atividade antibacteriana contra *S. aureus* ATCC 25923 (CIM de 50 µg/mL) e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 (CIM de 12,5 µg/mL). Em relação às suas propriedades antiparasitárias, o extrato bruto de *G. inflata* foi capaz de matar 100% de vermes adultos de *Schistosoma mansoni*. Já a licoflavona B, isolada do extrato, exibiu a melhor atividade esquistossomicida, quando testada em conjunto com outros compostos isolados de *G. inflata* contra vermes adultos (CARVALHO *et al.*, 2015).

Podemos observar dessa forma, que as plantas brasileiras representam uma importante fonte de novas substâncias com potencial atividade antimicrobiana, seja pelo seu uso na medicina popular ou pela variedade de substâncias químicas presentes nessas plantas. O estudo de espécies vegetais pode ser de grande importância para a descoberta de novas atividades e para a potencial aplicação no tratamento de doenças infecciosas.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o perfil epidemiológico e de susceptibilidade a agentes antifúngicos comerciais e a novos compostos de origem vegetal de leveduras do gênero *Candida*, isoladas em urina de pacientes internados com candidúria em um Hospital Universitário da Zona da Mata Mineira.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os aspectos epidemiológicos e de associação entre fatores clínicos e decorrentes da internação de pacientes com candidúria;
- Identificar através da técnica molecular de MALDI-TOF MS leveduras isoladas de indivíduos com candidúria no período de março de 2021 a janeiro de 2023, comparando os resultados com a identificação prévia realizada na rotina do Hospital Universitário;
- Realizar a triagem das amostras suspeitas de identificação como *C. auris* a partir do procedimento estabelecido pelo comunicado de Risco n° 01/2017 da ANVISA;
- Avaliar o perfil de susceptibilidade aos principais antifúngicos comercializados em amostras de leveduras isoladas de indivíduos com candidúria no período de março de 2021 a janeiro de 2023, e correlacionar a utilização de fármacos antifúngicos com o perfil de susceptibilidade das amostras;
- Avaliar o potencial antifúngico dos extratos de *Stachys lanata*, *Glycyrrhiza inflata*, *Pothomorphe umbellata*, *Renealmia petasites* e *Amaranthus viridis* em amostras de *Candida* sp. resistentes a um ou mais antifúngicos testados.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

O estudo das amostras coletadas de pacientes com candidúria é caracterizado como um estudo transversal, retrospectivo, observacional e descritivo. Foram selecionadas amostras de fungos isoladas de urinas de pacientes internados, obtidas de coleções do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (HU-UFJF/EBSERH), no período de março de 2021 a janeiro de 2023.

O HU-UFJF é uma instituição financiada pelo Sistema Único de Saúde (SUS) e sem fins lucrativos, gerido pela Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (EBSERH). É composto por 131 leitos de internação, os quais são distribuídos nos seguintes setores: Cirurgia do Homem (CH), Cirurgia da Mulher (CM), Medicina do Homem (MH), Medicina da Mulher (MM), Nefrologia (NEFRO), Ginecologia (GN), Pediatria (PED), Centro de Terapia Intensiva (CTI) e Transplante de Medula Óssea (TMO).

O critério de inclusão foi a presença de uma amostra de urina positiva para *Candida* sp., com contagem superior a 10^4 UFC/mL (ALVAREZ-LERMA *et al.*, 2003; PADAWER *et al.*, 2015; ODABASI; MERT, 2020). Amostras provenientes de ambulatórios ou indivíduos não internados foram excluídas do estudo, assim como as que não foi possível sua recuperação.

As amostras foram coletadas no período em questão, em pacientes de ambos os sexos, internados em enfermarias, clínicas cirúrgicas ou CTI. Foram coletados dados secundários do prontuário médico eletrônico dos pacientes como: idade, sexo, desfecho, tempo total de internação, tempo a partir da internação até o isolamento de *Candida* sp. em amostras de urina, utilização de cateter venoso, arterial ou vesical de demora, nutrição parenteral, submissão a procedimentos invasivos ou cirurgia, infecção associada, neutropenia, doenças de base/crônicas, utilização de drogas antimicrobianas e motivo da internação.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, sob o parecer do comitê CAAE número 12659619.5.0000.5147. Foi solicitado o Termo de Dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, uma vez que se trata de um estudo

retrospectivo, em que não serão necessárias coletas de novas amostras e dados dos pacientes.

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.

4.2 COLETA E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS

As amostras foram previamente identificadas através de métodos fenotípicos manuais utilizados na rotina de identificação microbiológica do laboratório. Para identificação de leveduras, os testes selecionados foram: repique das colônias em ágar cromogênico CHROMagar® *Candida* (Sigma-Aldrich, EUA), prova do tubo germinativo, prova da urease, microcultivo em ágar fubá e auxanograma/assimilação de carboidratos (PADAWER *et al.*, 2015; ODABASI; MERT, 2020).

No momento da realização dos testes fenotípicos para a identificação das espécies, foi também realizada a triagem de potenciais amostras de *C. auris*. As amostras que poderiam ser enquadradas como suspeitas de acordo com a Nota Técnica GVIMS/GGTES/ANVISA N° 02/2022 seriam aquelas que apresentassem as seguintes características: CHROMagar® *Candida* na coloração lilás, rosa claro ou creme, tubo germinativo e urease negativos, crescimento a 42°, ausência de cápsula e de pigmentos carotenóides em ágar Sabouraud e ausência de hifas ou pseudohifas em ágar fubá. Se esses critérios fossem preenchidos, a orientação da ANVISA é encaminhar os isolados para o laboratório de referência do estado (LACEN) para a realização de MALDI-TOF MS ou sequenciamento genético (ANVISA, 2022).

Após a separação das amostras incluídas no estudo, foi realizado o repique das mesmas para o meio de cultura Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) (Kasvi, São José dos Pinhais, Brasil). As amostras que não apresentaram crescimento foram inoculadas no meio de cultura líquido Infusão de Cérebro-Coração (BHI) (Kasvi, São José dos Pinhais, Brasil). para recuperação. Após a recuperação das amostras fúngicas, uma alíquota foi armazenada em meio *Skim Milk* acrescido de glicerol 20% e transportadas para o Centro de Estudos em Microbiologia (CEMIC) da

Universidade Federal de Juiz de Fora para congelamento a -20°C até a data de envio para identificação por MALDI-TOF MS. Uma segunda alíquota foi mantida também congelada para a realização dos ensaios de susceptibilidade a antifúngicos e a novos compostos de origem natural.

4.3 IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISES DE DADOS POR MALDI-TOF MS

As amostras de leveduras foram utilizadas para confirmação da identificação por MALDI-TOF MS, em colaboração com pesquisadores do Instituto Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

As amostras foram subcultivadas em meio de cultura ASD à $35,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$ em aerobiose por 48 horas, com a finalidade de se obter culturas novas. A extração de proteínas foi realizada utilizando ácido fórmico (AF)/etanol (EtOH), de acordo com o protocolo *Bruker Daltonics GmbH*. 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 de bactéria e levedura de referência (*Bruker Daltonics*) foi utilizado como controle positivo. Linhagens de referência de *Candida albicans* (INCQS 40175) e *Candida krusei* (INCQS 40147) foram utilizadas como controle positivo para leveduras. Após secagem, todos os poços foram cobertos com a solução matriz α -ciano-4-hidroxicinâmico (HCCA) preparada de acordo com o protocolo do fabricante. As linhagens padrão e os fungos isolados foram então identificados 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, os quais foram comparados com os principais dados dos espectros de massa de referência selecionados a partir do banco de dados *Bruker Daltonics* (BDAL) e a biblioteca CBS-KNAW.

Em seguida, 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) e identificação não confiável - NRI ($< 1,7$). Neste estudo foram considerados confiáveis os resultados obtidos com valores de *log* acima de 1,7; valor definido como adequado para a identificação de leveduras, uma vez que valores acima desse ponto de corte não levaram a um aumento na taxa de

identificações errôneas (PINTO *et al.*, 2011; NORMAND *et al.*, 2020).

Os espectros de massa obtidos para identificação durante as medições foram visualizados por *Bruker Flex Analysis software* versão 3.3.75.0 e investigado por *ClinProTools* versão 3.0 do *software BrukerDaltonics*. Para as amostras em que nenhum pico foi encontrado, uma etapa adicional de extração proteica com ácido fórmico e etanol foi realizada, de forma a otimizar o processo de extração e a geração de melhores pontuações espectrais.

4.4 TESTES DE SUSCEPTIBILIDADE AOS AGENTES ANTIFÚNGICOS

As amostras isoladas de leveduras do gênero *Candida* foram submetidas à testes de susceptibilidade aos seguintes antifúngicos disponibilizados comercialmente: anfotericina B 20 µg, fluconazol 25 µg, itraconazol 8µg, voriconazol 1µg, caspofungina 5µg e nistatina 100UI, todos da marca Liofilchem® (Itália). O método realizado foi o disco-difusão, de acordo com os protocolos do *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI) documento M44 (2018). Todos os testes foram realizados em duplicata juntamente com linhagens padrão de *C. parapsilosis* ATCC® 22019 e *C. tropicalis* ATCC® 750, segundo interpretação do CLSI, documento M60 (2020).

As leveduras armazenadas foram recuperadas através de repique em ASD e incubação em estufa em aerobiose a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas. A partir do crescimento, foram feitas suspensões em solução salina estéril a 0,9%, com turvação correspondendo à escala 0,5 de *McFarland* (1×10^6 a 5×10^6 células/mL), ajustando a densidade celular através de leitura em espectrofotômetro (Kasvi, São José dos Pinhais, Brasil) a 530 nm. As suspensões foram então semeadas com o auxílio de *swabs* esterilizados em ágar *Mueller Hinton* (Difco, EUA) suplementado com 2% de glicose e 0,5 µg/mL de azul de metileno (pH 7,2 a 7,4).

Discos de papel impregnados com os antifúngicos citados foram aplicados sobre a superfície dos meios de cultura inoculados com a suspensão de leveduras. As placas foram então incubadas em estufa bacteriológica (Pro-lab, São Paulo, Brasil), em aerobiose a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas. Após o período de incubação, os halos de inibição do crescimento foram medidos e os resultados interpretados como linhagem resistente (R), intermediária (I) ou sensível (S), de acordo com o documento M60 do CLSI (2020). Para a leitura dos halos de inibição não

padronizados pelo CLSI, a consulta foi realizada a partir das informações contidas na bula do fabricante ou a partir de dados fornecidos na literatura científica. Leituras onde não houve presença de halo foram consideradas linhagens resistentes (ESPINEL-INGROFF, 2007; ARENDRUP, 2001, 2013).

4.5 TESTES DE SUSCEPTIBILIDADE A NOVOS COMPOSTOS DE ORIGEM NATURAL

Para a realização do teste de susceptibilidade a compostos vegetais, foi utilizada a técnica de microdiluição em caldo, de acordo com o protocolo do CLSI M27 (2017), de forma a determinar a concentração inibitória mínima (CIM) do extrato vegetal capaz de inibir o crescimento fúngico.

Os extratos utilizados das 5 espécies vegetais - *Amaranthus viridis*, *Stachys lanata*, *Glycyrrhiza inflata*, *Pothomorphe umbellata* e *Renealmia petasites* (Tabela 2) foram testados nas seguintes concentrações: 1000 µg/mL; 500 µg/mL; 250 µg/mL; 125 µg/mL; 62,5 µg/mL; 31,25 µg/mL; 15,63 µg/mL e 7,81 µg/mL. As soluções estoques dos extratos foram preparadas utilizando como solvente uma solução de dimetilsulfóxido (DMSO) (Sigma-Aldrich, EUA) 10% em água destilada ou DMSO + Tween 80 (Sigma-Aldrich, EUA) 10% em água destilada (apenas na preparação da solução de *S. lanata*).

Tabela 2 – Características dos extratos utilizados nas análises de teste de susceptibilidade a compostos naturais

ESPÉCIE VEGETAL	PARTE DA PLANTA UTILIZADA	TIPO DE EXTRATO
<i>Renealmia petasites</i>	Raízes	Extrato hidroalcoólico
<i>Pothomorphe umbellata</i>	Raízes	Extrato hidroalcoólico
<i>Glycyrrhiza inflata</i>	Raízes	Extrato seco
<i>Stachys lanata</i>	Folhas	Lavagem glandular
<i>Amaranthus viridis</i>	Raízes, caules, folhas e flores	Extrato hidroalcoólico

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

As leveduras armazenadas que apresentaram resistência a um ou mais antifúngicos testados foram recuperadas através de repique em ASD e incubação em

estufa em aerobiose a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas. A partir do crescimento, foram feitas suspensões em solução salina a 0,9%, com turvação correspondendo à escala 0,5 de *McFarland*.

Foram adicionados 200 μL de meio *Roswell Park Memorial Institute 1640* (RPMI 1640) (Sigma-Aldrich, EUA) e 160 μL das soluções estoque de amostras vegetais nos primeiros poços das microplacas esterilizadas, de onde se partiu as próximas diluições, de forma a obter concentrações de 1000 a 7,81 $\mu\text{g/mL}$ dos extratos. Nos demais poços foram adicionados 180 μL de meio RPMI 1640. Por fim, 20 μL de 10^6 UFC/mL (de acordo com os padrões de turbidez 0,5 *McFarland*) de suspensão fúngica padronizada preparada anteriormente foram inoculadas nas microplacas e o teste foi realizado em um volume final de 200 μL . Após a inoculação das leveduras as placas foram incubadas em aerobiose à temperatura de 35°C por 24 horas.

Todos os testes foram realizados simultaneamente utilizando como fármaco de referência a anfotericina B, em concentrações seriadas de 16 $\mu\text{g/mL}$ a 0,125 $\mu\text{g/mL}$, juntamente com linhagens padrão de *C. parapsilosis* ATCC® 22019 e *C. tropicalis* ATCC® 750, segundo interpretação do CLSI, documento M60 (2020). Além disso, foram preparados controle positivo ou de crescimento dos fungos (utilizando 180 μL do meio RPMI 1640 e 20 μL da suspensão de leveduras), controle de esterilidade do meio de cultura (apenas o meio RPMI), controle negativo (solução do extrato + meio RPMI) e controle do solvente (DMSO ou DMSO + Tween 80 + meio RPMI + suspensão de leveduras). A leitura da inibição do crescimento dos fungos foi realizada visualmente, através da comparação do crescimento nos controles com o observado em cada concentração do extrato. Os valores de CIM foram calculados como a menor diluição mostrando inibição completa da linhagem testada, visualizada pela ausência de turbidez nos poços. Os experimentos foram realizados em duplicata.

Para determinar a concentração fungicida mínima (CFM), uma amostra de cada poço que não apresentou crescimento visível de leveduras no ensaio CIM foi plaqueada em placas de Sabouraud recém-preparadas e posteriormente incubadas em aerobiose à $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas, para avaliar a viabilidade em meio sólido e a atividade fungicida de cada produto testado (SPENCER e SPENCER, 2004). A CFM foi expressa como a concentração do extrato que não apresentou qualquer crescimento no ágar.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram organizados em planilhas do Microsoft Excel 2013®, realizando o estudo descritivo dos dados e demonstrando a frequência absoluta e relativa. Para analisar a correlação entre o antifúngico testado, a expressão fenotípica de resistência e o desfecho óbito foram utilizadas a análise de variância por ANOVA, seguida pelo teste de comparação de Bonferroni. Para análise de significância e variância entre amostras independentes, a ferramenta utilizada foi o GraphPad Prism versão 8.0.1® (software GraphPad, San Diego, CA, EUA), com o valor de p considerado $\leq 0,05$. Por fim, para análise de concordância e comparação dos métodos utilizados na identificação dos isolados foi utilizado o coeficiente kappa.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

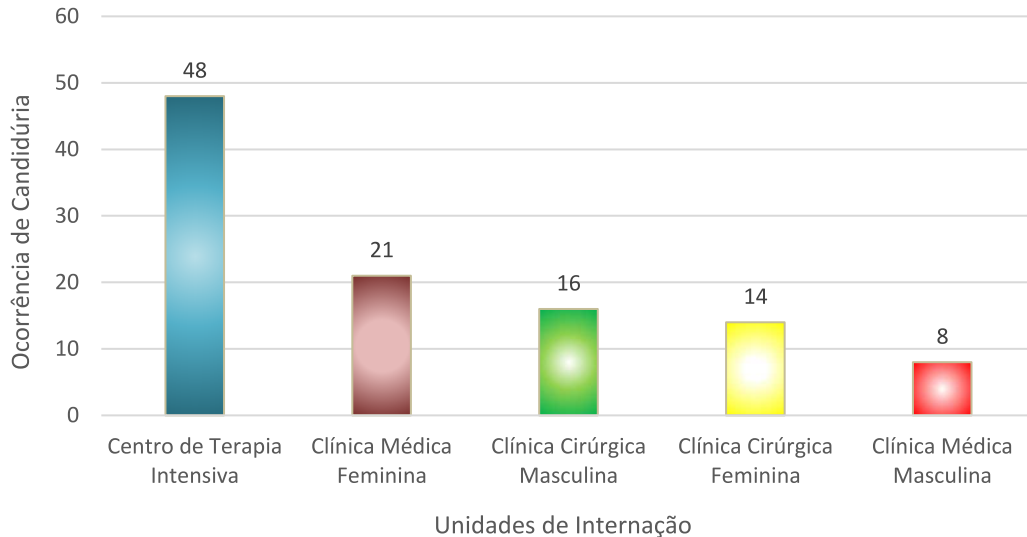
5.1 PERFIL CLÍNICO E PREVALÊNCIA DE ESPÉCIES FÚNGICAS

No período de estudo compreendido entre março de 2021 a janeiro de 2023, após a aplicação de critérios de inclusão e exclusão, foram coletadas 107 amostras de 75 pacientes diferentes. O número de pacientes foi menor que o número de amostras pois algumas amostras pertenciam ao mesmo paciente, porém coletadas em períodos diferentes.

