

Infeções fúngicas nosocomiais correlacionadas a *Candida* spp.: incidência e distribuição de espécies na região metropolitana do Rio de Janeiro

Nosocomial fungal infections correlated to *Candida* spp.: Incidence and species distribution in the metropolitan region of Rio de Janeiro

RESUMO

Marcelo Duarte Souza^{I,II*}

Paulo Murillo Neufeld^{II}

Candida sp. é o agente fúngico mais frequentemente isolado e associado a altas taxas de morbimortalidade em pacientes hospitalizados. Apesar de bem estabelecida, a epidemiologia dessas infecções tem apresentado grande variação em relação à região e ao período estudado. O objetivo desse trabalho foi avaliar a incidência e a distribuição de espécies de *Candida* em quatro cidades da região metropolitana do estado do Rio de Janeiro, no período de 2013 a 2014. Um total de 100 cepas foi recuperado de diferentes estabelecimentos de saúde das áreas investigadas. Para a identificação dos isolados, foram utilizadas provas fenotípicas (macromorfologia em CHROMagar, produção de tubo germinativo e clamidósporos) e espectrometria de massas (MALDI-TOF/MS). Dos isolados encontrados, 68,0% pertenciam ao grupo de *Candida* não-*albicans* e 32,0% pertenciam à espécie *Candida albicans*. Em relação aos espécimes clínicos, 44,0% das cepas estudadas foram isoladas de amostras de urina, sendo seguidas de hemocultura (13,0%). Neste estudo, o setor hospitalar com a maior taxa de recuperação fúngica foi o Centro de Tratamento Intensivo, com 40,0% dos isolamentos. Dentre as quatro regiões avaliadas, o município de Niterói foi o que apresentou o maior percentual de recuperação (52,0%). A comparação entre as quatro metodologias de identificação utilizadas demonstrou a efetividade e a prevalência da técnica de MALDI-TOF/MS para o diagnóstico de isolados clínicos de *Candida*. A correta identificação dos agentes etiológicos tem impacto direto na epidemiologia das infecções fúngicas e, conseqüentemente, no manejo, controle e tratamento de pacientes hospitalizados.

PALAVRAS-CHAVE: *Candida*; Infecção Hospitalar; Epidemiologia; CHROMagar-*Candida*; Tubo Germinativo; Clamidósporo; MALDI-TOF

ABSTRACT

Candida sp. is the most frequently isolated fungal agent and associated with high morbidity and mortality rates in hospitalized patients. Although well-established, the epidemiology of infections has shown wide variation in relation to the region and the period studied. The objective of this study was to evaluate the incidence and distribution of *Candida* species in four cities in the metropolitan region of Rio de Janeiro state in the period from 2013 to 2014. A total of one hundred strains were recovered from different health facilities of the investigated areas. For the identification of isolates, phenotypic tests (micromorphology on CHROMagar, germ tube and chlamyospore production) and mass spectrometry (MALDI-TOF/MS) were used. Of all the isolates, 68,0% belonged to the *Candida non-albicans* group and 32,0% belonged to the *Candida albicans* specie. Regarding clinical specimens, 44,0% of the studied strains were isolated from urine samples, followed by blood culture (13,0%). In this study, the hospital sector with the highest fungal recovery rate was the Intensive Care Unit, with 40% of the isolates. Among the four evaluated regions, the city of Niteroi was the one with the highest percentage of isolation (52,0%).

^I Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^{II} Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

* E-mail: m.souza.md@gmail.com

Recebido: 24 set 2015

Aprovado: 27 out 2016



The comparison between the four identification methods demonstrated the effectiveness and prevalence of MALDI-TOF/MS technique for the diagnosis of *Candida* clinical isolates. The correct identification of the etiologic agents has direct impact on the epidemiology of fungal infections and consequently, on the management, control and treatment of hospitalized patients.

KEYWORDS: *Candida*; Hospital Infection; Epidemiology; CHROMagar-*Candida*; Germ Tube; Chlamydospore; MALDI-TOF

INTRODUÇÃO

As leveduras do gênero *Candida* são organismos fúngicos com grande distribuição na natureza¹. Nos hospedeiros humanos, colonizam pele e mucosas do trato gastrointestinal, urogenital, retal e respiratório, existindo como comensais, sem causar qualquer dano ou enfermidade².

