

DANIELLE FERREIRA LONCHIATI
LUANA MIRELI CARBONERA RODRIGUES

AVALIAÇÃO DE FATORES DE VIRULÊNCIA DE ESPÉCIES DE CANDIDA
ISOLADAS EM PACIENTES HOSPITALARES

Dourados – MS

2013

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado no curso de Ciências Biológicas, na
Universidade Federal da Grande Dourados -
UFGD.

Orientador: Kelly Mari Pires de Oliveira

DANIELLE FERREIRA LONCHIATI
LUANA MIRELI CARBONERA RODRIGUES

AVALIAÇÃO DE FATORES DE VIRULÊNCIA DE ESPÉCIES DE CANDIDA
ISOLADAS EM PACIENTES HOSPITALARES

Monografia apresentada em 16/04/2013 para obtenção do título de Licenciada em Ciências
Biológicas.

Banca Examinadora:

Kelly Mari Pires de Oliveira

Adriana Araújo de Almeida

Flávia Patussi Correia Sacchi

Avaliação de fatores de virulência de espécies de *Candida* isoladas em pacientes hospitalares

D.F. LONCHIATI¹, L.M.C. RODRIGUES²

Universidade Federal da Grande Dourados. Rodovia Dourados - Itaum, km 12. Dourados-MS.

Email¹: dani_lonchiati@hotmail.com , Email²: luanamirelli@hotmail.com

Resumo

De comensal a importante agente de infecções, o gênero *Candida* se converteu em sério problema de saúde pública. *C. albicans* é a espécie mais frequentemente descrita, seguida de *C. tropicalis*. Espécies de *Candida* podem corromper o organismo hospedeiro com formação de biofilmes e secreção de enzimas hidrolíticas. O trabalho objetivou verificar a ocorrência de isolados de *Candida spp.* em pacientes hospitalizados e avaliar seus fatores de virulência. A pesquisa foi realizada entre Junho/2010 a Março/2012, no Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados. Foram isolados 60 amostras de *Candida*. A avaliação de crescimento em altas temperaturas foi realizada em ágar Sabouraud; para fosfolipase foi utilizado ágar gema de ovo; para proteinases foi utilizado Bacto-Ágar acrescido de albumina de soro bovina, extrato de levedura e carbono base. Ágar Sabouraud dextrose com sangue de ovelha e glucose foi utilizada para atividade hemolítica. A produção de biofilme foi avaliada através de caldo Sabouraud Dextrose com glicose a 8%. A espécie e a cultura predominante foi *C. tropicalis* e urocultura. Em relação à atividade hemolítica, 95% das amostras analisadas apresentaram atividade enzimática fortemente positiva e 5% apresentaram-se positivamente. Para o teste de fosfolipase, 93,33% apresentaram resultado fortemente positivo, e 6,66% positivo. Para o teste de proteinase, 66,66% das amostras apresentaram resultado fortemente positivo, 13,33% positivo e 20% amostras não apresentaram produção enzimática. Todos os isolados de *Candida* analisados apresentaram produção de biofilme fortemente positiva; inferindo na necessidade de mais estudos para o controle e prevenção de infecções hospitalares causadas por estas leveduras.

Palavras-chaves

Leveduras, Enzimas hidrolíticas, atividade hemolítica, biofilme

Introdução

O ambiente hospitalar seleciona agentes infecciosos resistentes em decorrência do uso indiscriminado de antimicrobianos e por reunir pessoas com diferentes vulnerabilidades à infecção. A intensa realização de procedimentos invasivos, também o caracteriza como um ambiente favorável à propagação das infecções hospitalares (IH) (2) (8).

As infecções hospitalares causadas por fungos tem-se constituído num problema crescente de saúde pública em muitos países. De comensal a importante agente de infecções, o gênero *Candida* se converteu em sério problema de saúde pública (8).

C. albicans é a espécie mais frequentemente descrita em casos de infecções hospitalares em vários países. Entretanto, outras espécies como *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, e *C. glabrata* também apresentam alta prevalência nos estudos realizados em todo o mundo. Estudos epidemiológicos realizados no Brasil mostram que as espécies mais prevalentes são *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* (7) (4).