A partir dessas análises, 25% (n=19) dos indivíduos pertenciam ao sexo masculino e 75% (n=56) ao sexo feminino. A idade variou de 21 a 95 anos, com uma média de 63,8 anos, a mediana 67 anos e desvio padrão igual a 16,6. Estratificando os indivíduos de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a maioria foi constituída por idosos (67%; n=50), seguidos de adultos (33%; n=25). Com relação aos indivíduos idosos, houve maior concentração na faixa etária entre 60 a 70 anos (32%; n=24).

Em relação às unidades de internação, a maioria das amostras de culturas de urina positivas para *Candida* sp. eram de pacientes que estavam no momento internados no CTI (44,9%; n=48). Os demais pacientes pertenciam à Clínica Médica Feminina (19,6%; n=21), Clínica Cirúrgica Masculina (14,9%; n=16), Clínica Cirúrgica Feminina (13,1%; n=14) e Clínica Médica Masculina (7,5%; n=8) (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Número de amostras positivas para *Candida* spp. isoladas de urina de pacientes, de acordo com unidades de internação



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

É importante ressaltar que todo o período de estudo aconteceu durante a pandemia de COVID-19 e por esse motivo alguns pacientes foram realocados em enfermarias diversas (com exceção do CTI), de acordo com a disponibilidade de leitos. Essa ação foi necessária devido ao rápido avanço de sinais e sintomas dos pacientes acometidos pela doença e à necessidade do cumprimento de protocolos adotados pelo hospital, com a finalidade de diminuir ou evitar a transmissão do vírus entre pacientes, profissionais de saúde e acompanhantes/familiares.

70 pacientes (93,3%) receberam algum tipo de intervenção invasiva, como o uso de cateter venoso ou arterial, intubação orotraqueal, traqueostomia ou cirurgia. Em relação à utilização de cateter vesical de demora, foi encontrado um alto número de indivíduos (90,6%; n=68). 29 pacientes (38,6%) tiveram óbito como desfecho clínico e 46 (61,3%) receberam alta após avaliação médica.

As principais causas de internações entre os indivíduos avaliados nesse estudo foram: infecção do trato urinário (19%; n=14), COVID-19 (19%; n=14), pneumonia (9%; n=7), procedimentos cirúrgicos diversos (8%; n=6), neoplasias (8%; n=6), insuficiência cardíaca descompensada (7%; n=5), síndromes colestáticas (7%; n=5), cirrose hepática (5%; n=4), crise convulsiva (4%; n=3) e insuficiência renal aguda (4%; n=3).

O tempo de internação variou de 3 a 192 dias, com uma média de 40 dias de permanência hospitalar. Quando avaliado o tempo de internação até o isolamento das leveduras em amostras de urina, verificou-se uma média de 12,8 dias de permanência hospitalar. Apenas quatro indivíduos foram classificados como hígidos e sem a presença de patologias ou condições crônicas pré-existentes no momento da internação. As condições pré-existentes mais comuns entre os pacientes internados foram: hipertensão arterial sistêmica (71%; n=53), diabetes mellitus (44%; n=33), obesidade (13%; n=10), hipotireoidismo (11%; n=8), insuficiência cardíaca congestiva (9%; n=7), tumores (8%; n=6), insuficiência renal crônica (7%; n=5), infecções do trato urinário de repetição (5%; n=4) e doença pulmonar obstrutiva crônica (5%; n=4).

Apenas dois (2,6%) indivíduos avaliados não foram submetidos a nenhum tratamento antimicrobiano. 73 (97,3%) dos 75 indivíduos avaliados receberam tratamento antibacteriano, com uma média de quatro antibacterianos por paciente durante o período de internação. Em relação aos antifúngicos, 31 (41,3%) pacientes receberam tratamento durante o período avaliado.

Os principais antifúngicos utilizados no manejo terapêutico dos indivíduos neste estudo foram: fluconazol (26,6%; n=20) e micafungina (6,6%; n=5), seguido de anfotericina B (5,3%; n=4), nistatina endovaginal e itraconazol (ambos 1,3%; n=1). Quatro pacientes fizeram uso de mais de um antifúngico, dois (2,6%) destes utilizaram fluconazol e micafungina e dois (2,6%) fluconazol e anfotericina B.

Os dados clínico-epidemiológicos apresentados podem ser verificados na Tabela 3.

Tabela 3 - Perfil clínico-epidemiológico de indivíduos com candidúria no período de março de 2021 a janeiro de 2023

	Parâmetros	Candidúria - n (%)	
Sexo	Feminino	56 (75)	
	Masculino	19 (25)	
Idade	21 - 40 anos	7 (9,3)	
	41 - 60 anos	18 (24)	
	> 60 anos	50 (66,7)	
Fatores de risco	Internação > 21 dias	52 (69,3)	
	Uso de catéter venoso/arterial	50 (66,7)	
	Uso de sonda vesical de demora	68 (90,7)	
	Ventilação mecânica invasiva	35 (46,7)	
	Procedimento cirúrgico	23 (30,7)	
	Bacteriúria	18 (24)	
	Neutropenia	1 (1,3)	
	Infecção por HIV	1 (1,3)	
	Nutrição parenteral	1 (1,3)	
	Diabéticos	33 (44)	
	Nefrolitíase	3 (4)	
	Transplante renal	1 (1,3)	
	Insuficiência renal	33 (44)	
	Uso de antimicrobianos	Antibacteriano isolado	44 (58,7)
		Antibacteriano + fluconazol isolado	16 (21,3)
Antibacteriano + itraconazol isolado		1 (1,3)	
Antibacteriano + anfotericina B isolada		2 (2,7)	
Antibacteriano + nistatina isolada		1 (1,3)	
Antibacteriano + micafungina isolada		3 (4)	
Antibacteriano + 2 antifúngicos		4 (5,3)	
Desfecho	Alta médica	46 (61,3)	
	Óbito	29 (38,7)	

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

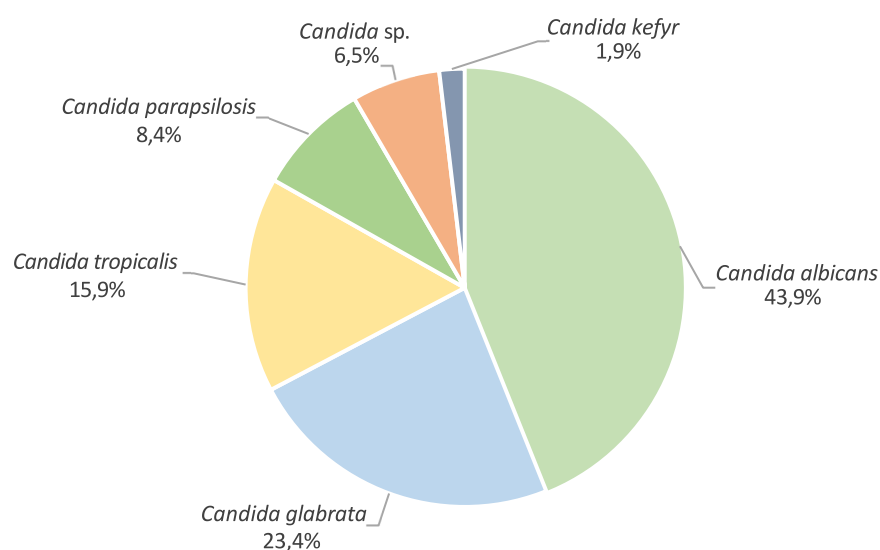
O desfecho óbito foi verificado em 29 indivíduos (38,7%), em sua maioria mulheres (75,9%; n=22), com média de 69 anos de idade e 43 dias de internação hospitalar. Todos os pacientes citados que foram à óbito utilizaram sonda vesical de demora. As causas mais prevalentes de óbito foram sepse (31%; n=9), COVID-19 (17,2%; n=5), insuficiência cardíaca congestiva (10,3%; n=3), neoplasias (10,3%; n=3) e disfunção orgânica (10,3%; n=3).

O total de indivíduos que foram internados devido ao diagnóstico de COVID-19 ou que desenvolveram a condição durante o período de internação foram 20

(26,7%). Sabe-se que a infecção por SARS-CoV-2 provoca danos importantes em tecidos, além de alterações metabólicas e imunológicas, o que predispõe infecções secundárias por outros microrganismos (HOENIG *et al.*, 2022). Singulani *et al.* (2023) encontrou o uso de corticosteróides e antibacterianos como fatores de risco associados à candidúria em pacientes com diagnóstico simultâneo de COVID-19. Além disso, os autores revelaram uma associação entre essa coinfeção com períodos mais longos de hospitalização e maior taxa de mortalidade dos pacientes avaliados.

O predomínio de espécies isoladas através da identificação pela rotina laboratorial do hospital foi de *C. albicans* (43,9%; n=47), seguida por *C. glabrata* (23,4%; n=25), *C. tropicalis* (15,9%; n=17), *C. parapsilosis* (8,4%; n=9) e *Candida kefyr* (1,9%; n=2). Alguns isolados foram identificados apenas a nível de gênero, no caso da *Candida sp.* (6,5%; n=7), pois não foi possível identificar a qual espécie estas linhagens pertenciam apenas por métodos fenotípicos tradicionais (Gráfico 2). Foi realizada a triagem de amostras suspeitas de *C. auris* no momento da identificação manual, porém nenhuma amostra preencheu os critérios para encaminhamento ao LACEN do estado.

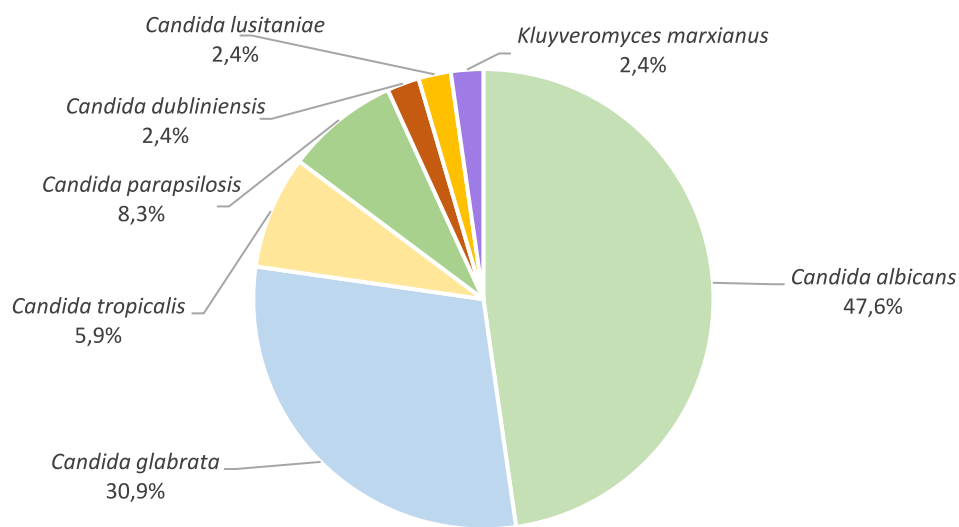
Gráfico 2 – Predomínio de espécies de *Candida* isoladas de urina através de metodologia fenotípica manual



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

84 amostras (81,5% do total de amostras recuperadas) foram identificadas por MALDI-TOF MS e as espécies mais prevalentes foram: *C. albicans* (47,6%; n=40), seguida por *C. glabrata* (30,9%; n=26), *C. parapsilosis* (8,3%; n=7), *C. tropicalis* (5,9%; n=5), *Kluyveromyces marxianus* (2,4%; n=2), *Clavispora lusitaniae* (2,4%; n=2) e *Candida dubliniensis* (2,4%; n=2) (Gráfico 3).

Gráfico 3 – Predomínio de espécies de *Candida* isoladas de urina através da identificação por MALDI-TOF MS



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

A candidúria é um achado comum em pacientes hospitalizados. Dentre várias condições que podem caracterizar esse achado, que vai desde a colonização do trato urinário por leveduras até a diagnóstico de ITUs ou de uma candidíase vulvovaginal, destacamos a importância da avaliação de outros fatores envolvidos na patogênese da infecção urinária, como a presença de fatores de risco e sinais e sintomas apresentados pelos pacientes acometidos.

Fatores de risco para candidúria e infecções do trato urinário são discutidos na literatura e incluem: pacientes do sexo feminino e em idade avançada, diabetes mellitus, internação em UTIs e/ou tempo prolongado de internação hospitalar, uso de antimicrobianos de amplo espectro e imunossupressores, neoplasias, disfunções do sistema urinário, nefrolitíase, transplante renal, cateterismo vesical de demora, bacteriúria e/ou bacteremia simultânea; dados apresentados pelos pacientes

avaliados em nosso estudo (ALVAREZ-LERMA *et al.*, 2003; ALFOUZAN; DHAR, 2017; GAJDÁCS *et al.*, 2019).

Algumas análises indicam que aproximadamente 90% dos pacientes com ITUs causadas por *Candida* são pacientes hospitalizados e que fazem uso de cateter vesical de demora. A prevalência de pacientes do sexo feminino (de 2 a 3 vezes maior que o sexo masculino) e de pacientes idosos, como encontrado no nosso estudo, também está de acordo com os achados na literatura (IACOVELLI *et al.*, 2014; GAJDÁCS *et al.*, 2019).

A colonização do trato urinário em pacientes do sexo feminino é facilitada principalmente em razão da anatomia do sistema genitourinário. Estudos anteriores mostram que aproximadamente 30% de mulheres saudáveis experienciam uma colonização vulvovaginal por *Candida* sp. Essa colonização pode favorecer a ascensão de células leveduriformes através da uretra até a bexiga e rins, podendo dar início à uma infecção urinária (ACHKAR; FRIES, 2010; LIMA *et al.*, 2017).

A maior parte dos indivíduos diagnosticados com candidúria em nosso estudo foram pacientes com mais de 60 anos. Destes, 98,6% dos pacientes relataram pelo menos um diagnóstico de patologia pré-existente ao momento de internação, fato que, associado à utilização de cateteres urinários, necessidade de internação em CTI e modificações naturais relacionadas ao sistema imunológico explica a maior prevalência no isolamento de leveduras nessa faixa etária, assim como relatado por outros autores (KAUFFMAN, 2014; LIMA *et al.*, 2017).

Similar a outros estudos, pacientes internados no CTI com candidúria foram os mais prevalentes. É sabido que a maior parte desses indivíduos são submetidos a procedimentos invasivos, como ventilação mecânica e implantação de cateteres arteriais, venosos e vesicais. Todas essas condições podem provocar alterações na microbiota do hospedeiro, devido à ruptura de barreiras anatômicas da pele e mucosas (FISHER *et al.*, 2011; HUANG *et al.*, 2013).

O uso prolongado do cateter vesical de demora é um grande fator associado ao isolamento de leveduras em amostras de urina. De acordo com a literatura, todos os cateteres urinários com longos períodos de uso se tornam colonizados, permitindo o acesso contínuo de microrganismos ao sistema urinário. Não conseguimos estimar o tempo médio de permanência do cateter em nosso estudo, mas encontramos uma alta taxa de utilização (90,7%) entre os pacientes incluídos (KAUFFMAN *et al.*, 2000; ALVAREZ-LERMA *et al.*, 2003; IACOVELLI *et al.*, 2014).