A manutenção desse estado comensal se deve a vários fatores, dentre os quais, a pele e mucosas intactas, já que a queratina, a presença de mucinas, as imunoglobulinas, destacadamente a imunoglobulina A, e as células do processo inflamatório e defesa imunológica fornecem uma barreira frente à penetração dos fungos³. Somado a isso, as inúmeras bactérias da microbiota, que competem por espaço e substrato, também dificultam a adesão e a multiplicação fúngica⁴. Modificações no *status* de saúde dos hospedeiros podem disparar a invasão fúngica, fazendo com que passem a uma fase espoliativa, causando lesões importantes que, inclusive, podem levar ao óbito⁵.

Nos últimos anos, pelo grande avanço da tecnologia médica, infecções invasivas por fungos da microbiota têm aumentado, em decorrência da maior sobrevivência de pacientes hospitalizados, que, a despeito de seus processos de base consumptivos, sofrem as ingerências de tratamentos especializados agressivos⁶. Tais tratamentos, muitas vezes, tornam os pacientes ainda mais susceptíveis às infecções fúngicas, notadamente, àquelas determinadas por *Candida* spp.⁷.

O estudo da história natural das infecções hospitalares revela uma preponderância do gênero *Candida*, como agente causal. Classicamente, *Candida albicans* era a espécie mais frequente, respondendo por 80,0% a 90,0% dos casos⁸. No entanto, a taxa de isolamento desse microrganismo tem diminuído, em função da emergência de outras espécies, tais como *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii*, *Candida krusei*, *Candida lusitanae*, complexo *Candida parapsilosis* (*C. parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, *Candida metapsilosis*) e *Candida tropicalis*, indicando uma tendência de mudança na etiologia das candidíases invasivas^{9,10}. Essa alteração na etiologia tem sido atribuída à maior susceptibilidade de *C. albicans* às drogas antifúngicas de uso clínico, quando comparada com as espécies não-*albicans*, que, apesar da menor virulência, são, ao mesmo tempo, menos susceptíveis^{11,12,13}.

No Brasil, a epidemiologia das infecções invasivas por *Candida* spp. tem sido avaliada em estudos multicêntricos^{14,15}. Recentemente, *Candida* spp. foi considerada a sétima causa mais prevalente de infecção hospitalar no país¹⁴. Numa investigação ampla, envolvendo pacientes pediátricos, *Candida* spp. foi o quinto patógeno mais isolado de infecções da corrente sanguínea¹⁵. Não obstante os dados nacionais acerca da epidemiologia dessas infecções estarem mais estruturados, esses ainda são escassos e pouco consolidados em nível regional¹⁶.

O conhecimento da epidemiologia local das espécies de *Candida* é importante para ações específicas de manejo dos pacientes críticos e para o estabelecimento da terapia apropriada, tendo em vista algumas espécies serem intrinsecamente resistentes a drogas de primeira linha como o fluconazol e a anfotericina B, apresentarem variações na sua distribuição geográfica e na sua susceptibilidade^{17,18,19,20}.

O objetivo deste trabalho foi determinar a etiologia e a distribuição de espécies de *Candida* isoladas na região metropolitana do estado do Rio de Janeiro, empregando métodos morfológicos, cromogênicos e proteômica de massas.