A predominância de espécies de *Candida* não-*Candida albicans* (CNCA) foram relatadas em estudos, como em Mujika *et al.*, (2004) e Mohandas e Ballal (2011). De acordo com levantamentos epidemiológicos recentes, *Candida tropicalis* tem sido a mais comum entre espécies de CNCA.

Candidemia é a quarta infecção mais comum nos Estados Unidos e sua incidência está aumentando entre os pacientes imunocomprometidos (23). *Candida albicans* é responsável por cerca de 50% a 60% de todas as candidemias diagnosticadas, seguida de *C. parapsilosis* (10% a 20%) e *C. tropicalis* (6% a 7%) (1).

Diante da preocupação da patogenicidade das espécies de *Candida* presentes no ambiente hospitalar, tem sido desenvolvidas pesquisas relacionadas com os seus fatores de virulência, a fim de estabelecer estratégias de controle com antifúngicos e prevenção de infecções.

Quando ocorre a infecção *in vivo*, espécies de *Candida* podem usar diversas estratégias para corromper o organismo hospedeiro, como a formação de biofilmes e secreção de enzimas hidrolíticas. A formação de um biofilme auxilia na proteção do meio ambiente, na disponibilidade de nutrientes, cooperação metabólica, e aquisição de novas características genéticas (13).

A produção de proteinase é vantajosa para o micro organismo, pois aumenta a capacidade do organismo de colonizar e penetrar tecidos e invadir o sistema imune do hospedeiro (5). Já as enzimas fosfolipase estão associadas com os danos da membrana das células hospedeiras, a adesão e a penetração (13).

A propriedade de multiplicação a altas temperaturas, como 39°C e 42°C, é uma característica associada com a patogenicidade em humanos, pois são temperaturas comuns em imunodeprimidos (estado febril). A atividade hemolítica também é conhecida por ser fator de virulência e contribuir para patogenicidade em espécies de *Candida*.

Nesta perspectiva, o presente trabalho teve por objetivo verificar a ocorrência de isolados de *Candida spp.* em pacientes hospitalizados e avaliar os fatores de virulência presentes nessas leveduras.

Materiais e métodos

A pesquisa foi realizada no período de Junho de 2010 a Março de 2012, no Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Foram isolados 60 amostras de *Candida*, provenientes de urocultura, hemocultura, ponta de cateter, secreção traqueal, vaginal e retal e swabs nasal, retal e de orofaringe. As leveduras identificadas presuntivamente no cromogênio CHROMagar *Candida*® (Difco) foram armazenadas em caldo Sabouraud (Himedia) acrescido de glicerol (20%).

A identificação fenotípica foi realizada através do microcultivo das leveduras, utilizando o meio Agar Corn Meal (Agar fubá com Tween 80) (20), assim a identificação foi feita pela análise da micromorfologia da levedura. Para a confirmação de *Candida albicans* foi realizado o teste de produção de tubo germinativo e clamidósporos (6).

A avaliação de crescimento em altas temperaturas foi realizada com a inoculação do isolado, com turvação ajustada ao tubo 1 da escala de Mc Farland, em ágar Sabouraud. As placas foram incubadas a 39°C e 42°C por 72h. O teste foi realizado em duplicata, realizando-se uma média dos valores; o resultado foi considerado positivo quando crescimento da levedura.

Para avaliação da produção de fosfolipase, suspensões de leveduras (turvação tubo 1 da escala Mc Farland) foram inoculadas em placas de Petri contendo ágar gema de ovo e incubadas a 37°C por 48 horas, então foi determinado o diâmetro da zona de precipitação em torno da colônia. A atividade de fosfolipase e atividade enzimática foram expressas como a razão entre o diâmetro da colônia para o diâmetro da colônia mais a zona de precipitação (em mm) (15). Os resultados são apresentados em código sendo o valor - quando $PZ=1,0$ (sem atividade enzimática), valor + quando $0,63 < PZ < 1,0$ (atividade enzimática moderada) e valor ++ quando $PZ < 0,63$ (forte atividade enzimática) (17). O teste foi realizado em duplicata em três momentos diferentes e o resultado foi obtido a partir da média dos testes.