A presença de polimorfonucleares na urina pode ser um fator que auxilia no diagnóstico de ITUs, porém apenas em pacientes que não fazem uso do cateter vesical. A longa permanência do cateter pode causar inflamação no local e ser a causa da piúria encontrada. Além disso, cerca de 25 a 30% dos pacientes com candidúria também possuem bacteriúria, o que pode ser a principal causa de ITUs (KAUFFMAN, 2005; ALFOUZAN; DHAR, 2017). Gajdács *et al.* (2019) encontrou 8,3% de isolamento concomitante de bactérias e leveduras em amostras de urina, valor abaixo ao encontrado em nosso estudo.

Um estudo de coorte realizado no Brasil em 363 pacientes internados em um hospital de Minas Gerais entre 2012 a 2018, para investigar a ocorrência de ITUs em pacientes críticos, encontrou a prevalência de 30% de espécies de *Candida* em amostras de urina, com a espécie mais isolada sendo a *C. albicans* (57%). A candidúria foi mais comum em mulheres (68,6%), com idade média de 58,3 anos e que possuíam diabetes mellitus ou outra comorbidade mais agravante, como nefropatias ou choque séptico. 90,9% dos pacientes utilizavam sonda vesical de demora durante longos períodos. Foram encontradas a mesma espécie de *Candida* no sangue e urina em 4 pacientes (1,1%) e destes, 3 foram à obito (75%). Além disso, os autores detectaram que os pacientes que possuíam candidúria tiveram maiores taxas de mortalidade, sugerindo uma associação entre a candidúria e o desfecho óbito entre os pacientes analisados (ALMEIDA *et al.*, 2023).

Estudos demonstram que a maioria das *Candida* spp. isoladas de amostras de urina são *C. albicans* (50-68%), seguida por *C. glabrata* (10-38%) e *C. tropicalis* (4- 10%) (ACHKAR; FRIES, 2010; ALFOUZAN; DHAR, 2017; ODABASI; MERT, 2019). A *C. albicans* é considerada a espécie mais patogênica e é relacionada com a utilização de sonda vesical de demora. Os microrganismos que colonizam a região periuretral, na interface cateter mucosa, utilizam a superfície do cateter para ascender até a bexiga. Essa situação é significativamente mais descrita em indivíduos do sexo feminino, já que até 30% das mulheres podem apresentar *C. albicans* como parte persistente da microbiota vulvovaginal (COLOMBO; GUIMARÃES, 2007).

A incidência de outras espécies de *Candida* tem crescido rapidamente ao longo dos anos, com predomínio da *C. glabrata* em indivíduos adultos. Esse dado é preocupante, em função da *C. glabrata* ser a espécie associada com maiores taxas de mortalidade, comparada com outras espécies de *Candida* (SILVA *et al.*,

2012; ALFOUZAN; DHAR, 2017). A *C. tropicalis* é considerada a espécie mais associada geneticamente com a *C. albicans* e a terceira mais frequentemente isolada em amostras de sangue e urina (KAUFFMAN *et al.*, 2000; ALVAREZ-LERMA *et al.*, 2003). Além disso, essa espécie parece exibir um potencial de disseminação maior em pacientes neutropênicos (SILVA *et al.*, 2012). A *C. parapsilosis*, inicialmente considerada uma espécie de *Candida* não patogênica, nos últimos anos foi muito associada com candidúria em neonatos e pacientes hospitalizados devido à alta capacidade de formação de biofilmes. Além disso, é considerada hoje a segunda espécie mais isolada em amostras de hemocultura, fato associado com o uso prolongado de cateter venoso central (SILVA *et al.*, 2012).

Foi observado em nosso estudo que alguns pacientes (26,6%; n=20) apresentaram a mesma espécie de *Candida* em amostras diferentes de urina, enquanto outros pacientes apresentaram mais de uma espécie, isoladas na mesma amostra de urina (5,33%; n=4). Estudos moleculares demonstram que infecções recorrentes geralmente acontecem devido à não erradicação da mesma linhagem e que 5 a 8% dos pacientes com candidúria podem abrigar mais de uma espécie simultaneamente (KAUFFMAN *et al.*, 2000; ALFOUZAN; DHAR, 2017).

Ainda há uma falta de consenso por parte da comunidade médica sobre a necessidade do tratamento dos casos de candidúria. Na maioria dos casos, a presença de leveduras em amostras de urina é vista como sinal de colonização do trato geniturinário, devido a espécies de *Candida* serem consideradas parte da microbiota normal da região (ODABASI; MERT, 2019). Entretanto, em alguns casos, a candidúria pode preceder ou ser um marcador de candidemia, principalmente em se tratando de pacientes críticos, a qual pode estar associada com uma mortalidade de 30 a 40% dos pacientes acometidos (GAJDÁCS *et al.*, 2019). Em nosso estudo encontramos quatro pacientes diagnosticados com candidemia (5,3%), todos internados no CTI, e com 100% de correspondência das espécies encontradas na urina e sangue dos pacientes. Destes quatro pacientes, 3 (75%) foram à obito por causas diversas especificadas no prontuário.

Em um estudo multicêntrico realizado em 24 diferentes UTIs de hospitais franceses, 31,6% dos 57 pacientes com candidúria e 7,7% dos 233 pacientes com candidemia apresentaram diagnóstico simultâneo de candidúria e candidemia, mas em apenas 2,1% foi encontrado o mesmo microrganismo (BOUGNOUX *et al.*, 2007). Segundo alguns autores, a candidúria isolada não é considerada um fator de

risco para o desenvolvimento de candidemia. Entretanto, algumas características observadas foram definidas como fatores de risco durante a internação dos pacientes que apresentavam as duas condições simultaneamente, incluindo cirurgia prévia, insuficiência renal aguda e nutrição parenteral, condições relativamente comuns em pacientes críticos internados em centros de atenção terciária (ALVAREZ-LERMA *et al.*, 2003).

A alta incidência de candidúria em indivíduos internados em UTIs é um fato descrito por alguns autores. Vários fatores contribuem para maiores taxas de colonização e infecção microbiana nesses indivíduos, como múltiplas manipulações por diversos profissionais de saúde, barreiras de defesa naturais prejudicadas e microbiota alterada como resultado do uso prolongado de antimicrobianos (ALVAREZ-LERMA *et al.*, 2003). Odabasi e Mert (2019) encontraram uma incidência de candidúria de 22% em pacientes críticos internados em UTIs por mais de 7 dias. Nesse mesmo estudo, o índice de mortalidade desses pacientes foi significativamente maior (48,8%) do que nos indivíduos sem candidúria (36,6%). Essas informações reforçam a necessidade de validação dos dados de candidúria por parte do laboratório clínico, a avaliação do médico assistente quanto a presença de fatores de risco relevantes e a necessidade de tratamento empírico ou baseado em testes de susceptibilidade (GAJDÁCS *et al.*, 2019).

5.2 COMPARAÇÃO ENTRE IDENTIFICAÇÃO FENOTÍPICA E POR MALDI-TOF MS

A metodologia do MALDI-TOF MS tem sido usada para caracterizar uma ampla variedade de microrganismos, incluindo fungos, bactérias e vírus, o que possibilita sua aplicação em múltiplas áreas, incluindo a medicina diagnóstica. É considerada uma técnica de identificação microbiológica rápida, precisa e de baixo custo, fornecendo uma alternativa frente ao diagnóstico bioquímico e molecular baseado no material genético. A base de dados do software associado ao equipamento (Biotyper) contém espectros de referência de uma gama de isolados clínicos, incluindo diversas espécies de *Candida* (CROXATTO; PROD'HOM; GREUB, 2012).

Das 107 amostras armazenadas e identificadas pelo método fenotípico, 84 (78,5%) espécies de *Candida* foram identificadas por MALDI-TOF MS em amostras

coletadas entre os meses de março de 2021 a dezembro de 2022. Todos os resultados foram classificados como segurança de gênero e identificação de espécie, ou garantia de identificação de gênero. As espécies identificadas pelos dois métodos foram denominadas a seguir (Tabela 4).

Tabela 4 - Identificação de leveduras em amostras de urina (março/2021 a dezembro/2022)

ISOLADO	LEVEDURA IDENTIFICADA POR TESTES FENOTÍPICOS	LEVEDURA IDENTIFICADA POR MALDI-TOF MS	SCORE VALUE MALDI-TOF MS
1	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	1,83
3	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	2,05
4	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,812
5	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,714
7	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	1,733
9	<i>Candida kefir</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	1,758
10	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	2,02
11	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,869
12	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,803
13	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida glabrata</i>	2,3
14	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,82
15	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,949
16	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,853
17	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	1,98
18	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,85
19	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,85
20	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	1,879
21	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,94
22	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,8
23	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	2,1
24	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	1,882
26	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	1,784
27	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,81
28	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,789
29	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,75
30	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	1,961
31	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,963
32	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,942
33	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,793
34	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>	1,959
35	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,762
36	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,866
37	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,986
38	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	1,74
39	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	2,011
40	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,707
41	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	2,11
42	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	1,841
43	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	2,01
44	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	1,726
45	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>	1,91
47	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,853
48	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	2,079

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Tabela 4 (Continuação) - Identificação de leveduras em amostras de urina (março/2021 a dezembro/2022)

ISOLADO	LEVEDURA IDENTIFICADA POR TESTES FENOTÍPICOS	LEVEDURA IDENTIFICADA POR MALDI-TOF MS	SCORE VALUE MALDI-TOF MS
51	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,896
52	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,98
53	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,84
55	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,718
56	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	2
57	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	1,893
58	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	1,948
59	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	2,1
60	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	1,8
61	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	1,99
62	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1,775
63	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida dubliniensis</i>	1,71
65	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,962
67	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,841
68	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida glabrata</i>	1,84
69	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	1,901
70	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,734
71	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	2,03
72	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	1,931
74	<i>Candida sp.</i>	<i>Clavispora lusitaniae</i>	1,727
75	<i>Candida sp.</i>	<i>Clavispora lusitaniae</i>	1,98
78	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>	1,997
79	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>	2,169
80	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>	1,851
83	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,96
84	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	1,94
85	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	1,96
88	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida glabrata</i>	1,95
89	<i>Candida sp.</i>	<i>Candida albicans</i>	1,93
90	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,95
92	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	1,98
93	<i>Candida sp.</i>	<i>Candida glabrata</i>	2,27
94	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,89
95	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,86
96	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	2,15
97	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	1,99
101	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	1,93
103	<i>Candida sp.</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	1,93
104	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,73
105	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	1,78
106	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	1,82

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

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

Das espécies identificadas por MALDI-TOF MS, 5 (5,9% - marcação vermelha na Tabela 4) apresentaram divergências entre a identificação fenotípica manual e a identificação por MALDI-TOF MS. Em duas amostras a divergência se deu entre duas espécies semelhantes morfológicamente, que são a *C. albicans* e a *C. dubliniensis*. As duas espécies apresentam tubo germinativo positivo e possuem a mesma coloração de colônias (verde) quando semeadas em ágar cromogênico CHROMagar® *Candida*. A diferenciação pode ser possível através de testes de assimilação de carboidratos, já que essas leveduras podem apresentar diferentes habilidades em utilizar determinados carboidratos como fonte de energia; além da exposição à temperatura de 42°C, na qual *C. albicans* apresenta bom crescimento, enquanto *C. dubliniensis* não se desenvolve (SILVA *et al.*, 2012). A identificação neste caso foi possivelmente baseada na prova do tubo germinativo e em ágar cromogênico, um erro relativamente comum em laboratórios de Análises Clínicas. Para as outras 3 amostras não foi possível explicar qual etapa foi a responsável pela ocorrência de divergência entre as identificações fenotípicas e por MALDI-TOF MS.

15 amostras (14%) não foram identificadas pelo MALDI-TOF MS, com a observação “nenhum pico encontrado” fornecida pelo equipamento. A identificação fenotípica manual destas amostras revelou que houve predomínio de *C. tropicalis* (60%; n=9), seguida por *C. glabrata* (20%; n=3), *C. parapsilosis* (6,6%; n=1), *C. kefyr* (6,6%; n=1) e *C. albicans* (6,6%; n=1). Quatro amostras (3,7%) foram liberadas como “identificação não confiável”, portanto não incluídas na Tabela 4, identificadas manualmente como *C. tropicalis* (n=2) e *C. albicans* (n=2). Houve a perda de 4 amostras (3,7%), em que não foi possível sua recuperação.

Há falta de dados na literatura sobre a existência de uma maior dificuldade em identificar alguma espécie de *Candida* por MALDI-TOF MS. Observamos em nosso estudo que os valores maiores de pontuações log (*score value*) foram referentes à *C. glabrata* e a espécie com maior dificuldade de identificação foi a *C. tropicalis*. A *C. tropicalis* é uma espécie de *Candida* com genoma diploide, células de maior tamanho e produção de pseudohifas e, em alguns casos, hifas verdadeiras; diferentemente da *C. glabrata*, que é uma célula conhecidamente menor e haploide. Como a *C. tropicalis* possui uma variabilidade morfológica maior,

com características proteicas e estruturais que podem diferir entre indivíduos infectados ou colonizados, é possível que não sejam encontrados bancos de dados disponíveis correspondentes a algumas linhagens. Outra hipótese é a necessidade de uma preparação da amostra e extração proteica prolongada para obter espectros de maior qualidade para identificação destas amostras. Reforçamos que essas hipóteses devem ser melhor avaliadas em estudos futuros.

Bizzini *et al.* (2010) identificaram 1371 isolados bacterianos através de métodos convencionais; e destes, 1278 (93,2%) foram identificados por MALDI-TOF MS a nível de espécie, 73 (5,3%) foram identificados apenas à nível de gênero e 20 (1,5%) não tiveram identificação confiável fornecida pelo equipamento. Isto pode ser devido a um registro taxonômico impreciso de um determinado espectro na base de dados do MALDI-TOF MS, alterações recentes na taxonomia de uma determinada espécie ou até características inerentes à algumas linhagens microbianas.

De acordo com Croxatto, Prod'hom e Greub (2012), a ausência de identificação de espécies fúngicas pelo MALDI-TOF MS acontece por ausência, erros ou até espectros de referência incompletos na base de dados do software, semelhante ao que acontece com a identificação bacteriana. Alguns trabalhos obtiveram taxas maiores de recuperação (92,5 a 100%) quando o banco de dados do equipamento era complementado com dados internos da instituição ou em que o banco de referência foi construído especificamente para o propósito do estudo. Aqueles que não complementaram o banco de espectros disponíveis obtiveram taxas semelhantes às encontradas em nosso estudo (80 a 85%) (MARKLEIN *et al.*, 2009; PINTO *et al.*, 2011).

Em outro estudo em que foi avaliado diferentes técnicas de preparação de amostras para avaliar a efetividade da identificação de espécies fúngicas, foi encontrado que apenas 32 a 44% das amostras foram identificadas a nível de espécie quando utilizada a metodologia de aplicação direta da colônia para leitura no equipamento. O método utilizando ácido fórmico e etanol para o preparo da amostra foi o mais eficaz, permitindo uma identificação confiável (pontuação de 2,0) em 100% dos fungos isolados (ANISIMOVA *et al.*, 2022). De acordo com Normand *et al.* (2020), métodos mais complexos de extração proteica são necessários para melhorar a geração de espectros e diminuir a taxa de isolados não identificados.

Na identificação fenotípica manual de 5 espécies (5,9% - marcação azul na

Tabela 4), apenas a nomenclatura do gênero foi definida – *Candida* sp., em razão de discrepâncias verificadas entre os resultados dos diversos testes disponíveis na rotina do laboratório, não sendo possível identificar a espécie. Essa divergência ocorreu a nível de espécie entre as duas técnicas, porém não houve identificação contrária em nível de gênero. As espécies foram determinadas através do MALDI-TOF MS, sendo identificadas como *C. albicans* (1 amostra), *C. glabrata* (1 amostra), *Clavispora lusitaniae* (2 amostras) e *Kluyveromyces marxianus* (1 amostra).

O gênero *Candida* pode abrigar espécies com diferentes ciclos reprodutivos - sexuados ou assexuados. A *Candida lusitaniae* é um exemplo de espécie que possui os dois ciclos, e sua forma teleomorfa, *Clavispora lusitaniae*, foi a forma identificada em nosso estudo por meio do MALDI-TOF MS. É caracterizada como uma levedura haploide oportunista, causadora de infecções sanguíneas, peritoneais e urinárias em sua maior totalidade, principalmente em indivíduos imunossuprimidos ou com comorbidades conhecidas. A dificuldade na identificação fenotípica de *C. lusitaniae* já é conhecida, suas células leveduriformes são descritas como alongadas e morfologicamente semelhantes à *C. tropicalis*, além de assimilarem poucos açúcares que poderiam auxiliar na diferenciação de outras espécies semelhantes, como a *Candida famata* e a *C. guilliermondii* (MENDOZA-REYES; GÓMEZ-GAVIRIA; MORA-MONTE, 2022).