MÉTODO

Microrganismos

Foi avaliado um total de 100 amostras de *Candida* spp., isoladas de infecções superficiais e invasivas, no período de 2013 a 2014. Inicialmente, as amostras foram recuperadas em laboratórios da rede pública e privada, na região metropolitana do estado Rio de Janeiro. Esses laboratórios pertenciam a três unidades de saúde da cidade de Niterói, a duas unidades de saúde da cidade de São Gonçalo, a uma unidade de saúde da cidade de Duque de Caxias e a duas unidades de saúde, localizadas nos bairros do Méier e da Vila da Penha, na cidade do Rio de Janeiro. Todos os isolados clínicos foram previamente identificados, nas instituições de origem, pelo menos em nível de gênero, por técnicas morfológicas e bioquímicas tradicionais. A confirmação dessas identificações fúngicas foi realizada no Serviço de Micologia Clínica do Laboratório de Saúde Pública e Análises Clínicas Veterinárias (LACVET) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), empregando métodos morfológicos e cromogênicos, e no Setor de Microbiologia do Laboratório Richet, utilizando a proteômica de massas no formato *Matrix-Assisted Laser Desorption/ Ionization Time-of-Flight - Mass Spectrometry* (MALDI-TOF/MS). Para tanto, as amostras foram transportadas, às duas instituições mencionadas, em tubos de ensaio (13 mm x 100 mm) ou placas de Petri (90 mm x 15 mm) contendo agar de cistina lactose deficiente em eletrólitos (CLED, Plast Labor, Brasil), agar sangue (Plast Labor, Brasil), agar chocolate (Plast Labor, Brasil) ou agar de Sabouraud dextrosado (SDA) (Plast Labor, Brasil), de acordo com as recomendações do Regulamento Sanitário para Transporte de Material Biológico Humano da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa)^{21,22}. Os dados relacionados ao gênero, sítios anatômicos e setores hospitalares foram recuperados das requisições de exame dos laboratórios clínicos das unidades de saúde participantes da pesquisa que acompanhavam as amostras fúngicas.



Identificação das leveduras

Todas as 100 amostras enviadas foram subcultivadas em placas de Petri (90 mm x 15 mm) contendo agar SDA (Plast Labor, Brasil) e incubadas em temperaturas de 25°C e 37°C, por 24 a 96 horas, para a determinação da pureza. De cada placa de Petri, colônias isoladas foram transferidas para tubos de ensaio (13 mm x 100 mm) contendo agar SDA (Plast Labor, Brasil). A partir dessas culturas, foi procedida a confirmação das identificações. As metodologias do tubo germinativo²³, produção de clamidósporos (técnica de Dalmau)²⁴, CHROMagar²⁵ e MALDI-TOF/MS²⁶ foram empregadas para validar o diagnóstico preliminar realizado nas unidades de saúde. Inicialmente, os isolados foram subcultivados em meio CHROMagar-*Candida* (Plast Labor, Brasil), que é um meio seletivo e composto de substratos cromogênicos, que, através da morfologia e pigmentação das colônias, permite a identificação fúngica. As placas de Petri com CHROMagar (90 mm x 15 mm) foram incubadas à temperatura de 37°C, por 24-48 horas. Pela visualização da morfologia colonial e da produção de substâncias cromogênicas no meio, é possível identificar *C. albicans* (verde), *C. tropicalis* (azul petróleo), *C. krusei* (rosa) e *C. glabrata* (violeta).

As provas do tubo germinativo em soro sanguíneo, incubadas a 37°C, por 1-3 horas, e da produção de clamidósporos em agar *cornmeal* (Oxoid, Inglaterra) com tween 80 (Isofar, Brasil), incubadas a 37°C, por 48-96 horas, foram procedidas apenas para a identificação de *C. albicans*. A leitura microscópica dessas provas morfológicas, quando positivas, permite a observação de projeções alongadas que surgem como hifas verdadeiras na célula de levedura (tubo germinativo) e/ou a observação de estruturas de resistência de aspecto globoso (clamidósporos).

Após a identificação morfológica e cromogênica, os isolados de *Candida* spp. foram submetidos à identificação pela proteômica de massas, empregando a técnica de MALDI-TOF/MS. Para a extração das proteínas, fragmentos das culturas de *Candida* spp. com 24-48 horas de incubação foram transferidos para poços de uma placa de aço inox. Em seguida, sobre as culturas, foram adicionados 0,8 microlitros de ácido fórmico (Vetec, Brasil) a 70,0%. Esse material foi deixado secar e, posteriormente, foi adicionado mais 1,0 µL de Matriz Bruker (ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico - HCCA)