A avaliação da produção de proteinases foi testada utilizando placas contendo Bacto-Ágar acrescido de albumina de soro bovina, extrato de levedura e carbono base. Após a inoculação (a turvação foi ajustada ao tubo 1 da escala de Mc Farland) as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas (3). A atividade de proteinase foi expressa como a razão entre o diâmetro da colônia para o diâmetro da colônia mais a zona de precipitação (em mm) (15). Para tanto, as atividades enzimáticas (PZ) foram medidas dividindo-se o diâmetro da colônia pelo diâmetro da colônia somado à zona de precipitação. Os resultados são apresentados em código sendo o valor 1 quando $PZ=1,0$ (sem atividade enzimática), valor 2 quando $0,63 < PZ < 1,0$ (atividade enzimática moderada) e valor 3 quando $PZ < 0,63$ (forte atividade enzimática) (17). Cada isolado foi testado em duplicata em três ocasiões diferentes e o valor foi calculado a partir da média dos resultados.

Placas com ágar Sabouraud dextrose enriquecido com sangue de ovelha e glucose foram utilizadas para a avaliação da atividade hemolítica. As placas inoculadas com a suspensão da levedura (turvação tubo 1 na escala de Mc Farland) foram incubadas a 37°C por 48 horas (10). A atividade hemolítica foi expressa como a razão entre o diâmetro da colônia para o diâmetro da colônia mais a zona de precipitação (em mm) (15). Para tanto, as atividades enzimáticas (PZ) foram medidas dividindo-se o diâmetro da colônia pelo diâmetro da colônia somado à zona de precipitação. Os resultados são apresentados em código sendo o valor 1 quando $PZ=1,0$ (sem atividade enzimática), valor 2 quando $0,63 < PZ < 1,0$ (atividade enzimática moderada) e valor 3 quando $PZ < 0,63$ (forte atividade enzimática) (17). O teste foi realizado em duplicata em três momentos distintos e os resultados são apresentados pelas médias.

A produção de biofilme foi avaliada através da inoculação de 20 µL da suspensão de leveduras (ajustada ao tubo 4 da escala de Mc Farland) em microplacas de poliestireno (TPP) com caldo Sabouraud Dextrose suplementado com glicose a 8%. As placas foram incubadas com baixa agitação (3.000 rpm) a 35°C por 24 horas, e a leitura foi realizada em um leitor de microplacas ELISA (Thermo Plate) com comprimento de onda de 450 nm. Os resultados foram convertidos de absorbância para transmitância, do valor obtido subtraímos 100, chegando ao valor de x; quando $x < 5 =$ negativa, x 5 a 20 = 1+, x 20 a 35 = 2+, x 35 a 50 = 3+, $x > 50 =$ 4+ (18). O teste foi realizado em quadruplicata.

Resultados

Dos 60 isolados analisados 28 foram *C. tropicalis* (46,66%), 18 *C. albicans* (30%), 11 *C. glabrata* (18,34%) e 3 *C. krusei* (5%), dentre as quais 29 foram provenientes de urocultura

(48,33%), 10 de secreções em geral (16,66%), 9 de swab nasal (15%), 8 de swab retal (13,33%), 2 de hemocultura (3,34%), 1 de ponta de cateter (1,67%) e 1 de swab de orofaringe (1,67%). Em todos os isolados analisados, a espécie predominante foi *C. tropicalis*, com 11 amostras (37,93%) em uroculturas, 7 amostras em swab retal (87,5%), 5 amostras (50%) em secreções, 3 amostras em swab nasal (33,33%), 2 amostras (100%) em hemocultura e 1 amostra (100%) em ponta de cateter (Tabela 1).

Em relação à atividade hemolítica, 57 isolados (95%) apresentaram atividade enzimática fortemente positiva e 3 isolados (5%) apresentaram-se positivamente. Dos isolados positivos dois foram de *C. albicans* (urocultura e swab nasal) e um foi *C. glabrata* (urocultura) (Tabelas 2 e 3).