Kluyveromyces marxianus foi outra levedura isolada de nossas amostras e é a forma teleomorfa da *C. kefir*, anteriormente denominada *Candida pseudotropicalis*. É uma levedura que pode ser isolada de diversas fontes naturais, como por exemplo produtos lácteos fermentados, grãos de kefir e algumas plantas. É considerada um patógeno raro, mais comum de causar infecção em pacientes com neoplasias hematológicas. Estudos relacionando seu isolamento como causa de ITUs ainda são escassos (relatos encontrados mostram uma taxa de isolamento de cerca de 2,5 a 3,5% em amostras de urina), sendo mais descritos os casos relacionados à candidemia (MISHRA *et al.*, 2014; SETH-SMITH *et al.*, 2020; SPILIOPOULOU *et al.*, 2022).

Semelhante aos dados encontrados pelo nosso estudo até o momento, vários autores indicam uma relação de 90-100% de concordância entre os resultados apresentados pelo MALDI-TOF MS e outras técnicas previamente validadas, o que consolida esse tipo de espectrometria de massas como um método de referência para o diagnóstico microbiológico (OVIAÑO; RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ,

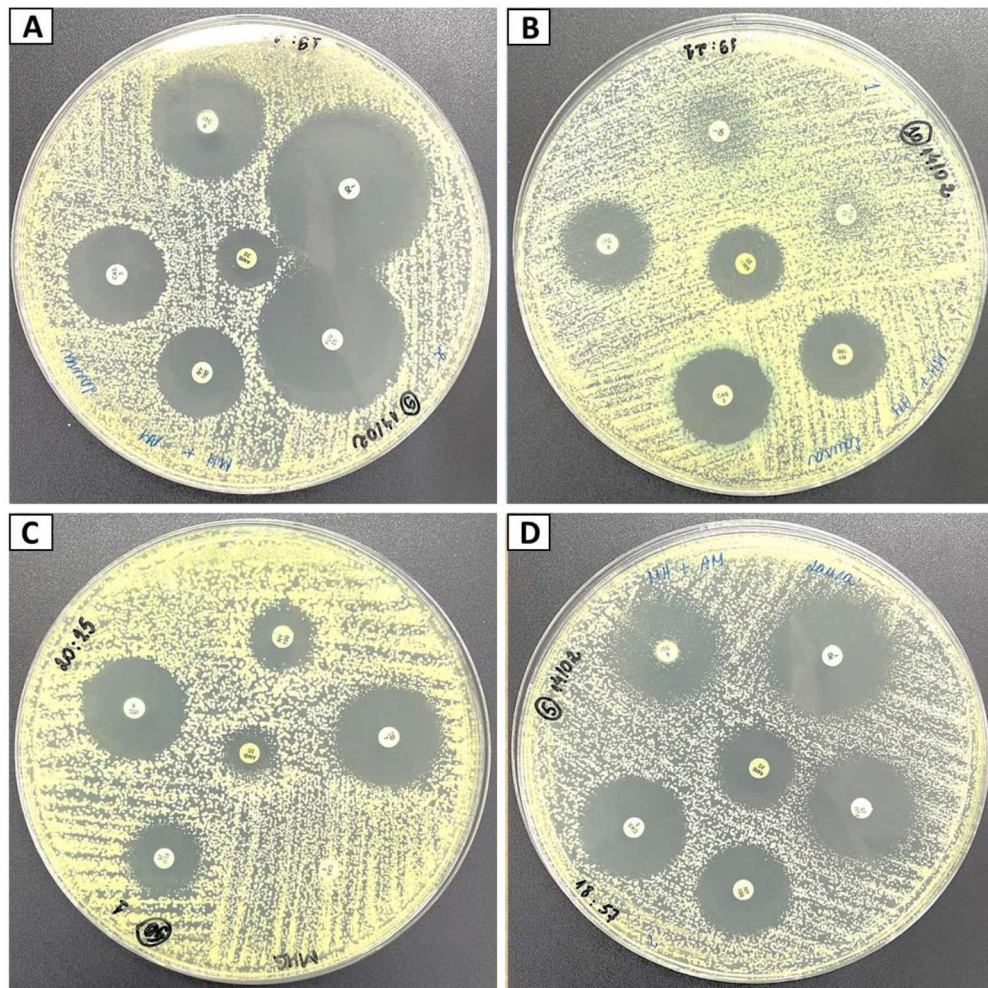
2021).

5.3 PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE AOS AGENTES ANTIFÚNGICOS

As ITUs são uma das maiores causas de morbidade entre pacientes atendidos em centros de atenção terciária. O tratamento geralmente é escolhido a partir de dados epidemiológicos da região ou empiricamente, como é no caso do hospital avaliado neste estudo, que na época da coleta de dados não tinha os recursos necessários para a realização do teste de susceptibilidade aos antifúngicos. O conhecimento desses dados contribui para um maior entendimento da epidemiologia local e para a escolha da terapia antifúngica adequada, o que permite considerar espécies de *Candida* sp. como prováveis agentes importantes de ITUs (GAJDÁCS *et al.*, 2019).

Das 107 amostras coletadas no início do estudo, foi possível a recuperação de 93 (86,9%) amostras para a realização do teste de susceptibilidade aos antifúngicos comerciais (Figura 6).

Figura 6 – Representação do teste de susceptibilidade aos antifúngicos



Legenda: Representação do teste de susceptibilidade aos antifúngicos em diferentes linhagens de *Candida* sp., com diversos perfis de susceptibilidade aos antifúngicos testados. (A) *Candida albicans*: sensibilidade a todos os antifúngicos testados; (B) *Candida glabrata*: resistência a voriconazol e fluconazol; (C) *Candida kefyr*: resistência a caspofungina e halo intermediário para anfotericina B e fluconazol; (D) *Candida tropicalis*: sensibilidade a todos os antifúngicos testados. Fonte: Elaborado pela autora (2024).

A cada teste realizado com um novo grupo de amostras, foram feitas duplicatas de uma das linhagens escolhidas como controle (*C. parapsilosis* ATCC® 22019 ou *C. tropicalis* ATCC® 750), para determinar se os halos de inibição estavam na faixa esperada. Todos os testes realizados com as linhagens padrão foram aprovados, segundo interpretação do documento M60 do CLSI (2020).

Todos os testes foram realizados em duplicata e a leitura do halo foi o resultado

da média entre as duplicatas. A interpretação foi dada considerando S = sensível, R = resistente, e I = intermediário para cada espécie e antifúngico testados, de acordo com o documento M60 do CLSI (2020), bula do fabricante dos discos ou a partir de dados fornecidos na literatura científica (ESPINEL-INGROFF, 2007; ARENDRUP, 2001, 2013) (Quadros 1, 2, 3, 4, 5 e 6).

Quadro 1 - Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de leveduras à anfotericina B nas candidúrias (03/2021 a 01/2023)

ANFOTERICINA B			
Espécie	Candidúria (03/2021 a 01/2023)		
	n = 93		
	R	I	S
	n (%)	n (%)	n (%)
<i>Candida albicans</i>	-	-	38 (100)
<i>Candida glabrata</i>	-	-	26 (100)
<i>Candida parapsilosis</i>	-	-	8 (100)
<i>Candida tropicalis</i>	-	-	15 (100)
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	-	-	2 (100)
<i>Candida kefir</i>	-	1 (100)	-
<i>Clavispora lusitaniae</i>	-	-	2 (100)
<i>Candida dubliniensis</i>	-	-	1 (100)

Legenda: - dado numérico igual a zero; R = resistente; I = intermediário; S = sensível.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Quadro 2 - Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de leveduras à nistatina nas candidúrias (03/2021 a 01/2023)

NISTATINA			
Espécie	Candidúria (03/2021 a 01/2023)		
	n = 93		
	R	I	S
	n (%)	n (%)	n (%)
<i>Candida albicans</i>	-	-	38 (100)
<i>Candida glabrata</i>	-	-	26 (100)
<i>Candida parapsilosis</i>	-	-	8 (100)
<i>Candida tropicalis</i>	-	-	15 (100)
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	-	-	2 (100)
<i>Candida kefyr</i>	-	-	1 (100)
<i>Clavispora lusitaniae</i>	-	-	2 (100)
<i>Candida dubliniensis</i>	-	-	1 (100)

Legenda: - dado numérico igual a zero; R = resistente; I = intermediário; S = sensível.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Quadro 3 - Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de leveduras à caspofungina nas candidúrias (03/2021 a 01/2023)

CASPOFUNGINA			
Espécie	Candidúria (03/2021 a 01/2023)		
	n = 93		
	R	I	S
	n (%)	n (%)	n (%)
<i>Candida albicans</i>	1 (2,6)	-	37 (97,4)
<i>Candida glabrata</i>	-	-	26 (100)
<i>Candida parapsilosis</i>	7 (87,5)	-	1 (12,5)
<i>Candida tropicalis</i>	-	-	15 (100)
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	-	-	2 (100)
<i>Candida kefyr</i>	1 (100)	-	-
<i>Clavispora lusitaniae</i>	-	-	2 (100)
<i>Candida dubliniensis</i>	-	-	1 (100)

Legenda: - dado numérico igual a zero; R = resistente; I = intermediário; S = sensível.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Quadro 4 - Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de leveduras ao fluconazol nas candidúrias (03/2021 a 01/2023)

FLUCONAZOL			
Espécie	Candidúria (03/2021 a 01/2023)		
	n = 93		
	R	I	S
	n (%)	n (%)	n (%)
<i>Candida albicans</i>	4 (10,5)	-	34 (89,5)
<i>Candida glabrata</i>	26 (100)	-	-
<i>Candida parapsilosis</i>	-	1 (12,5)	7 (87,5)
<i>Candida tropicalis</i>	2 (13,3)	-	13 (86,7)
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	-	-	2 (100)
<i>Candida kefyr</i>	-	1 (100)	-
<i>Clavispora lusitaniae</i>	-	-	2 (100)
<i>Candida dubliniensis</i>	-	-	1 (100)

Legenda: - dado numérico igual a zero; R = resistente; I = intermediário; S = sensível.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Quadro 5 - Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de leveduras ao itraconazol nas candidúrias (03/2021 a 01/2023)

ITRACONAZOL			
Espécie	Candidúria (03/2021 a 01/2023)		
	n = 93		
	R	I	S
	n (%)	n (%)	n (%)
<i>Candida albicans</i>	2 (5,3)	-	36 (94,7)
<i>Candida glabrata</i>	13 (50)	-	13 (50)
<i>Candida parapsilosis</i>	-	-	8 (100)
<i>Candida tropicalis</i>	2 (13,3)	1 (6,7)	12 (80)
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	-	-	2 (100)
<i>Candida kefyr</i>	-	-	1 (100)
<i>Clavispora lusitaniae</i>	-	-	2 (100)
<i>Candida dubliniensis</i>	-	-	1 (100)

Legenda: - dado numérico igual a zero; R = resistente; I = intermediário; S = sensível.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Quadro 6 - Perfil de sensibilidade de isolados de espécies de leveduras ao voriconazol nas candidúrias (03/2021 a 01/2023)

VORICONAZOL			
Espécie	Candidúria (03/2021 a 01/2023)		
	n = 93		
	R	I	S
	n (%)	n (%)	n (%)
<i>Candida albicans</i>	4 (10,5)	-	34 (89,5)
<i>Candida glabrata</i>	23 (88,5)	-	3 (11,5)
<i>Candida parapsilosis</i>	-	-	8 (100)
<i>Candida tropicalis</i>	2 (13,3)	-	13 (14)
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	-	-	2 (100)
<i>Candida kefyri</i>	-	-	1 (100)
<i>Clavispora lusitaniae</i>	-	-	2 (100)
<i>Candida dubliniensis</i>	-	-	1 (100)

Legenda: - dado numérico igual a zero; R = resistente; I = intermediário; S = sensível.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Foi observado nos Quadros 1 e 2 que a anfotericina B e nistatina apresentaram maior perfil de sensibilidade comparado aos outros antifúngicos.

Obtivemos maiores fenótipos de resistência para o fármaco supracitado fluconazol (Quadro 4), com maior concentração na espécie *C. glabrata*, em que maiores fenótipos de resistência já são encontrados e discutidos no meio científico (DOI *et al.*, 2016). O fluconazol é considerado um fármaco eficaz e muito utilizado na clínica, porém o surgimento de resistência em outras espécies também é observado nesse estudo (MISHRA *et al.*, 2014).

Para o itraconazol, o fenótipo de resistência continua predominando para a *C. glabrata*, com menos linhagens resistentes para as espécies *C. albicans* e *C. tropicalis*. Dentre os azóis, foi o fármaco que apresentou menor perfil de resistência entre as espécies fúngicas.

Voriconazol continua um fármaco de uso restrito por ser considerado 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 a espécie *C. glabrata*.

Foi observado também no Quadro 3, o predomínio da resistência de *C. parapsilosis* à caspofungina.

Semelhante ao encontrado em outros estudos epidemiológicos sobre o perfil de resistência de linhagens de *Candida* sp. isoladas de centros de atenção terciária no Brasil, a resistência à equinocandinas e anfotericina B ainda é menos prevalente que a resistência aos azóis, que ainda assim é mais encontrada em linhagens de *C. glabrata* e *C. krusei* (COLOMBO *et al.*, 2006; DOI *et al.*, 2016).

Geralmente o fármaco de escolha para o tratamento de ITU causadas por *Candida* sp. em casos em que não temos conhecimento do perfil de susceptibilidade das amostras clínicas é o fluconazol, em razão das suas características farmacocinéticas favoráveis, como a maior concentração do fármaco no sistema urinário. Outros azóis, como o voriconazol e o itraconazol, são fármacos de segunda escolha, assim como a anfotericina B, devido à fatores farmacocinéticos não demasiadamente interessantes e a eventos adversos bem conhecidos, envolvendo baixa excreção pela urina, baixa absorção oral e nefrotoxicidade, respectivamente. Esse perfil de preferência na escolha do antifúngico pode explicar o aumento do isolamento de espécies de *Candida* sp. resistentes ao fluconazol nos últimos anos (KAUFFMAN, 2014; GAJDÁCS *et al.*, 2019).

É discutido na literatura a presença de resistência intrínseca aos azóis por parte de algumas espécies de *Candida*, como *C. krusei*, *C. auris* e *C. glabrata*. Em *C. glabrata*, conhecida por ser uma espécie pouco susceptível aos azóis, a resistência pode se desenvolver mesmo sem exposição prévia, principalmente ao fluconazol, desenvolvendo fenótipos resistentes estáveis com poucos dias de exposição. Essa resistência aos azóis é descrita como mediada quase estritamente por bombas de efluxo, através da expressão de um ou mais transportadores ABC. A *C. glabrata* também é conhecida por exibir valores de CIM cerca de 32 vezes maiores que linhagens selvagens de *C. albicans* (BORST *et al.*, 2005; FERRARI *et al.*, 2011; ARENDRUP; PATTERSON, 2017).

A resistência às equinocandinas é considerada relativamente rara em espécies de *Candida*. Entretanto, foi observado nos últimos anos crescentes relatos sobre linhagens de *C. parapsilosis* resistentes, em países como Irã, Turquia, China, Estados Unidos e Espanha (NING *et al.*, 2022). Essa espécie possui naturalmente uma substituição entre dois aminoácidos (prolina por alanina) em Fks1, o que resulta em uma sensibilidade diminuída da β -(1,3)-D-glucana sintase pela caspofungina. Mutações semelhantes na mesma posição da proteína resultante em *C. albicans* e *C. glabrata* também causam aumentos semelhantes em valores de

resistência à equinocandinas (GARCIA-EFFRON *et al.*, 2008; LEE *et al.*, 2021). Em nosso trabalho encontramos 7 linhagens de *C. parapsilosis*, 1 *C. albicans* e 1 *C. kefyr* resistentes à caspofungina.