(Bruker, Alemanha). A placa preparada para a análise foi, então, introduzida no espectrômetro Microflex LT MALDI-TOF/MS (Bruker, Alemanha), para a identificação dos isolados. Dentro desse equipamento, a placa sofre uma irradiação com laser, que vaporiza as amostras e produz ionização de várias moléculas, que são aspiradas para um tubo de vácuo e levadas a um detector. Conforme a molécula, o tempo de chegada ao detector (*Time-of-Flight*) é diferente. Uma base de dados computadorizada interpreta e fornece o resultado final. De acordo com os critérios de identificação de leveduras, especificados pelo fabricante, os *scores* $\geq 2,0$ e entre 1,7 e 1,9 são considerados confiáveis para a identificação de espécie e gênero, respectivamente, e os *scores* $\leq 1,7$ são considerados não confiáveis para a identificação fúngica. A consolidação dos resultados encontrados foi realizada através do *software Maldit Biotyper* versão 2.0 (Bruker, Alemanha). Como controle da extração e da leitura das proteínas, foi utilizada a cepa *Candida albicans* (ATCC 10231).

RESULTADOS

Das 100 amostras fúngicas isoladas, *C. tropicalis* (38,0%), *C. albicans* (32,0%) e *C. parapsilosis sensu stricto* (17,0%) foram as espécies mais prevalentes. *Candida guilliermondii* (7,0%) e *C. glabrata* (3,0%) formaram o outro grupo de espécies secundariamente mais isoladas. Neste estudo, as espécies não-*albicans* somaram 68,0% de todos os isolamentos. Relativamente à distribuição das espécies entre os gêneros, a maioria dos isolados clínicos foi recuperada de pacientes do sexo feminino (54,0%). Para 10,0% dos isolamentos não foi possível a determinação do gênero. Levando-se em conta apenas as espécies *C. tropicalis* e *C. albicans*, as taxas de isolamento no gênero feminino foram 37,0% e 33,3%, respectivamente. *Candida tropicalis* (38,8%) e *C. albicans* (30,6%) foram também isoladas, preponderantemente, em pacientes masculinos. A Tabela 1 apresenta as espécies isoladas e sua distribuição entre os gêneros.

Considerando a distribuição dos isolados fúngicos estratificados por setor hospitalar, o Centro de Tratamento Intensivo (CTI) foi a unidade com o maior percentual de isolamentos (40,0%), seguida do Setor de Enfermaria (12,0%). No entanto, para 13,0% dos isolamentos, as unidades hospitalares não puderam ser determinadas. No CTI, *C. tropicalis* (47,5%) e *C. albicans* (32,5%) foram as espécies de leveduras mais isoladas, estando logo atrás

Tabela 1. Número e distribuição por gênero das espécies de *Candida* isoladas.

Espécies	Pacientes			Total No. (%)
	M No. (%)	F No. (%)	ND No. (%)	
<i>C. tropicalis</i>	14 (38,8)	20 (37,0)	4 (40,0)	38 (38,0)
<i>C. albicans</i>	11 (30,6)	18 (33,3)	3 (30,0)	32 (32,0)
<i>C. parapsilosis sensu stricto</i>	9 (25,0)	5 (9,2)	3 (30,0)	17 (17,0)
<i>C. guilliermondii</i>	2 (5,6)	5 (9,2)	-	7 (7,0)
<i>C. glabrata</i>	-	3 (5,6)	-	3 (3,0)
<i>C. krusei</i>	-	1 (1,9)	-	1 (1,0)
<i>C. dubliniensis</i>	-	1 (1,9)	-	1 (1,0)
<i>C. metapsilosis</i>	-	1 (1,9)	-	1 (1,0)
Total	36 (36,0)	54 (54,0)	10 (10,0)	100 (100,0)

M: Pacientes do sexo masculino; F: Pacientes do sexo feminino; ND: Gênero não determinado.



C. guilliermondii (5,0%) e *C. glabrata* (5,0%), na terceira posição. Na Unidade de Tratamento de Queimados (UTQ), *C. tropicalis* foi a única espécie encontrada. Da mesma forma, apenas uma única espécie (*C. albicans*) foi isolada na Unidade Neonatal (NEO), no Centro Cirúrgico (CC) e na Unidade Coronariana (UC). A Tabela 2 mostra a distribuição dos isolados de *Candida* por setor hospitalar.