Para o teste de fosfolipase, 56 (93,33%) apresentaram resultado fortemente positivo, e 4 (6,66%) positivo, as quais foram amostras de *C. albicans* (urocultura), *C. glabrata* (urocultura), *C. albicans* (swab nasal) e *C. glabrata* (swab nasal). Para o teste de proteinase, 40 amostras (66,66%) apresentaram resultado fortemente positivo, 8 (13,33%) positivo (amostras de *C. albicans* (urocultura, swab nasal e de orofaringe) e *C. tropicalis* (secreção traqueal, swab retal e nasal)) e 12 (20%) amostras não apresentaram produção enzimática (*C. albicans* em swab nasal, *C. tropicalis* em swab retal e nasal, *C. glabrata* em swab nasal e retal e *C. krusei* em swab retal). Foi observado que as amostras oriundas de swabs retal e nasal foram as únicas amostras que apresentaram ausência de produção de proteinase (Tabelas 2 e 3).

Todos os isolados de *Candida* analisados apresentaram crescimento em altas temperaturas e produção de biofilme fortemente positiva. Os resultados obtidos indicaram a capacidade em produzir biofilme em superfícies abióticas das espécies de *Candida* isoladas de pacientes internados, sendo um fator relevante no estabelecimento da infecção fúngica.

Discussão

Infecções da corrente sanguínea por *Candida* spp. apresentam mortalidade elevada e são responsáveis pelo aumento dos custos hospitalares (1). Além disso, a colonização por *Candida* spp. provou ser um fator de risco independente para a infecção invasiva por *Candida* e candidemia, principalmente em Unidades de Terapia Intensiva (UTI's) (11).

A identificação fenotípica foi realizado utilizando o teste de produção de tubo germinativo e clamidósporos, que são testes rápido, simples, econômico e padrão para identificar *C. albicans* (95-97%), envolvendo a indução de crescimento de hifas (tubos germinativos) de leveduras cultivadas em soro por 2-4 horas a 37°C (6).

A predominância de espécies não-*albicans* observada no presente trabalho também foi evidenciada em outros estudos, como em Mujika *et al.*, (2004) e Mohandas e Ballal (2011). De acordo com levantamentos epidemiológicos recentes, *Candida tropicalis* tem sido a mais comum entre espécies não-*albicans*, como apresentado neste estudo.

Uma característica associada com a patogenicidade em humanos é a propriedade de multiplicação em altas temperaturas, como 39°C e 42°C (16), pois são temperaturas que indicam estado debilitado (febril) do organismo hospedeiro, e esse crescimento foi observado em todas as amostras analisadas, o que indica um possível desenvolvimento de candidíase em paciente imunologicamente comprometido. A atividade hemolítica também é conhecida por ser fator de virulência e contribuir para patogenicidade em espécies de *Candida*. Rorig *et al* (2009) observaram maior produção de atividade hemolítica em *C. albicans*, no entanto esta relação não pode ser feita, pois duas amostras de *C. albicans* e uma *C. glabrata* apresentaram menor crescimento, porém o número é pouco significativo para uma comparação.

A capacidade de formar biofilmes é associada com a patogenicidade, e deve ser considerado como um importante determinante de virulência. A formação de biofilmes é importante para o desenvolvimento de infecção clínica, pois garantem diversas vantagens para os micro-organismos envolvidos, como proteção do meio, disponibilidade de nutrientes, cooperação metabólica e aquisição de novas características genéticas. Além disso, os biofilmes servem de nicho para os agentes patogênicos e estão associados a altos níveis de resistência a agentes antimicrobianos. Consequentemente, as infecções relacionadas com biofilme são difíceis de tratar (13).