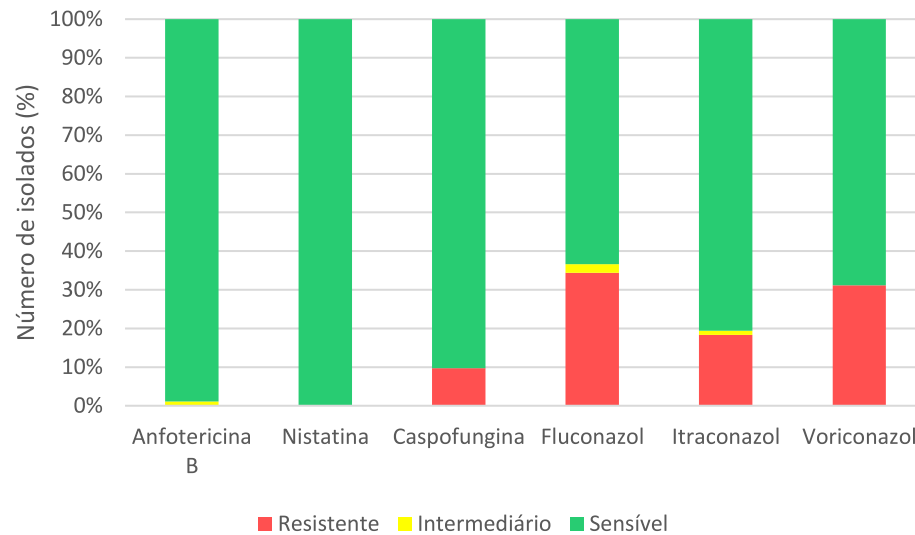
A frequência de isolamento de *C. lusitaniae* em indivíduos internados ainda é baixa, com susceptibilidade maior à fármacos convencionais. Apesar disso, já são descritos isolados resistentes à anfotericina B e fluconazol, e por essa razão, as equinocandinas são atualmente a classe de escolha para o tratamento de candidemia causadas por *C. lusitaniae*. Em nosso trabalho isolamos 2 espécies, sensível a todos os antifúngicos testados (DESNOS-OLLIVIER *et al.*, 2011; MENDOZA-REYES; GÓMEZ-GAVIRIA; MORA-MONTES, 2022).

A resistência a antifúngicos por parte da *C. kefyr* é considerada emergente, com valores altos de CIM encontrados para anfotericina B. O desenvolvimento de resistência após a exposição ao fármaco também já é descrita na literatura (SETH-SMITH *et al.*, 2020; SPILIOPOULOU *et al.*, 2022). Nas 3 amostras testadas, encontramos resistência apenas em 1 amostra à caspofungina, e halo intermediário à anfotericina B e fluconazol na mesma amostra.

Nota-se que para a anfotericina B e nistatina os índices de sensibilidade foram os mais altos, assim como evidenciado por Freitas *et al.* (2014). A resistência a polienos é ainda considerada relativamente incomum entre isolados de *Candida* sp. e devido a isso, a anfotericina B continua como o fármaco mais utilizado em pacientes críticos (SANGUINETTI; POSTERARO; LASS-FLÖRL, 2015; AHMADY *et al.*, 2024). Entretanto, sua administração deve ainda ser realizada com cautela, principalmente em casos de resistência a outros antifúngicos, devido ao risco de nefrotoxicidade (FREITAS *et al.*, 2014).

A partir dos dados gerais de susceptibilidade aos antifúngicos testados (Gráfico 4), observa-se maior concentração de fenótipos de resistência na classe dos azóis (fluconazol com 34,4%, voriconazol com 31,2% e itraconazol com 18,3%), seguido da caspofungina (9,7%). Dados semelhantes foram encontrados em um trabalho do nosso grupo de pesquisadores, em que foi observado maior concentração de fenótipos de resistência em itraconazol (29%), fluconazol e voriconazol (ambos 27%), seguido de caspofungina (7%) e anfotericina B (5%), em amostras de indivíduos com candidemia e co-infecção por COVID-19 (OLIVEIRA, 2022).

Gráfico 4 - Perfil geral de susceptibilidade aos antifúngicos das espécies de levedura isoladas



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Esses dados reforçam que os azóis podem ser menos eficazes no tratamento empírico e que as resistências intrínsecas já conhecidas estão concentradas no fluconazol. Os representantes das classes de polienos e equinocandinas foram os que apresentaram maior sensibilidade, seguida da segunda geração de azóis, que foi o itraconazol.

Do total de 93 amostras testadas, 42 (45,2%) delas apresentaram resistência a pelo menos um antifúngico, sendo que destes, 13 (14%) eram resistentes a apenas um fármaco. A expressão de resistência simultânea a dois fármacos testados ocorreu em 13 (14%) dos isolados e a três fármacos em 16 (17,2%) dos isolados, sempre entre azóis (Tabela 5).

Tabela 5 - Distribuição dos fenótipos de resistência aos antifúngicos selecionados para o estudo

Fenótipo de resistência	Número de isolados n (%)
CAS	9 (9,7)
FLU	32 (34,4)
ICZ	17 (18,3)
VO	29 (31,2)
FLU + VO	13 (14)
FLU + VO + ICZ	16 (17,2)

Legenda: CAS (caspofungina); FLU (fluconazol); ICZ (itraconazol); VO (voriconazol)

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

O fluconazol é usualmente o fármaco de escolha para o tratamento de ITUs sintomáticas ou com alto risco de desenvolvimento de candidemia. Possui boa tolerabilidade, biodisponibilidade oral alta e excreção pela urina. Fármacos de segunda linha, como o itraconazol e o voriconazol, assim como as equinocandinas, não são excretados na urina como fármaco ativo, sendo portanto não indicados no tratamento de cistites. Entretanto, o voriconazol e as equinocandinas podem ser utilizados em infecções no parênquima renal pela possibilidade de maior concentração nesses tecidos (FISHER *et al.*, 2018; ODABASI; MERT, 2020).

É discutido na literatura a possibilidade do aumento da expressão do fenótipo de resistência ao fluconazol e à classe de azóis em razão do uso constante do fármaco como primeira escolha. Quando há conhecimento da linhagem isolada e/ou a determinação da susceptibilidade a antifúngicos, a decisão do fármaco a ser utilizado é melhor conduzida, a fim de não expor o paciente a tratamentos desnecessários ou ineficazes. Em casos de isolamento de linhagens com resistência ao fluconazol, a anfotericina B é o fármaco de escolha para o tratamento de ITUs sintomáticas (ODABASI; MERT, 2020).

A resistência ao fluconazol e voriconazol foi encontrada em 34,4% e 31,2% das amostras, número muito superior ao comparado a literatura. Um dos maiores e mais longos estudos epidemiológicos sobre resistência fúngica envolvendo a técnica de disco-difusão foi o trabalho de Pfaller e colaboradores (2010), que publicaram uma análise de 10,5 anos (entre 1997 e 2007) envolvendo 41 países ao

redor do mundo, com mais de 190.000 isolados de *Candida*. Cerca de 90,2% dos isolados foram sensíveis ao fluconazol e 95% sensíveis ao voriconazol. Fluconazol foi mais ativo em linhagens de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. lusitanae*, *C. kefyr* e *C. dubliniensis*, com sensibilidade em torno de 98%, 91%, 93,2%, 92,1%, 96,5% e 96,1%, respectivamente. Por outro lado, foi verificada uma sensibilidade diminuída em *C. glabrata*, com 31,3% das linhagens resistentes. Voriconazol em geral foi mais ativo que o fluconazol, com exceção para a *C. tropicalis*, que teve uma sensibilidade de 89,5%.

Em nosso trabalho, os valores encontrados de susceptibilidade entre fluconazol e voriconazol foram semelhantes. Isso pode ser devido à resistência cruzada entre os dois fármacos, uma vez que a estrutura química é semelhante entre estes azóis (FREITAS *et al.*, 2014). É importante ressaltar que nenhum dos pacientes desse estudo utilizou o voriconazol como tratamento.

Alguns estudos brasileiros avaliaram a susceptibilidade a fluconazol em linhagens de *Candida* isoladas de urina. Lima *et al.* (2017) encontrou resistência ao fluconazol apenas em espécies de *C. glabrata* e *C. krusei* isoladas de urina de pacientes, usando o método de microdiluição em caldo. Neufeld *et al.* (2015), usando o método de disco difusão encontrou sensibilidade ao fluconazol em 97,2% das linhagens testadas. *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. famata*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii* e *C. lambica* isoladas de amostras clínicas foram espécies que apresentaram sensibilidade ou sensibilidade dose-dependente, com a única linhagem resistente correspondendo à *C. krusei*. Freitas *et al.* (2014), ao testar 95 amostras de leveduras isoladas de pacientes com ITUs, encontrou 2,5% de resistência em *C. albicans*, 8,3% de resistência em *C. tropicalis* e 19,3% de sensibilidade dose-dependente em *C. glabrata*, quando testadas em relação ao fluconazol. Em nosso estudo encontramos índices maiores de resistência a fluconazol e itraconazol em *C. glabrata*, correspondendo a 100% e 50% respectivamente.

Nosso estudo mostra que a resistência aos azóis vem aumentando nos últimos anos. A atividade reduzida ao fluconazol já é conhecida em algumas espécies, como a *C. glabrata*, e a resistência ao voriconazol é frequentemente encontrada em linhagens com resistência adquirida a fluconazol (PFALLER *et al.*, 2010), fato que pode ser observado também em nosso estudo.

É importante ressaltar que a resistência a uma classe de antifúngicos reduz

significativamente as opções terapêuticas em uma taxa de pelo menos 33%, em razão da baixo número de antimicrobianos disponíveis para o tratamento de infecções fúngicas. O impedimento na utilização de uma opção terapêutica devido ao desenvolvimento de resistência é um fator preocupante, e tem um impacto imensurável no cuidado ao paciente hospitalizado (BERMAN; KRYSAN, 2020).

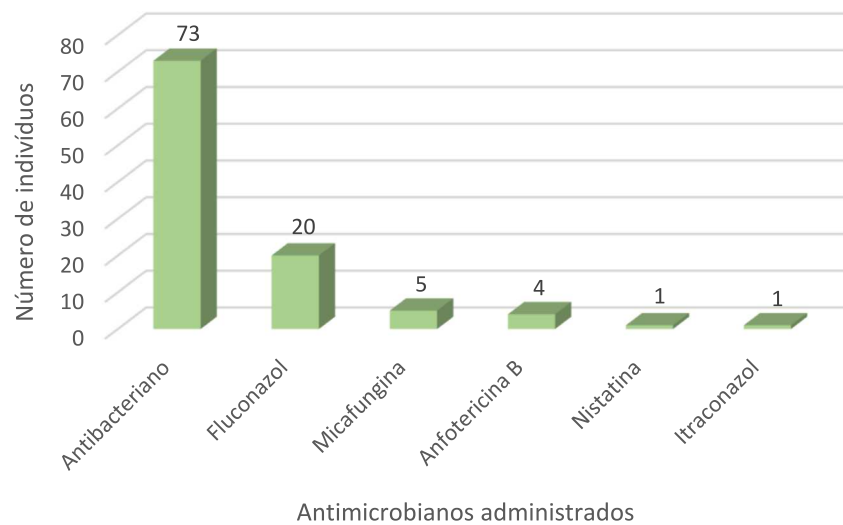
Infelizmente o aumento da taxa de resistência entre as espécies fúngicas acontece em maior nível que o desenvolvimento de novos fármacos e estratégias para combater este tipo de infecção. Algumas estratégias vem sido exploradas, como o uso de farmacoterapia combinada, modulação da resposta imune do hospedeiro e desenvolvimento de agentes para diminuir a virulência das espécies microbianas. Combinações específicas de fármacos com diferentes mecanismos de ação pode ser uma alternativa próspera para combater ou prevenir a emergência de resistência, pois dificulta a aquisição de mutação em genes diversos. Em caso de terapias combinadas com azóis por exemplo, que são fármacos naturalmente fungistáticos, seu efeito fungicida pode ser aumentado, resultando em redução da população fúngica no local de infecção (LEE *et al.*, 2021).

Dessa forma, reforçamos a necessidade do conhecimento do perfil de resistência de amostras clínicas, pois evita-se o uso de antimicrobianos ineficazes na terapêutica ou o uso desnecessário daqueles de amplo espectro, muitas vezes relacionados à eventos adversos graves.

5.4 CORRELAÇÃO TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIFÚNGICOS, TRATAMENTO E DESFECHO CLÍNICO

Do total de 75 pacientes avaliados, apenas um paciente (1,3%) não fez uso de nenhum tratamento antimicrobiano. Todos os outros pacientes utilizaram antibacterianos (97,3%) e/ou antifúngicos (41,3%) (Gráfico 5).

Gráfico 5 - Perfil geral de utilização de antimicrobianos nos pacientes avaliados com candidúria



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Dos pacientes incluídos no estudo, 97,3% deles receberam antibacterianos, com propósito profilático ou de intervenção terapêutica no combate à infecções causadas por bactérias. Dentro desse grupo, houve coinfeção bacteriana em 92% das candidúrias (n=69), justificando o alto índice de uso de antibacterianos. O uso de antibacterianos de amplo espectro pode provocar alterações na microbiota gastrointestinal e genitourinária, facilitando a colonização desses locais por *Candida* sp. (FISHER *et al.*, 2011).

Já o uso de antifúngicos, na maioria dos casos, é realizado de forma empírica, baseado na identificação da espécie, seguindo a terapêutica proposta em protocolos e escolhido de acordo com a disponibilidade de fármacos padronizados na instituição. São incluídos no formulário terapêutico da instituição: anfotericina B desoxicolato, complexo lipídico e lipossomal injetáveis; fluconazol cápsula, suspensão oral e injetável; itraconazol cápsula; micafungina injetável; voriconazol comprimido e injetável e nistatina creme vaginal e suspensão oral.

Os principais antifúngicos utilizados no manejo terapêutico dos indivíduos avaliados neste estudo foram: fluconazol (21,3%; n=16), micafungina (4%; n=3), anfotericina B (2,7%; n=2), itraconazol (1,3%; n=1) e nistatina (1,3%; n=1); micafungina e fluconazol associados (2,7%; n=2) e anfotericina B e fluconazol associados (2,7%; n=2). Em 46 pacientes (61,3% dos casos), apenas

antibacterianos foram administrados, o que pode estar relacionado a diversos motivos. O tempo para obtenção de cultura positiva para fungos e sua identificação é geralmente mais longo que para bactérias, ou o paciente pode não ter tido indicação clínica e não preencheu os critérios para o tratamento da candidúria, além de ser observado indivíduos que foram a óbito antes mesmo de uma possível positividade da cultura e a posterior identificação das leveduras.

O tratamento empírico da candidúria envolve uma série de fatores. Em pacientes assintomáticos é avaliado se o paciente possui algum fator de risco para o desenvolvimento de infecções disseminadas. Em alguns casos, o manejo envolve a retirada ou a troca do catéter urinário e eventualmente, o uso de antifúngicos. A identificação de *C. glabrata* e *C. krusei* por exemplo, é um alerta para o uso de medicamentos de segunda linha, devido à emergente aquisição de resistência aos azóis por parte dessas espécies. Esse dado reforça também a importância do diagnóstico precoce para a melhor orientação da escolha do antifúngico que será empregado, caso necessário (FISHER *et al.*, 2011).

É importante ressaltar que, como o fluconazol é excretado na urina como medicamento ativo, sua concentração pode exceder a CIM da linhagem encontrada. É relatado que na dose usual de 200 a 400 mg via oral por dia, a concentração na urina pode chegar a > 100 mg/L, o que é adequado não apenas para linhagens susceptíveis (CIM ≤ 8 mg/L), mas também para linhagens com susceptibilidade dose-dependente (CIM de 16 a 32 mg/L) (ALFOUZAN; DHAR, 2017).

O número de indivíduos com candidúria e desfecho óbito foi 29 (38,7%). As causas de óbito foram diversas, incluindo sepse, COVID-19, insuficiência cardíaca congestiva, insuficiência renal e respiratória aguda, neoplasias, disfunções orgânicas e choque cardiogênico. No quadro 7 demonstramos a relação entre o antifúngico administrado e o perfil de sensibilidade encontrado, em conjunto com o desfecho (óbito ou alta médica).

Quadro 7 - Demonstração de indivíduos com candidúria com seu respectivo tratamento, perfil de sensibilidade ao antifúngico administrado e desfecho (03/2021 a 01/2023)

Tratamento	Fenótipo			
	Resistente		Sensível	
	Óbito - n (%)	Alta - n (%)	Óbito - n (%)	Alta - n (%)
Fluconazol	3 (4)	3 (4)	9 (12)	4 (5,3)
Anfotericina B	0	0	3 (4)	1 (1,3)
Itraconazol	0	0	1 (1,3)	0
Nistatina	0	0	0	1 (1,3)

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

A micafungina administrada em cinco pacientes não foi contabilizada acima em razão da não realização do teste de sensibilidade a este antifúngico. O único exemplar de equinocandinas testado foi a caspofungina. É importante ressaltar que um indivíduo que foi à óbito incluído no grupo que fez uso de fluconazol com fenótipo de resistência também fez uso da micafungina.