Com relação à distribuição das espécies estratificadas por sítio anatômico, 44,0% dos isolados foram recuperados de amostras de urina, tendo *C. tropicalis* (45,4%) e *C. albicans* (34,0%) como os organismos mais encontrados. No conjunto, as amostras de trato respiratório somaram 14,0% dos isolamentos e *C. tropicalis* (57,2%) foi o principal fungo recuperado. As hemoculturas forneceram 13,0% dos isolamentos, sendo *C. tropicalis* (53,8%), *C. albicans* (23,1%) e *C. parapsilosis* (23,1%) as espécies mais encontradas. *Candida parapsilosis* (50,0%)

e *C. guilliermondii* (33,3%) foram as leveduras mais prevalentes em espécimes dermatológicos (12,0%). De cultura de ponta de cateter (5,0%), foram ainda obtidas *C. tropicalis* (40,0%), *C. albicans* (40,0%) e *C. parapsilosis* (20,0%). Para 10,0% dos isolados, a origem clínica também não pôde ser determinada. A Tabela 3 apresenta a distribuição dos isolados de *Candida* por sítio anatômico.

Diferentes estabelecimentos de saúde localizados em quatro cidades da região metropolitana do estado do Rio de Janeiro contribuíram para essa pesquisa. Dentre as regiões geográficas estudadas, o município de Niterói apresentou o maior percentual de isolamentos, com 52,0% de todas as cepas encontradas. Representado pelos bairros do Méier e da Vila da Penha, o município do Rio de Janeiro foi a segunda região em número de isolamentos fúngicos (35,0%). As menores taxas de

Tabela 2. Distribuição dos isolados de *Candida* por setores hospitalares.

Espécies	CTI No. (%)	ENF No. (%)	DERM No. (%)	EMER No. (%)	AMB No. (%)	UTQ No. (%)	NEO No. (%)	CC No. (%)	UC No. (%)	PED No. (%)	ND No. (%)	Total No. (%)
<i>C. tropicalis</i>	19 (47,5)	5 (41,7)	2 (18,2)	3 (30,0)	1 (25,0)	4 (100)	-	-	-	-	4 (30,8)	38 (38,0)
<i>C. albicans</i>	13 (32,5)	5 (41,7)	1 (9,0)	3 (30,0)	2 (50,0)	-	3 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	2 (15,4)	32 (32,0)
<i>C. parapsilosis sensu stricto</i>	1 (2,5)	1 (8,3)	4 (36,4)	4 (40,0)	1 (25,0)	-	-	-	-	-	6 (46,1)	17 (17,0)
<i>C. guilliermondii</i>	2 (5,0)	1 (8,3)	4 (36,4)	-	-	-	-	-	-	-	-	7 (7,0)
<i>C. glabrata</i>	2 (5,0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (7,7)	3 (3,0)
<i>C. krusei</i>	1 (2,5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (1,0)
<i>C. dubliniensis</i>	1 (2,5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (1,0)
<i>C. metapsilosis</i>	1 (2,5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (1,0)
Total	40 (40,0)	12 (12,0)	11 (10,0)	10 (10,0)	4 (4,0)	4 (4,0)	3 (3,0)	1 (1,0)	1 (1,0)	1 (1,0)	13 (13,0)	100 (100,0)

CTI: Centro de Tratamento Intensivo; ENF: Enfermaria; DERM: Serviço Dermatológico; EMER: Emergência; AMB: Ambulatório; UTQ: Unidade de Tratamento de Queimados; NEO: Unidade Neonatal; CC: Centro Cirúrgico; UC: Unidade Coronariana; PED: Pediatria; ND: Unidade não determinada.

Tabela 3. Distribuição dos isolados de *Candida* por sítio anatômico.