Estudos têm indicado que células do biofilme estabelecidas em materiais implantados podem ser liberadas para a corrente sanguínea, o que favorece o estabelecimento da infecção e aumenta a resistência à terapia antifúngica e à resposta imune do hospedeiro (16). Ainda, um estudo de coorte retrospectivo revelou uma maior taxa de mortalidade em pacientes infectados por isolados de *Candida* produtores de biofilme do que em pacientes infectados por isolados não produtores, indicando que a formação de biofilme é um fator preditivo de mortalidade (22). Diante desse quadro, ressaltamos a importância dos valores encontrados nesta pesquisa em relação à positividade de todas as amostras perante ao teste do biofilme, o que acaba se concretizando como o principal resultado do trabalho.

Em relação a positividade de biofilme, Mohandas e Ballal (2011) encontraram maior frequência em isolados de *C. krusei*, seguida por *C. tropicalis*, *C. glabrata*, e *C. albicans*, descreveram ainda uma fraca produção de biofilme por espécies de *Candida albicans*, indicando que essa produção é mais importante para espécies de *Candida* não *Candida-*

albicans. Outros autores encontraram que isolados de *C. glabrata* são mais predispostos a produzir biofilme. Porém, neste estudo, a produção de biofilme não está relacionada à espécie e nem a amostra clínica, uma vez que não houve diferenças significativas na produção de biofilme (todas as amostras apresentaram produção fortemente positiva).

Proteinases são secretadas por espécies patogênicas de *Candida* durante a infecção *in vivo* e são responsáveis pelo dano tecidual, adesão e invasão, além de adiar a resposta imune do hospedeiro. Proteinases cumprem uma série de funções especiais durante o processo infeccioso, que incluem moléculas de digestão para a aquisição de nutrientes, digestão de membranas hospedeiras e adesão celular para facilitar a invasão, e digerir células e moléculas do sistema imunológico do hospedeiro, evitar ou resistir ao ataque antimicrobiano pelo anfitrião (11). Estudo dos autores citados e de Rorig *et al.* (2009), indicam que *C. albicans* possuem maior capacidade de produção destas enzimas, no entanto essa correlação não foi evidenciada neste trabalho, no qual amostras de *C. albicans*, assim como de *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. krusei* tiveram uma menor produção dessa enzima.

Estudos sobre a produção de fosfolipases (9) (13) também indicam que essa produção é maior entre *Candida albicans*, sugerindo que estes mecanismos são mais importantes para esta espécie do que para espécies não-*albicans*, porém, nos testes realizados não foi observada tal relação, pois as menores taxas de produção de fosfolipase foram encontradas em duas amostras de *C. albicans* e duas não-*albicans* (*C. glabrata*). Já Tamura *et al.*, (2007), observou uma maior produção tanto de proteinases quanto de fosfolipases em espécies não-*albicans*. Enzimas fosfolipases estão associadas com os danos da membrana das células hospedeiras, a adesão e a penetração, portanto estudos relacionados com fatores de virulência de agentes infecciosos são de grande importância para o desenvolvimento de estratégias de prevenção e controle de infecções hospitalares.

O resultado interessante obtido nesse estudo foi em relação ao teste de proteinase, no qual foi observado que as amostras oriundas de swabs retal e nasal (colonização) foram as únicas amostras que apresentaram ausência de produção de proteinase, o que infere em uma menor virulência dessas amostras em comparação a amostras provindas de culturas de infecção. A literatura mostra que entre todos os pacientes admitidos na UTI, aqueles que foram colonizados apresentam maior probabilidade de acometimento por doença fúngica invasiva após a progressão de colonização para disseminação sistêmica (12).

Conforme os dados apresentados, a virulência das espécies de *Candida* isoladas de pacientes hospitalizados em relação a esses fatores foi fortemente evidenciada, o que infere na necessidade de mais estudos sobre patogenicidade e virulência para o controle e prevenção de

infecções hospitalares causadas por estas leveduras, visto a ação desses fatores no organismo do hospedeiro.

Agradecimentos

À mestre e responsável pelo laboratório de microbiologia do HU-UFGD, pela coleta das amostras, Flávia Patussi, à orientadora Kelly Mari Pires de Oliveira e a mestre Adriana Araújo de Almeida pelo apoio.