Dos pacientes que possuíram candidemia concomitante (5,3%; n=4), dois pacientes receberam micafungina para tratamento da candidemia por *C. albicans* e *C. parapsilosis*, e os outros dois pacientes receberam fluconazol para tratamento de infecção da corrente sanguínea causada por *C. albicans* e *C. tropicalis*, com ambas linhagens sensíveis a este fármaco. O uso da micafungina como terapia de primeira linha para o tratamento de candidemias é bem difundido, em razão da baixa toxicidade renal e hepática, além de possuir poucas interações com outros medicamentos, o que pode ser benéfico dependendo das condições clínicas do paciente (NING *et al.*, 2022).

Nota-se que houve uso assertivo do antifúngico em 19 casos (25,3%), os demais receberam apenas antibacterianos (64,4%; n=47) administrados como antimicrobianos durante o tratamento ou foram administrados micafungina ou outros antifúngicos contra linhagens que expressavam algum fenótipo de resistência.

Dentre os indivíduos com candidúria por linhagens que apresentaram algum fenótipo de resistência (8%; n=6), o desfecho óbito foi em 3 indivíduos (50%). Ao analisar a correlação entre antifúngico administrado, expressão fenotípica de resistência e desfecho óbito através da análise de ANOVA e Bonferroni, não houve

diferença significativa para nenhuma das correlações apresentadas ($p \geq 0,05$).

As análises demonstraram que houve administração de fluconazol em 3 pacientes para tratar infecções causadas por linhagens resistentes, o que poderia agravar a condição clínica dos indivíduos. Entretanto, o desfecho óbito está relacionado a uma série de condições, como comorbidades, infecção bacteriana concomitante, entre outros fatores que somados à terapia antimicrobiana ineficaz, pode tornar o caso mais crítico e propício ao óbito.

Informações referentes à taxas de morbidade e mortalidade envolvendo pacientes com candidúria estão melhor definidas e avaliadas em relação a pacientes críticos, internados em CTI e que fazem uso de cateteres urinários, possivelmente devido a maior gravidade das patologias e maior complexidade na clínica dos pacientes. Em nossa pesquisa, a maioria dos pacientes que foram a óbito estavam internados no CTI no momento e todos faziam uso de cateter vesical de demora. Outros estudos relataram que pacientes com candidúria tiveram maiores taxas de mortalidade comparadas a indivíduos com condições semelhantes mas sem apresentarem candidúria. Podemos inferir portanto, que o diagnóstico de candidúria em pacientes internados em CTIs deve ser considerado e melhor interpretado (ÁLVAREZ-LERMA *et al.*, 2003; IACOVELLI *et al.*, 2014; KAUFFMAN, 2014).

5.5 DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DOS EXTRATOS DE *Stachys lanata*, *Glycyrrhiza inflata*, *Pothomorphe umbellata*, *Renealmia petasites* E *Amaranthus viridis* EM AMOSTRAS DE *Candida* sp. RESISTENTES A UM OU MAIS ANTIFÚNGICOS TESTADOS

Extratos vegetais têm se tornado potenciais veículos para a procura de biocompostos com atividades antimicrobianas, já que o aumento de resistência descrita em espécies fúngicas tem se tornado um problema mundial, e a descoberta de alternativas para o tratamento de infecções fúngicas se faz necessária (CAMPOS *et al.*, 2018). A triagem de novos compostos pode fornecer candidatos a novos medicamentos que podem ser ativos contra microrganismos resistentes a fármacos convencionais, por apresentarem sítios de ação diferentes dos estudados atualmente (DUARTE *et al.*, 2005).

Os compostos de origem natural disponibilizados para este estudo fazem parte da biblioteca de compostos do Laboratório do Núcleo de Identificação e

Pesquisa em Princípios Ativos Naturais (NIPPAN), localizado na Faculdade de Farmácia/UFJF, sob a coordenação do professor Ademar Alves da Silva Filho. Foram apresentados diversos extratos de espécies de plantas conhecidas por suas atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas.

Foi feito o levantamento bibliográfico de todas as espécies disponibilizadas, de forma a verificar quais delas tinham dados na literatura acerca de atividades anti-*Candida*. Para as espécies *Amaranthus viridis*, *Stachys lanata*, *Glycyrrhiza inflata*, *Pothomorphe umbellata* e *Renalmia petasites*, encontramos mais resultados relativos a testes realizados com *C. albicans* ATCC® 28366 e ATCC® 10231, linhagens bacterianas ou a compostos isolados derivados das plantas, como por exemplo a licochalcona A, glabridina e ácido glicirrízico derivados da *G. inflata* (DUARTE *et al.*, 2005; SPONCHIADO JÚNIOR *et al.*, 2007; MESSIER, C.; GRENIER, 2011; SELEEM *et al.*, 2016). Selecionamos, portanto, essas 5 espécies como forma de obtermos mais informações acerca de suas atividades antifúngicas em diferentes espécies de *Candida*.

O intuito foi testar esta série de extratos vegetais, realizando o ensaio de microdiluição em caldo e a determinação da CIM, para verificar se algum dos compostos naturais possuía potencial atividade antifúngica, já que não foram encontrados dados na literatura referentes a atividades contra leveduras provenientes de amostras clínicas para esses compostos.

O teste de susceptibilidade foi realizado com todos os extratos vegetais em concentrações pré-estabelecidas, apenas em linhagens resistentes a um ou mais fármacos antifúngicos testados pela técnica de disco-difusão, totalizando 42 amostras. A concentração inibitória mínima foi considerada a menor concentração que inibiu 100% do crescimento dos fungos visualmente. Quando ocorreu 100% de inibição do crescimento, a levedura foi cultivada em meio sólido para verificar a viabilidade celular; na ausência de crescimento do fungo neste meio, o produto natural foi considerado fungicida.

Nossas análises confirmaram a susceptibilidade das amostras padrão, *C. parapsilosis* ATCC® 22019 e *C. tropicalis* ATCC® 750 à anfotericina B, de acordo com o documento do CLSI M60 (2017).

Encontramos na literatura informações variadas a respeito de valores de CIM que podem ser considerados efetivos, devido à falta de padronização de testes utilizando produtos naturais, principalmente em razão das diferentes composições

de substâncias químicas encontradas nesses materiais. Segundo Rios e Recio (2005), extratos com CIM menores que 100 µg/mL são considerados extratos com atividades antimicrobianas promissoras. Já Aligiannis *et al.* (2001) propôs uma classificação para materiais derivados de plantas, em que inibidores fortes seriam aqueles com CIM até 500 µg/mL. Desse modo, em nosso trabalho estabelecemos a concentração de 1000 µg/mL como a maior concentração testada, de forma que apenas os extratos que apresentassem CIM menores que 1000 µg/mL fossem considerados com potencial atividade antifúngica.

O valor da CIM foi maior que a concentração máxima testada (> 1000 µg/mL) para quatro dos cinco extratos, entre eles: *R. petasites*, *S. lanata*, *A. viridis* e *G. inflata*, inferindo que estes não possuíram atividades para linhagens de *Candida* resistentes aos antifúngicos comerciais. Não foram encontrados registros prévios sobre a atividade antifúngica em *Candida* spp. derivadas de amostras clínicas para essas espécies vegetais.

Apenas o extrato de *P. umbellata* apresentou atividade inibitória moderada e fungicida frente à algumas linhagens de *Candida* sp. (26,2%; n=11), entre elas: 5 linhagens de *C. glabrata* (19,2% do total de *C. glabrata* testadas), 5 linhagens de *C. parapsilosis* (71,4%) e a 1 única linhagem de *C. kefyr* (100%) (Tabela 6 – marcação em azul). Para os isolados de *C. albicans* e *C. tropicalis* o extrato mencionado não apresentou atividade.

Tabela 6 – Atividade antifúngica *in vitro* dos extratos testados frente a linhagens de *Candida* sp.

Número da amostra	Levedura identificada	CIM (ug/mL)				
		<i>Renealmia petasites</i>	<i>Stachys lanata</i>	<i>Pothomorphe umbellata</i>	<i>Amaranthus viridis</i>	<i>Glycyrrhiza inflata</i>
1	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	62,5	> 1000	> 1000
3	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	250	> 1000	> 1000
6	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
10	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
16	<i>Candida albicans</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
17	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
20	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
24	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
26	<i>Candida parapsilosis</i>	> 1000	> 1000	1000	> 1000	> 1000
30	<i>Candida parapsilosis</i>	> 1000	> 1000	500	> 1000	> 1000
34	<i>Candida tropicalis</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
38	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
40	<i>Candida albicans</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
41	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
42	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
43	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
44	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
50	<i>Candida kefyr</i>	> 1000	> 1000	15,62	> 1000	> 1000
53	<i>Candida albicans</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
57	<i>Candida parapsilosis</i>	> 1000	> 1000	1000	> 1000	> 1000
58	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
59	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
60	<i>Candida parapsilosis</i>	> 1000	> 1000	250	> 1000	> 1000
61	<i>Candida parapsilosis</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
64	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
68	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	1000	> 1000	> 1000
69	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	1000	> 1000	> 1000
71	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	500	> 1000	> 1000
72	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
84	<i>Candida parapsilosis</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
85	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
87	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
88	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
89	<i>Candida albicans</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
90	<i>Candida albicans</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
92	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
96	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
97	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
100	<i>Candida tropicalis</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
101	<i>Candida parapsilosis</i>	> 1000	> 1000	1000	> 1000	> 1000
102	<i>Candida albicans</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
105	<i>Candida glabrata</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000

Legenda: CIM (Concentração inibitória mínima)

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Não encontramos dados na literatura acerca da atividade de *P. umbellata* em espécies de *Candida*, apenas testes em fungo filamentosos. Rodrigues e colaboradores (2012) avaliaram a atividade de extratos e frações de partes aéreas de *P. umbellata* em linhagens resistentes de *Trichophyton rubrum* (denominadas Tr1, H6 e Δ TruMDR2), um fungo dermatófito capaz de invadir tecidos queratinizados, como pele, unhas e cabelos. Através da metodologia de microdiluição em caldo, os autores concluíram que o extrato da planta apresentou atividade contra linhagens de *T. rubrum*, principalmente quando utilizada frações do extrato hidroalcoólico a 70%.

Em um estudo avaliando os efeitos do extrato hidroalcoólico de partes aéreas de *P. umbellata* em *Enterococcus faecalis*, constatou-se que a fração do extrato liofilizado em acetato de etila apresentou a melhor atividade antimicrobiana quando comparada às frações hexânica e butanólica (SPONCHIADO *et al.*, 2014). Estudos futuros sobre a composição fitoquímica de diferentes frações do extrato que podem apresentar melhores atividades antifúngicas devem ser conduzidos, a fim de obtermos maiores informações acerca das propriedades da espécie trabalhada.

Não foi observado maior ou menor atividade do extrato de *P. umbellata* para alguma espécie de *Candida* específica, nem um padrão de atividade específico de acordo com a resistência encontrada anteriormente aos antifúngicos testados, já que as amostras para as quais o extrato de *P. umbellata* foi ativo possuíam diferentes perfis de resistência. Enfatizamos que mais estudos são necessários para uma melhor compreensão de um potencial mecanismo antifúngico, através do isolamento, caracterização e identificação dos constituintes ativos encontrados no extrato em questão, já que extratos brutos podem ter diferentes composições e substâncias com propriedades sinérgicas ou antagônicas (RANGASAMY *et al.*, 2007).

6 CONCLUSÃO

O objetivo desse estudo foi fornecer informações sobre a incidência de candidúria em um Hospital Universitário da Zona da Mata Mineira, em um certo período de tempo. A presença de *Candida* spp. em amostras de urina é considerada um achado clínico comum em pacientes hospitalizados e que possuem fator de risco para tal condição, podendo evoluir para uma infecção do trato urinário ou até predispor uma candidemia disseminada.

A espécie mais isolada nas amostras de urina de pacientes internados foi a *Candida albicans*, tendo os azóis, principalmente o fluconazol, como os principais fármacos envolvidos na resistência por parte das amostras isoladas. Informações sobre a epidemiologia local auxiliam o uso de terapia profilática ou empírica quando necessária e assim, nosso trabalho abre perspectivas para mudanças nas condutas clínicas e terapêuticas do paciente internado com candidúria.

Contribuindo com a descoberta de novos compostos antifúngicos, foi identificado nesse trabalho uma potencial atividade antifúngica para o extrato de *Pothomorphe umbellata*. Este resultado reafirma a necessidade da busca por moléculas ativas e potenciais medicamentos, que pode fornecer uma alternativa frente às limitações terapêuticas, biodisponibilidade ineficiente e toxicidade dos antifúngicos atualmente disponíveis no mercado, além da emergência de resistência em linhagens de espécies fúngicas. Enfatizamos que mais estudos são necessários para uma melhor compreensão do mecanismo de ação e de potenciais substâncias envolvidas na atividade antifúngica.

REFERÊNCIAS

- ABABUTAIN, I. M.; ALGHAMDI, A. I. In vitro anticandidal activity and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) screening of *Vitex agnus-castus* leaf extracts. **Peer J**, v. 9, p. 69-77, 2021.
- ACHKAR, J. M.; FRIES, B. C. *Candida* infections of the genitourinary tract. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 23, n. 2, p. 253-273, 2010.
- AHMADY, L.; GOTHWAL, M.; MUKKOLI, M. M.; BARI, V. K. Antifungal drug resistance in *Candida*: a specialempphasis on amphotericin B. **Journal of Pathology, Microbiology and Immunology**, v. 132, p. 291-316, 2024.
- ALBERTI, Á.; RIETHMÜLLER, E.; BÉNI, S. Characterization of diarylheptanoids: an emerging class of bioactive natural products. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 47, p. 13-34, 2018.
- ALFOUZAN, W. A.; DHAR, R. Candiduria: Evidence-based approach to management, are we there yet? **Journal De Mycologie Medicale**, v. 27, n. 3, p. 293-302, 2017.
- ALI, Z.; HAWWAL, M.; AHMED, M. M. A.; AVULA, B.; CHITTIBOYINA, A. G.; LI, J.; WU, C.; TAYLOR, C.; CHAN, Y.; KHAN, I. A. Licochalcone L, an undescribed retrochalcone from *Glycyrrhiza inflata* roots. **Natural Product Research**, v. 36, n. 1, p. 200-2006, 2022.
- ALIGIANNIS, N.; KALPOTZAKIS, E.; MITAKU, S.; CHINO, I. B. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p. 4168-4170, 2001.
- ALMEIDA, V. F.; QUILICI, M. C. B.; SABINO, S. S.; RESENDE, D. S.; ROSSI, I.; ALVAREZ-LERMA, F.; NOLLA-SALAS, J.; LEÓN, C.; PALOMAR, M.; JORDÁ, R.; CARRASCO, N.; BOBILLO, F. Candiduria in critically ill patients admitted to intensive care medical units. **Intensive Care Medicine**, v. 29, n. 7, p. 1069-1076, 2003.
- AMINFAR, P.; ABTAHI, M.; PARASTAR, H. Gas chromatographic fingerprint analysis of secondary metabolites of *Stachys lanata* (*Stachys byzantine* C. Koch) combined with antioxidant activity modelling using multivariate chemometric methods. **Journal of Chromatography A**, v. 1602, n. 27, p. 432-440, 2019.
- ANISIMOVA, A.; POLEEVA, M. V.; ARONOVA, N. V.; TSIMBALISTOVA, M. V.; PAVLOVICH, N. V. Peculiarities of *Candida* yeast identification by mass spectrometric analysis (MALDI-TOF MS). **Klinicheskaja laboratornaia diagnostika**, v. 67, n. 4, p. 244-249, 2022.
- ANVISA. AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Medidas de Prevenção de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde**. Brasília, 2017.

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. AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **NOTA TÉCNICA GVIMS/GGTES/ANVISA Nº 02/2022: Orientações para identificação, prevenção e controle de infecções por *Candida auris* em serviços de saúde.** Brasília, 2022.

ANVISA. AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Alerta de Risco GVIMS/GGTES/Anvisa no 01/2023 Assunto: Confirmação de caso de *Candida auris* em Hospital de São Paulo.** Brasília, 2023.

ALSHAMI, I.; ALHARBI, A. E. *Hibiscus sabdariffa* extract inhibits in vitro biofilm formation capacity of *Candida albicans* isolated from recurrent urinary tract infections. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 2, p. 104-108, 2014.

ARENDRUP, M. C. *Candida* and candidaemia. Susceptibility and epidemiology. **Danish Medical Journal**, v. 60, n. 11, 2013.

ARENDRUP, M. C.; FRIBERG, N.; MARES, M.; KAHLMETER, G.; MELETIADIS, J.; GUINEA, J.; European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). How to interpret MICs of antifungal compounds according to the revised clinical breakpoints v. 10.0 European committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST). **Clinical Microbiology and Infection**, v. 26, p. 1464-1472, 2020.