Sítios anatômicos	C. t No. (%)	C. a No. (%)	C. p No. (%)	C. gui No. (%)	C. gla No. (%)	C. k No. (%)	C. d No. (%)	C. m No. (%)	Total No. (%)
Urina	20 (45,4)	15 (34,0)	2 (4,6)	2 (4,6)	3 (6,8)	1 (2,3)	-	1 (2,3)	44 (44,0)
Sangue	7 (53,8)	3 (23,1)	3 (23,1)	-	-	-	-	-	13 (13,0)
Quirodáctilo	-	1 (12,5)	5 (62,5)	2 (25,0)	-	-	-	-	8 (8,0)
Secreção traqueal	4 (66,6)	1 (16,7)	-	-	-	-	1 (16,7)	-	6 (6,0)
Ponta de cateter	2 (40,0)	2 (40,0)	1 (20,0)	-	-	-	-	-	5 (5,0)
Secreção nasal	2 (100)	-	-	-	-	-	-	-	2 (2,0)
Líquido pleural	1 (50,0)	-	1 (50,0)	-	-	-	-	-	2 (2,0)
Tecido ósseo	-	-	1 (50,0)	1 (50,0)	-	-	-	-	2 (2,0)
Escarro	-	2 (100)	-	-	-	-	-	-	2 (2,0)
Bronco aspirado	1 (50,0)	1 (50,0)	-	-	-	-	-	-	2 (2,0)
Fragmento de lesão superficial	-	-	1 (100)	-	-	-	-	-	1 (1,0)
Hálux	-	-	-	1 (100)	-	-	-	-	1 (1,0)
Região inguino-crural	-	1 (100)	-	-	-	-	-	-	1 (1,0)
Raspado da região palmar	-	-	-	1 (100)	-	-	-	-	1 (1,0)
Sítio não determinado	1 (10,0)	6 (60,0)	3 (30,0)	-	-	-	-	-	10 (10,0)
Total	38 (38,0)	32 (32,0)	17 (17,0)	7 (7,0)	3 (3,0)	1 (1,0)	1 (1,0)	1 (1,0)	100 (100,0)

C. t.: *Candida tropicalis*; C. a: *Candida albicans*; C. p: *Candida parapsilosis*; C. gui: *Candida guilliermondii*; C. gla: *Candida glabrata*; C. k: *Candida krusei*; C. d: *Candida dubliniensis*; C. m: *Candida metapsilosis*.



recuperação, contudo, foram observadas em Duque de Caxias (8,0%) e São Gonçalo (5,0%). A Figura 1 mostra as regiões avaliadas e o percentual de isolamento fúngico.

Das 100 cepas isoladas, 72,0% foram identificadas, presuntivamente, pelo CHROMagar-*Candida*. Do total geral, 38,0% eram *C. tropicalis*, 33,0% eram *C. albicans*, 1,0% era *C. krusei* e os outros 28,0% eram cepas que apresentaram colônias de coloração inespecífica, variando de branca a rosada. As identificações pela técnica do tubo germinativo e produção de clamidósporos foram positivas para todas as cepas de *C. albicans* e *C. dubliniensis*. Empregando a técnica de espectrometria de massas (MALDI-TOF/MS), foram encontradas as seguintes espécies: *C. tropicalis* (38,0%), *C. albicans* (32,0%), *C. parapsilosis sensu stricto* (17,0%), *C. guilliermondii* (7,0%), *C. glabrata* (3,0%), *C. krusei* (1,0%), *C. metapsilosis* (1,0%) e *C. dubliniensis* (1,0%). As maiores concordâncias entre os dois métodos foram observadas, porém, em *C. tropicalis* (100,0%) e em *C. krusei* (100,0%) (Quadro 1).

Das 28 leveduras não identificadas pelo CHROMagar-*Candida*, o maior percentual (71,4%) apresentou coloração rosa claro, sendo essas: *C. parapsilosis sensu stricto* (70,6%), *C. guilliermondii* (57,1%), *C. glabrata* (100,0%) e *C. metapsilosis* (100,0%). O restante (28,6%) exibiu colorações rosa escuro, branca e violácea (Tabela 4).