Bibliografia

1. ALFONSO C, LÓPEZ M, ARECHAVALA A, PERRONE MC, GUELFAND L, BIANCHI M. Identificación presuntiva de *Candida* spp. y de otras leveduras de importância clínica: utilidad de Brilliance *Candida* Agar. *Rev Iberoam Micol* 27: 90-93, 2010.
2. APPOLINÁRIO RS. Absenteísmo na equipe de enfermagem: análise da produção científica. *Rev enferm UERJ*. 2008; 16: 83-7.
3. CASSONE A, DE BERNARDIS F, MONDELLO F, CEDDIA T, AGATENSI L. Evidence for a correlation between proteinase secretion and vulvovaginal candidosis. *J Infect Dis* 1987; 156: 777– 83.
4. COSTA-DE-OLIVEIRA S, PINA-VAZ C, MENDONÇA D, GONÇALVES R. A first Portuguese epidemiological survey of fungaemia in a university hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2008) 27:365-374. Springer-Verlag 2008.
5. CUTLER JE. Putative virulence factors of *Candida albicans*. *Annu Rev Microbiol* 1991;45:187-218.
6. DE CARVALHO FG, SILVA DS, HEBLING J, SPOLIDORIO LC, SPOLIDORIO DMP. Presence of mutans streptococci and *Candida*spp. in dental plaque/dentine of carious teeth and early childhood caries, *Arch Oral Biol*. 2006;51(11): 1024-8.
7. FERNANDES ACS, SOUSA FCJ, OLIVEIRA SM, CALICH L, MILAN EP. Prevalence of *Candida* species in umbilical catheters implanted in newborns in Natal, Brazil. *Braz. J. Microbiol*. 38(1) São Paulo. 2007.
8. FURLANETO-MAIA L, SPECIAN AFL, THORN DSW, OLIVEIRA MT, FURLANETO MC. Estudo da incidência de amostras clínicas do gênero *Candida* isoladas de diversos sítios anatômicos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. *Acta Sci Health Sci*; Maringá, 29(1): 33-37, 2007.

9. IBRAHIM AS, MIRBOD F, FILLER SG, BANNO Y, COLE GT, KITAJIMA Y, *et al.* Evidence implicating phospholipase as a virulence factor of *Candida albicans*. *Infect Immun* 1995;63:1993-8.
10. LUO G, SAMARANAYAKE LP, YAU JYY. *Candida* species exhibit differential *in vitro* hemolytic activities. *J Clin Microbiol* 2001; 39:2971-2974.
11. MANZONI P, BENJAMIN DK, HOPE W, RIZZOLLO S, DEL SORDO P, STRONATI M, *et al.* The management of *Candida* infections in preterm neonates and the role of micafungin. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2011;24:24-7.
12. MANZONI P, MOSTERT M, JACQZ-AIGRAIN E, STRONATI M, FARINA D. Colonização por *Candida* no berçário. *J. Pediatr. (Rio J.)* vol.88 no.3 Porto Alegre May/June 2012. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0021-75572012000300001&script=sci_arttext. Acesso em: 28/08/12
13. MOHANDAS V, BALLAL M. Distribution of *Candida* species in different clinical samples and their virulence: biofilm formation, proteinase and phospholipase production: a study on hospitalized patients in Southern India. India, 2011.
14. MUJKA MT, FINQUELIEVICH JL, JEWTUCHOWICZ V, IOVANNITTI CA. Prevalence of *Candida albicans* and *Candida non-albicans* in clinical samples during 1999-2001. *Rev Argent Microbiol* 2004;36:107-12.
15. PRICE MF, WILKINSON ID, GENTRY LO. Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia*, v. 20, p. 7-14, 1982.
16. RAMAGE G, MARTINEZ JP, LOPEZ-RIBOT JL. *Candida* biofilms on implanted biomaterials: a clinically significant problem. *FEMS Yeast Res* 2006; 6(7): 979-86.
17. RORIG KO, COLACITE J, ABEGG MA. Produção de fatores de virulência *in vitro* por espécies patogênicas do gênero *Candida*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* vol.42 no. 2 Uberaba Mar./Apr. 2009.
18. SAMARANAYAKE YH, DASSANAYAKE RS, JAYATILAKE JA, CHEUNG BP, YAU JY, YEUNG KW, *et al.* Phospholipase B enzyme expression is not associated with other virulence attributes in *Candida albicans* isolates from patients with human immunodeficiency virus infection. *J Med Microbiol* 2005;54:583-93.
19. SHIN JH, KEE SJ, SHIN MG, KIM SH, SHIN DH, LEE SK, *et al.* Biofilm production by isolates of *Candida* species recovered from nonneutropenic patients: Comparison of blood stream isolates from other sources. *J Clin Microbiol* 2002;40:1244-8.
20. SULLIVAN D, COLEMAN D. *Candida dubliniensis*: characteristics and identification. *J Clin Microbiol.* 1998; 36(2): 329-334.