ARENDRUP, M. C.; LUNDGREN, B.; JENSEN, I. M.; HANSEN, B. S.; FRIMODT-MOLLER, N. Comparison of Etest and a tablet diffusion test with the NCCLS broth microdilution method for fluconazole and amphotericin B susceptibility testing of *Candida* isolates. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 47, p. 521-526, 2001.

ARENDRUP, M. K.; PATTERSON, T. F. Multidrug-Resistant *Candida*: Epidemiology, Molecular Mechanisms, and Treatment. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 216, n. 3, p. 445-451, 2017.

BERMAN, J.; KRYSAN, D. J. Drug resistance and tolerance in fungi. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. 6, p. 319-331, 2020.

BIZZINI, A.; DURUSSEL, C.; BILLE, J.; GREUB, G.; PROD'HOM, G. Performance of matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry for identification of bacterial strains routinely isolated in a clinical microbiology laboratory. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, p. 1549-1554, 2010.

BORGES, F. M.; NASCIMENTO, T. C. *Candida auris*: patógeno fúngico emergente é detectado no Brasil. **HU Revista**, v.47, p. 1-2, 2021.

BORST, A.; RAIMER, M. T.; WARNOCK, D. W.; MORRISON, C. J.; ARTHINGTON-SKAGGS, B. A. Rapid acquisition of stable azole resistance by *Candida glabrata* isolates obtained before the clinical introduction of fluconazole. **Antimicrobial**

Agents and Chemotherapy, v. 49, p. 783-787, 2005.

BOUGNOUX, M.; KAC, G.; AEGERTER, P.; D'ENFERT, C.; FAGON, J. CANDIREA STUDY GROUP. Candidemia and candiduria in critically ill patients admitted to intensive care units in France: Incidence, molecular diversity, management and outcome. **Intensive Care Medicine**, v. 34, n. 2, p. 292-299, 2008.

CAMPOS, L. M.; MELO, L.; LEMOS, A. S. O.; GUEDES, M. C. M. R.; SILVA, T. P.; FIGUEIREDO, G. F.; JUNIOR, J. L. R.; ROCHA, V. N.; MELO, R. C. N.; ARAÚJO, M. G. F.; APOLÔNIO, A. C. M.; SCIO, E.; FABRI, R. L. *Mitracarpus frigidus*: A promising antifungal in the treatment of vulvovaginal candidiasis. **Industrial Crops & Products**, v. 123, p. 731-739, 2018.

CAMPOS, P. A.; RIBAS, R. M.; GONTIJO-FILHO, P. P. Appraising epidemiology data and antimicrobial resistance of urinary tract infections in critically ill adult patients: a 7-year retrospective study in a referral Brazilian hospital. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 141, n. 6, 8 p., 2023.

CARVALHO, L. S. A.; GERALDO, R. B.; MORAES, J.; SILVA PINTO, P. L.; FARIA PINTO, P.; PEREIRA JUNIOR, O. S.; SILVA FILHO, A. A. Schistosomicidal activity and docking of *Schistosoma mansoni* ATPDase 1 with licoflavone B isolated from *Glycyrrhiza inflata* (Fabaceae). **Experimental Parasitology**, v. 159, p. 207-214, 2015.

CASALINUOVO, I. A.; DI FRANCESCO, P.; GARACI, E. Fluconazole resistance in *Candida albicans*: a review of mechanisms. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 8, p. 69-77, 2004.

CDC. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Data summary of HAIs in the US: assessing progress 2006-2016**. 2017. Disponível em: https://www.cdc.gov/hai/data/archive/datasummaryassessingprogress.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fhai%2Fsurveillance%2Fdatareports%2Fdatasummaryassessing-progress.html. Acessado em: 25 de maio de 2023.

CELA-LÓPEZ, J. M.; ROLDÁN, C. G. C.; GÓMEZ-LIZARRAGA, G.; MARTÍNEZ, V. A natural alternative treatment for urinary tract infections: Itxasol®, the importance of the formulation. **Molecules**, v. 26, n. 15, p.1-13, 2021.

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.

CLSI, author. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts**. 4rd ed. (M27-Ed4) Clinical and Laboratory Standards Institute; Wayne, PA: 2017.

COLOMBO, A. L.; ALMEIDA-JÚNIOR, J. N.; GUINEA, J. Emerging multidrug-

resistant *Candida* species. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 30, n. 6, p. 528-538, 2017.

COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T. Candidúria: uma abordagem clínica e terapêutica. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 3, p. 332-337, 2007.

COLOMBO, A. L.; NUCCI, M.; PARK, B. J.; NOUÉR, S. A.; ARTHINGTON-SKAGGS, B.; DA MATTA, D. A.; WARNOCK, D.; MORGAN, J. Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 8, p. 2816-2823, 2006.

COSTA, D. S.; LEAL, C. M.; CAJAS, R. A.; GAZOLLA, M. C.; SILVA, L. M.; CARVALHO, L. S. A.; LEMES, B. L.; MOURA, R. O.; ALMEIDA, J.; MORAES, J.; DA SILVA FILHO, A. A. Antiparasitic properties of 4-nerolidylcatechol from *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. (Piperaceae) in vitro and in mice models with either prepatent or patent *Schistosoma mansoni* infections. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 313, 11 p., 2023.

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

DE LAS PEÑAS, A.; PAN, S. J.; CASTANO, I.; ALDER, J.; CREGG, R.; CORMACK, B. P. Virulence-related surface glycoproteins in the yeast pathogen *Candida glabrata* are encoded in subtelomeric clusters and subject to *RAP1*- and *SIR*-dependent transcriptional silencing. **Genes & Development**, n. 17, p. 2245-2258, 2003.

DESNOS-OLLIVIER, M.; MOQUET, O.; CHOUAKI, T.; GUÉRIN, A.; DROMER, F. Development of Echinocandin Resistance in *Clavispora lusitaniae* during Caspofungin Treatment. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 6, p. 2304–2306, 2011.

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.

DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A.; REHDER, V. L. G.; DELARMELINA, C. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 305–311, 2005.

EBRAHIMABADI, A. H.; EBRAHIMABADI, E. H.; DJAFARI-BIDGOLI, Z.; KASHI, F. J.; MAZOOCHI, A.; BATOOLI, H. Composition and antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and extracts of *Stachys inflata* Benth from Iran. **Food Chemistry**, v. 119, p. 452-458, 2010.

ESPINEL-INGROFF, A.; 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.

FABRI, R. L.; FREITAS, J. C. O.; LEMOS, A. S. O.; CAMPOS, L. M.; DINIZ, I. O. M.; PINTO, N. C. C.; SILVA, T. P.; PALAZZI, C.; MARCHESINI, P.; MONTEIRO, C.; BARBOSA, A. F.; CARVALHO, M. G.; CHEDIER, L. M.; ARAÚJO, M. G. F.; APOLÔNIO, A. C. M.; ROCHA, V. M.; MELO, R. C. M.; FARIA-PINTO, P. Spilanthal as a promising antifungal alkylamide for the treatment of vulvovaginal candidiasis. **Medical Mycology**, v. 59, n. 12, p. 1210-1224, 2021.

FATIMA, A.; GUPTA, V. K.; LUQMAN, S.; NEGI, A. S.; KUMAR, J. K.; SHANKER, K.; SAIKIA, D.; SRIVASTAVA, S.; DAROKAR, M. P.; KHANUJA, S. P. S. Antifungal activity of *Glycyrrhiza glabra* extracts and its active constituent glabridin. **Phytotherapy Research**, v. 23, p. 1190-1193, 2009.

FELDMAN, M.; TANABE, S.; HOWELL, A.; GRENIER, D. Cranberry proanthocyanidins inhibit the adherence properties of *Candida albicans* and cytokine secretion by oral epithelial cells. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 12, n. 6, p. 1-12, 2012.

FERNANDES, K. S.; SILVA, A. H. M.; MENDANHA, S. A.; REZENDE, K. R.; ALONSO, A. Antioxidant effect of 4-nerolidylcatechol and α -tocopherol in erythrocyte ghost membranes and phospholipid bilayers. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 46, n. 9, 780-788, 2013.

FERRARI, S.; SANGUINETTI, M.; TORELLI, R.; POSTERARO, B.; SANGLARD, D. Contribution of CgPDR1 Regulated Genes in Enhanced Virulence of Azole-Resistant *Candida glabrata*. **PLoS One**, v. 6, n. 3, 2011.

FISHER, J. F.; KAVANAGH, K.; SOBEL, J. D.; KAUFFMAN, K. A.; NEWMAN, C. A. *Candida* urinary tract infection: Pathogenesis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 52, n. 6, p. 437-451, 2011.

FISHER, M. C.; HAWKINS, N. J.; SANGLARD, D.; GURR, S. J. Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security. **Science**, v. 360, p. 739-742, 2018.

FREITAS, A. R.; BAEZA, L. C.; FARIA, M. G. I.; DOTA, K. F. D.; MARTÍNEZ, P. G.; SVIDZINSKI, T. I. E. Yeasts isolated from nosocomial urinary infections: Antifungal susceptibility and biofilm production. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 31, n. 2, p. 104-108, 2014.

GAJDÁCS, M.; DÓCZI, I.; ÁBRÓK, M.; LÁZÁR, A.; BURIÁN, K. Epidemiology of candiduria and *Candida* urinary tract infections in inpatients and outpatients: results from a 10-year retrospective survey. **Central European Journal of Urology**, v. 72, p. 209-214, 2019.

GARCIA-EFFRON, G.; KATIYAR, S. K.; PARK, S.; EDLIND, T. D.; PERLIN, D. S. A Naturally Occurring ProlineTo-Alanine Amino Acid Change in Fks1p in *Candida*

parapsilosis, Candida orthopsilosis, and Candida metapsilosis Accounts for Reduced Echinocandin Susceptibility. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, p. 2305-2312, 2008.

GARCIA-VIDAL, C.; CARDOZO-ESPINOLA, C.; PUERTA-ALCALDE, P.; MARCO, F.; TELLEZ, A.; AGUERO, D.; ROMERO-SANTANA, F.; DÍAZ-BEYÁ, M.; GINÉ, E.; MORATA, L.; RODRÍGUEZ-NÚÑEZ, O.; MARTINEZ, J. A.; MENSA, J.; ESTEVE, J.; SORIANO, A. Risk factors for mortality in patients with acute leukemia and bloodstream infections in the era of multiresistance. **PLoS ONE**, v. 13, n. 6, p. 1-12, 2018.

GUIMARÃES, G. S.; CORDEIRO, A. O.; GAZOLLA, M. C.; VECCHI, L.; ZOIA, M. A. P.; AZEVEDO, F. V. P. V.; CAMPOS, I. M.; COSTA, D. S.; MOTA, S. T. S.; RIBEIRO, M. A.; GOULART, L. R.; DA SILVA FILHO, A. A.; ARAÚJO, T. G. 4-nerolidylcatechol (4-NC) and docetaxel synergize in controlling androgen-independent prostate cancer cells. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 11, p. 943-955, 2023.

HARLEY, B. K.; QUAGRAINE, A. M.; NEGLO, D.; AGGREY, M. O.; ORMAN, E.; MIREKU-GYIMAH, N. A.; AMENGOR, C. D.; JATO, J.; SAAKA, Y.; FLEISCHER, T. C. Metabolite profiling, antifungal, biofilm formation prevention and disruption of mature biofilm activities of *Erythrina senegalensis* stem bark extract against *Candida albicans* and *Candida glabrata*. **PLoS ONE**, v. 17, n. 11, p. 1-16, 2022.

HATANO, T.; SHINTANI, Y.; AGA, Y.; SHIOTA, S.; TSUCHIYA T.; YOSHIDA, T. Phenolic constituents of licorice. VIII. Structures of glicophenone and glicoisoflavanone, and effects of licorice phenolics on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 48, p. 1286-1292, 2000.

HOENIGL, M.; SEIDEL, D.; SPRUTE, R.; CUNHA, C.; OLIVERIO, M.; GOLDMAN, G. H.; IBRAHIM, A. S.; CARVALHO, A. COVID-19-associated fungal infections. **Nature Microbiology**, v. 7, p. 1127-1140, 2022.

HÖFLING, J. F.; ANIBAL, P. C.; OBANDO-PEREDA, G. A.; PEIXOTO, I. A. T.; FURLETTI, V. F.; FOGGIO, M. A.; GONÇALVES, R. B. Antimicrobial potential of some plant extracts against *Candida* species. **Brazilian Journal of Biology**, v. 70, n. 4, p. 1065-1068, 2010.

HUANG, P.; HUNG, M.; SHIE, S.; SU, L.; CHEN, K.; YE, J.; CHIANG, P.; LEU, H.; HUANG, C. Molecular concordance of concurrent *Candida albicans* candidemia and candiduria. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 76, n. 3, p. 382-384, 2013.

IACOVELLI, V.; GAZIEV, G.; TOPAZIO, L.; BOVE, P.; VESPASIANI, G.; AGRÒ, E. F. Nosocomial urinary tract infections: a review. **Urologia**, v. 81, n. 4, p. 222-227, 2014.

ISOBE, T.; OHSAKI, A.; NAGATA, K. Antibacterial constituents against *Helicobacter pylori* of Brazilian medicinal plant, Pariparoba. **Yakugaku Zasshi**, v. 122, p. 291-294, 2002.

KAUFFMAN, C. A. Candiduria. **Clinical Infectious Diseases**, v. 41, p. 371-376, 2005.

KAUFFMAN, C. A. Diagnosis and management of fungal urinary tract infection. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 28, n. 1, p. 61-74, 2014.

KAUFFMAN, C. A.; VAZQUEZ, J. A.; SOBEL, J. D.; GALLIS, H. A.; MCKINSEY, D. S.; KARCHMER, A. W.; SUGAR, A. M.; SHARKEY, P. K.; WISE, G. J.; MANGI, R.; MOSHER, A.; LEE, J. Y.; DISMUKES, W. E. NATIONAL INSTITUTE FOR ALLERGY AND INFECTIOUS DISEASES (NIAID) MYCOSES STUDY GROUP. Prospective multicenter surveillance study of funguria in hospitalized patients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 30, n. 1, p. 14-18, 2000.

KAUR, N.; DHUNA, V.; KAMBOJ, S. S.; AGREWALA, J. N.; SINGH, J. A novel antiproliferative and antifungal lectin from *Amaranthus viridis* Linn seeds. **Protein and Peptide Letters**, v. 13, n. 9, p. 897-905, 2006.

KIDD, S. E.; ABDOLRASOULI, A.; HAGEN, F. Fungal Nomenclature: Managing Change is the Name of the Game. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 10, n. 8, 15 p., 2023.

KOBAYASHI, C. C. B. A.; FERNANDES, O. F. L.; MIRANDA, K. C.; SOUSA, E. D.; SILVA, M. R. R. Candiduria in hospital patients: A study prospective. **Mycopathologia**, v. 158, n. 1, p. 49-52, 2004.

KRISHNA, P. S.; NENAVATH, R. K.; RANI, S. S.; ANUPALLI, R. R. Cardioprotective action of *Amaranthus viridis* methanolic extract and its isolated compound Kaempferol through mitigating lipotoxicity, oxidative stress and inflammation in the heart. **3 Biotech**, v. 13, n. 9, 13 p., 2023.

KUMAR, B. S. A.; LAKSHMAN, K.; KN, J. Comparative antipyretic activity of methanolic extracts of some species of *Amaranthus*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 1, n. 1, p. 47-50, 2011.

KUMARI, S.; ELANCHERAN, R.; DEVI, R. Phytochemical screening, antioxidant, antityrosinase, and antigenotoxic potential of *Amaranthus viridis* extract. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 50, n. 3, p. 130-138, 2018.

LEE, Y.; PUUMALA, E.; ROBBINS, N.; COWEN, L. E. Antifungal drug resistance: molecular mechanisms in *Candida albicans* and beyond. **Chemical Reviews**, v. 121, n. 6, p. 3390-3411, 2021.

LIMA, G. M. E.; NUNES, M. O.; CHANG, M. R.; TSUJISAKI, R. A. S.; NUNES, J. O.; TAIRA, C. L.; THOMAZ, D. Y.; DEL NEGRO, G. M. B.; MENDES, R. P.; PANIAGO, A. M. M. Identification and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from the urine of patients in a university hospital in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 59, 8 p., 2017.

LIU, J.; DICKTER, J. K. Nosocomial infections: A history of hospital-acquired

infections. **Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America**, v. 30, p. 637-652, 2020.

LOCKHART, S. R.; ETIENNE, K. A.; VALLABHANENI, S.; FAROOQI, J.; CHOWDHARY, A.; GOVENDER, N. P.; COLOMBO, A. L.; CALVO, B.; CUOMO, C. A.; DESJARDINS, C. A.; BERKOW, E. L.; CASTANHEIRA, M.; MAGOBO, R. E.; JABEEN, K.; ASGHAR, R. J.; MEIS, J. F.; JACKSON, B.; CHILLER, T.; LITVINTSEVA, A. P. Simultaneous emergence of multidrug-resistant *Candida auris* on 3 continents confirmed by whole-genome sequencing and epidemiological analyses. **Clinical Infectious Diseases**, v. 64, n. 2, p. 134-140, 2017.

LOPES, A. P.; BAGATELA, B. S.; ROSA, P. C. P.; NANAYAKKARA, D. N. P.; CARVALHO, J. C. T.; MAISTRO, E. L.; BASTOS, J. K.; PERAZZO, F. F. Antioxidant and cytotoxic effects of crude extract, fractions and 4-nerolidylcatechol from aerial parts of *Pothomorphe umbellata* L. (*Piperaceae*). **BioMed Research International**, v. 2013, 5p., 2013.

MARKLEIN, G.; JOSTEN, M.; KLANKE, U.; MULLER, E.; HORRÉ, R.; MAIER, T.; WENZEL, T.; KOSTRZEWA, M.; BIERBAUM, G.; HOERAUF, A.; SAHL, H. G. Matrixassisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry for fast and reliable identification of Clinical Yeast Isolates. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, p. 2912-2917, 2009.

MARTINS, N.; BARROS, L.; SANTOS-BUELGA, C.; HENRIQUES, M.; SILVA, S.; FERREIRA, I. C. F. R. Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis* L. **Food Chemistry**, v. 170, p. 378- 385, 2015.

MCCARTY, T. P.; WHITE, C. M.; PAPPAS, P. G. Candidemia and invasive candidiasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 35, p. 389-413, 2021.

MENDOZA-REYES, D. F.; GÓMEZ-GAVIRIA, M.; MORA-MONTE, H. M. *Candida lusitanae*: Biology, Pathogenicity, Virulence Factors, Diagnosis, and Treatment. **Infection and Drug Resistance**, v. 15, p. 5121-5135, 2022.

MESSIER, C.; GRENIER, D. Effect of licorice compounds licochalcone A, glabridin and glycyrrhizic acid on growth and virulence properties of *Candida albicans*. **Mycoses**, v. 54, n. 6, p. 801-806, 2011.

MISHRA, M.; AGRAWAL, S.; RAUT, S.; KURHADE, A. M.; POWAR, R. M. Profile of yeasts isolated from urinary tracts of catheterized patients. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 8, p. 44-46, 2014.

NEGRELLE, R. R. B. *Renalmia* L.f.: Aspectos botânicos, ecológicos, farmacológicos e agrônômicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 2, p. 274-290, 2015.

NEUFELD, P. M.; MELHEM, M. S. C.; SZESZS, M. W.; RIBEIRO, M. D.; AMORIM, E. L. T.; SILVA, M.; LAZÉRA, 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.

NING, Y.; XIAO, M.; PERLIN, D. S.; ZHAO, Y.; LU, M.; LI, Y.; LUO, Z.; DAI, R.; LI, S.; XU, J.; LIU, L.; HE, H.; LIU, Y.; LI, F.; GUO, Y.; CHEN, Z.; XU, Y.; SUN, T.; ZHANG, L. Decreased echinocandin susceptibility in *Candida parapsilosis* causing candidemia and emergence of a pan-echinocandin resistant case in China. **Emerging Microbes & Infections**, v. 12, n. 1, 10 p., 2022.

NORMAND, A., GABRIEL, F.; RIAT, A.; CASSAGNE, C.; BOURGEOIS, N.; HUGUENIN, A.; CHAUVIN, P.; DE GEYTER, D.; BEXKENS, M.; RUBIO, E.; HENDRICKX, M.; RANQUE, S.; PIARROUX, R. Optimization of MALDI-TOF mass spectrometry for yeast identification: a multicenter study. **Medical Mycology**, v. 58, p. 639-649, 2020.

ODABASI, Z.; MERT, A. *Candida* urinary tract infections in adults. **World Journal of Urology**, v. 38, n. 11, p. 2699-2707, 2020.

OLIVEIRA, Maycon Guerra. **Aspectos epidemiológicos e da susceptibilidade aos antifúngicos de leveduras isoladas em pacientes hospitalizados sem e com COVID-19**. 2022. Dissertação (Mestrado em Saúde) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2022.

OSTROSKY-ZEICHNER, L.; CASADEVALL, A.; GALGIANI, J. N.; ODDS, F. C.; REX, J. H. An insight into the antifungal pipeline: selected new molecules and beyond. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 9, n. 9, p. 719-727, 2010.

OVIÑO, M.; RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, B. MALDI-TOF mass spectrometry in the 21st century clinical microbiology laboratory. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 39, n. 4, p. 192-200, 2021.

PADAWER, D.; PASTUKH, N.; NITZAN, O.; LABAY, K.; AHARON, I.; BRODSKY, D.; GLYATMAN, T.; PERETZ, A. Catheter-associated candiduria: Risk factors, medical interventions, and antifungal susceptibility. **American Journal of Infection Control**, v. 43, n. 7, p. 19-22, 2015.

PADOVEZE, M. C.; FORTALEZA, C. M. C. B. Infecções relacionadas à assistência à saúde: desafios para a saúde pública no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 48, n. 6, p. 995-1001, 2014.

PANAGODA, G. J.; ELLEPOLA, A. N. B.; SAMARANAYAKE, L. P. Adhesion of *Candida parapsilosis* to epithelial and acrylic surfaces correlates with cell surface hydrophobicity. **Mycoses**, n. 44, p. 29-35, 2001.

PAPPAS, P. G.; KAUFFMAN, C. A.; ANDES, D. R.; CLANCY, C. J.; MARR, K. A.; OSTROSKY-ZEICHNER, L.; REBOLI, A. C.; SCHUSTER, M. G.; VAZQUEZ, J. A.; WALSH, T. J.; ZAOUTIS, T. E.; SOBEL, J. D. Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 62, n. 4, p. 1-50, 2016.

PASTERNAK, J. Novas metodologias de identificação de micro-organismos:

MALDI- TOF. **Einstein**, v. 10, n. 1, p. 118-119, 2012.

PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J.; GIBBS, D. L.; NEWELL, V. A.; ELLIS, D.; TULLIO, V.; RODLOFF, A.; FU, W.; LING, T. A.; GLOBAL ANTIFUNGAL SURVEILLANCE GROUP. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-Year Analysis of Susceptibilities of *Candida* Species to Fluconazole and Voriconazole as Determined by CLSI Standardized Disk Diffusion. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 4, p. 1366-1377, 2010.

PINTO, A.; HALLIDAY, C.; ZAHRA, M.; VAN HAL, S.; OLMA, T.; MASZEWSKA, K.; IREDELL, J. R.; MEYER, W.; CHEN, S. C. A. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry Identification of Yeasts Is Contingent on Robust Reference Spectra. **PLoS ONE**, v. 6, n. 10, p. 118-119, 2011.

POLLY, M.; ALMEIDA B. L.; LENNON, R. P.; CORTES, M. F.; COSTA, S. F.; GUIMARAES, T. Impact of the COVID-19 pandemic on the incidence of multidrugresistant bacterial infections in an acute care hospital in Brazil. **American Journal of Infection Control**, v. 50, p. 32-38, 2022.

PONGRÁCZ, J.; JUHÁSZ, E.; IVÁN, M.; KRISTÓF, K. Significance of yeasts in bloodstream infection: epidemiology and predisposing factors of candidaemia in adult patients at a university hospital (2010–2014). **Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica**, v. 62, n. 3, p. 317-329, 2015.

RANGASAMY, O.; RAOELISON, G.; RAKOTONIRIANA, F. E.; CHEUK, K.; URVERG-RATSIMAMANGA, S.; QUETIN-LECLERCQ, J.; GURIB-FAKIM, A.; SUBRATTY, A. H. Screening for anti-infective properties of several medicinal plants of the Mauritian flora. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, p. 331-337, 2007.

RANGEL, Ellen Tanus. **Atividade antiprotozoária, antifúngica e citotóxica de extratos de plantas do bioma Cerrado, com ênfase em *Leishmania (Leishmania) chagasi***. 2010. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2010.

RIOS, J. L.; RECIO, M. Medicinal plants and antimicrobial plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 80-84, 2005.

RODRIGUES, E. R.; NOGUEIRA, N. G. P.; ZOCOLO, G. J.; LEITE, F. S.; JANUARIO, A. H.; FUSCO-ALMEIDA, A. M.; FACHIN, A. L.; MARCHI, M. R. R.; SANTOS, A. G.; PIETRO, R. C. L. R. *Pothomorphe umbellata*: Antifungal activity against strains of *Trichophyton rubrum*. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 22, n. 3, p. 265-269, 2012.

ROERSCH, C. M. *Piper umbellatum* L.: a comparative cross-cultural analysis of its medicinal uses and an ethnopharmacological evaluation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 131, p. 522-537, 2010.

ROQUE, L.; DUARTE, N.; BRONZE, M. R.; GARCIA, C.; ALOPAEUS, J.; MOLPECERES, J.; HAGESAETHER, E.; THO, I.; RIJO, P.; REIS, C. Development of a bioadhesive nanoformulation with *Glycyrrhiza glabra* L. extract against *Candida*

albicans. **Biofouling**, v. 34, n. 8, p. 880-892, 2018.

SAEEDI, M.; MORTEZA-SEMNANI, K.; MAHDAVI, M. R.; RAHIMI, F. Antimicrobial Studies on Extracts of Four Species of *Stachys*. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 70, p. 403-406, 2008.

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

SANTOS, C.; LIMA, N.; SAMPAIO, P.; PAIS, C. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight intact cell mass spectrometry to detect emerging pathogenic *Candida* species. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 71, p. 304-308, 2011.

SARDI, J. C. O.; SCORZONI, L.; BERNARDI, T.; FUSCO-ALMEIDA, A. M.; MENDES GIANNINI, M. J. S. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. **Journal of Medical Microbiology**, v. 62, p. 10-24, 2013.

SARIS, K.; MEIS, J. F.; VOSS, A. *Candida auris*. **Current opinion in infectious diseases**, v. 31, n. 4, p. 334-340, 2018.

SELEEM, D.; BENSO, B.; NOGUTI, J.; PARDI, V.; MURATA, R. M. *In vitro* and *in vivo* antifungal activity of Lichochalcone-A against *Candida albicans* biofilms. **PLoS ONE**, v. 11, n. 6, p. 1-17, 2016.

SETH-SMITH, H. M. B.; BÜCHLER, A. C.; HINIC, V.; MEDINGER, M.; WIDMER, A. F.; EGLI, A. Bloodstream infection with *Candida kefyr*/*Kluyveromyces marxianus*: case report and draft genome. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 26, p. 522-524, 2020.

SILVA, Fernanda Melo. **Potencial antifúngico de extratos de plantas medicinais do cerrado brasileiro**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

SILVA, S.; NEGRI, M.; HENRIQUES, M.; OLIVEIRA, R.; WILLIAMS, D. W.; AZEREDO, J. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. **Federation of European Microbiological Societies**, v. 36, p. 288-305, 2012.

SILVA, S.; NEGRI, M.; HENRIQUES, M.; OLIVEIRA, R.; WILLIAMS, D.; AZEREDO, J. Silicone colonisation by non-*Candida albicans* *Candida* species in the presence of urine **Journal of Medical Microbiology**, n. 59, p. 747-754, 2010.

SINGULANI, J. L.; SILVA, D. L.; LIMA, C. M.; MAGALHÃES, V. C. R.; BALTAZAR, L. M.; MOURA, A. S. · SANTOS, A. R. O.; FERRETTI, T.; MARTINS, J. C.; RABELO, L. F.; LYON, A. C.; MARTINS-FILHO, O. A.; JOHANN, S.; PERES, N. T. A.; REIS, J. G. A. C.; SANTOS, D. A. COVID-19 and candiduria: an investigation of the risk factors and immunological aspects. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 54, p.

1783–1793, 2023.

SOARES, A. K. C.; SOUSA-JÚNIOR, A. D.; LORENÇONI, M. F.; CASTRO, J. A.; PORTO, F. V. A.; PESSOA, I. S.; SILVA, M. V. T.; PEREIRA, A. C. H.; MORAES, F. S. A.; ANDRADE, T. U.; ENDRINGER, D. C.; SCHERER, R.; BARTH, T.; FRONZA, M. In vitro and in vivo anti-inflammatory activity and chemical composition of *Renalmia petasites* Gagnep. **Inflammopharmacology**, v. 29, p. 451-465, 2021.

SPENCER, A. L. R.; SPENCER, J. F. T. **Public Health Microbiology: Methods and Protocols**. 1st edition. New Jersey: Human Press Inc., 2004.

SPILIOPOULOU, A.; KOLONITSIOU, F.; VRIONI, G.; TSOUPRA, S.; LEKKOU, A.; PALIOGIANNI, F. Invasive *Candida kefyr* infection presenting as pyelonephritis in an ICU hospitalized COVID-19 patient: Case report and review of the literature. **Journal of Medical Mycology**, v. 32, n. 2; p. 1-5, 2022.

SPONCHIADO, E. C.; PEREIRA, J. V.; PEREIRA, J. O.; FRANÇA, S. C. *Pothomorphe umbellata* (Caapeba). **Revista Fitos**, v. 3, n. 1; p. 31-37, 2007.

SPONCHIADO, E. C.; PEREIRA, J. V.; MARQUES, A. A. F.; GARCIA, L. F. R.; FRANÇA, S. C. In vitro assessment of antimicrobial activity of *Pothomorphe umbellata* extracts against *Enterococcus faecalis*. **Indian Journal of Dental Research**, v. 25, n. 1, p. 64-68, 2014.

SUNDARARAJAN, A.; RANE, H. S.; RAMARAJ, T.; SENA, J.; HOWELL, A. B.; BERNARDO, S. M.; SCHILKEY, F. D.; LEE, S. D. Cranberry-derived proanthocyanidins induce a differential transcriptomic response within *Candida albicans* urinary biofilms. **PLoS ONE**, v. 13, n. 8, p. 1-17, 2018.

THOMPSON III, G. R.; SORIANO, A.; HONORE, P. M.; BASSETTI, M.; CORNELLY, O. A.; KOLLEF, M.; KULLBERG, B. J.; PULLMAN, J.; HITES, M.; FORTÚN, J.; HORCAJADA, J. P.; KOTANIDOU, A.; DAS, A. F.; SANDISON, T.; ARAM, J. A.; VAZQUEZ, J. A.; PAPPAS, P. G. Efficacy and safety of rezafungin and caspofungin in candidaemia and invasive candidiasis: pooled data from two prospective randomised controlled trials. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 24, n. 3, p. 319-328, 2024.

VAN DINTEREN, S.; MEIJERINK, J.; WITKAMP, R.; VAN IEPEREN, B.; VINCKEN, J.; ARAYA-CLOUTIER, C. Valorisation of liquorice (*Glycyrrhiza*) roots: antimicrobial activity and cytotoxicity of prenylated (iso)flavonoids and chalcones from liquorice spent (*G. glabra*, *G. inflata*, and *G. uralensis*). **Food & Function**, v. 13, p. 12105-12120, 2022.

WANG, K.; HSUEH, K.; KRONEN, R.; LIN, C.; SALAZAR, A. S.; POWDERLY, W. G.; SPEC, A. Creation and assessment of a clinical predictive model for candidemia in patients with candiduria. **Mycoses**, v. 62, n. 7, p. 554-561, 2019.

WEINER-LASTINGER, L. M.; ABNER, S.; EDWARDS, J. R.; KALLEN, A. J.; KARLSSON, M.; MAGILL, S.; POLLOCK, D.; SEE, I.; SOE, M. M.; WALTERS, M. S.; DUDECK, M. A. Antimicrobial-resistant pathogens associated with adult healthcare-

associated infections: Summary of data reported to the National Healthcare Safety Network, 2015–2017. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 41, n. 1, p. 1-18, 2020.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action**. Geneva, 2022.

YANG, R.; YUAN, B. C.; MA, Y. S.; ZHOU, S.; LIU, Y. The anti-inflammatory activity of licorice, a widely used Chinese herb. **Pharmaceutical Biology**, v. 55, n. 1, p. 5-18, 2017.

ZHOU, B.; WAN, C. Phenolic constituents from the aerial parts of *Glycyrrhiza inflata* and their antibacterial activities. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 17, n. 3, p.256-261, 2015.