21. TAMURA NK, NEGRI MFN, BONASSOLI LA, SVIDZINSKI TIE. Fatores de virulência de *Candida* spp. isoladas de cateteres venosos e mãos de servidores hospitalares. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 40:91-93, 2007.
22. TUMBARELLO M, POSTERARO B, TRECARCHI EM, FIORI B, ROSSI M, PORTA R, *et al.* Biofilm production by *Candida* species and inadequate antifungal therapy as predictors of mortality for patients with candidemia. *J Clin Microbiol* 2007; 45(6): 1843-50.
23. ZAAS AK, AZIZ H, LUCAS J, PERFECT JR, GINSBURG GS. Blood Gene Expression Signatures Predict invasive candidiasis. *Sci Transl Med* 2: 1-10, 2010.

Tabela 1: Resultados obtidos da relação de amostras clínicas e espécies

Espécie	Urocultura	Secreções	Swab nasal	Hemocultura	Swab retal	Swab de orofaringe	Ponta de cateter	Valor total de espécies
<i>C. tropicalis</i>	11 (37,93%)	5 (50%)	3 (33,33%)	2 (100%)	6 (75%)	0 (0%)	1 (100%)	28 (46,66%)
<i>C. albicans</i>	9 (31,03%)	4 (40%)	4 (4,44%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)	18 (30%)
<i>C. glabrata</i>	8 (27,58%)	0 (0%)	2 (22,23%)	0 (0%)	1 (12,50%)	0 (0%)	0 (0%)	11 (18,34%)
<i>C. krusei</i>	1 (3,44%)	1 (10%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (12,50%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (5%)
Valor total das culturas	29 (48,33%)	10 (16,66%)	9 (15%)	2 (3,34%)	8 (13,33%)	1 (1,67%)	1 (1,67%)	60 amostras (100%)

Tabela 2: Resultados obtidos dos testes de fatores de virulência, em comparação dos valores com as amostras clínicas

Teste	Fosfolipase			Proteinase			Atividade hemolítica		
	++ ¹	+ ²	- ³	++	+	-	++	+	-
Amostra clínica									
Urocultura	27	2	0	28	1	0	27	2	0
Secreções	10	0	0	9	1	0	10	0	0
Hemocultura	2	0	0	2	0	0	2	0	0
Ponta de cateter	1	0	0	1	0	0	1	0	0
Swab nasal	7	2	0	0	3	6	8	1	0
Swab retal	8	0	0	0	2	6	8	0	0
Swab de orofaringe	1	0	0	0	1	0	1	0	0

Tabela 3: Resultados obtidos dos testes de fatores de virulência, em comparação dos valores com as espécies

Teste	Fosfolipase			Proteinase			Atividade hemolítica			Biofilme			Altas temperaturas	
	++ ¹	+ ²	- ³	++	+	-	++	+	-	++	+	-	+	-
<i>C. tropicalis</i>	28	0	0	18	4	6	28	0	0	28	0	0	28	0
<i>C. albicans</i>	16	2	0	12	4	2	16	2	0	18	0	0	18	0
<i>C. glabrata</i>	9	2	0	8	0	3	10	1	0	11	0	0	11	0
<i>C. krusei</i>	3	0	0	2	0	1	3	0	0	3	0	0	3	0

¹ Atividade enzimática fortemente positiva

² Atividade enzimática positiva

³ Ausência de atividade enzimática