No presente estudo, as cepas enviadas para análise foram primariamente identificadas nas unidades de saúde onde os isolamentos fúngicos foram realizados. Nessas instituições, foram identificadas *C. albicans* (67), *Candida* sp. (11), *C. tropicalis* (10), *C. parapsilosis* (5), *C. krusei* (6) e *Candida pelliculosa* (1). No entanto, das 67 cepas de *C. albicans* isoladas previamente, apenas 32 tiveram suas etiologias confirmadas pelo MALDI-TOF/MS. Das 11 cepas classificadas

como *Candida* sp., foram identificadas quatro espécies (*C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*) pela proteômica de massas. Nenhuma das seis cepas de *C. krusei* e a cepa de *C. pelliculosa*, recuperadas nessas unidades de saúde, tiveram suas identidades confirmadas. As dez cepas de *C. tropicalis* e as cinco de *C. parapsilosis* formaram o único grupo de cepas fúngicas enviadas, que tiveram todos os isolados validados pela espectrometria de massas. Dentre as técnicas, originalmente empregadas para a identificação dos isolados de *Candida*, a que apresentou maior discrepância em relação às identificações fornecidas pelo MALDI-TOF/MS foi a técnica do tubo germinativo (Quadro 2).

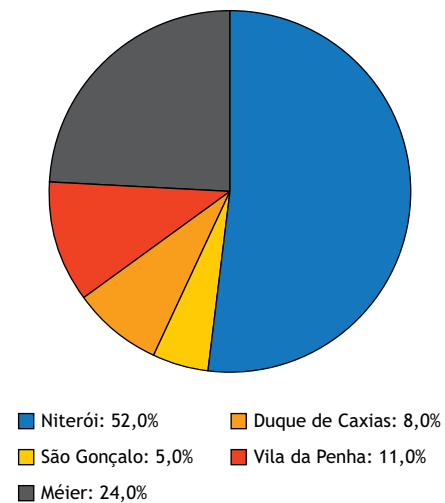


Figura 1. Origem dos isolados fúngicos por regiões geográficas do estado do Rio de Janeiro.

Quadro 1. Identificação de *Candidas* spp. por CHROMagar-*Candida* e espectrometria de massas (MALDI-TOF/MS).

Espécies	CHROMagar- <i>Candida</i> No. (%)	MALDI-TOF/MS No. (%)	Concordância No. (%)
<i>C. tropicalis</i>	38 (38,0)	38 (38,0)	38 (100)
<i>C. albicans</i>	33 (33,0)	32 (32,0)	32 (97,0)
<i>C. parapsilosis sensu stricto</i>	-	17 (17,0)	-
<i>C. guilliermondii</i>	-	7 (7,0)	-
<i>C. glabrata</i>	-	3 (3,0)	-
<i>C. krusei</i>	1 (1,0)	1 (1,0)	1 (100)
<i>C. dubliniensis</i> *	-	1 (1,0)	-
<i>C. metapsilosis</i>	-	1 (1,0)	-

*: identificada com *Candida albicans* em CHROMagar-*Candida*.

Tabela 4. Comportamento das leveduras com identificação inconclusiva em CHROMagar-*Candida*.

Espécies	Rosa claro No. (%)	Rosa escuro No. (%)	Branco No. (%)	Violáceo No. (%)	Total No. (%)
<i>C. parapsilosis sensu stricto</i>	12 (70,6)	3 (17,6)	1 (5,9)	1 (5,9)	17 (60,7)
<i>C. guilliermondii</i>	4 (57,1)	1 (14,3)	-	2 (28,6)	7 (25)
<i>C. glabrata</i>	3 (100,0)	-	-	-	3 (10,7)
<i>C. metapsilosis</i>	1 (100,0)	-	-	-	1 (3,6)
Total	20 (71,4)	4 (14,3)	1 (3,6)	3 (10,7)	28 (100,0)



Quadro 2. Identificação fúngica original e reidentificação por MALDI-TOF/MS.

Região metropolitana	Identificação original (No. de cepas)	Reidentificação ¹ (No. de cepas)
Niterói ²	<i>C. albicans</i> (52)	<i>C. tropicalis</i> (23)* <i>C. albicans</i> (19) <i>C. guilliermondii</i> (3)* <i>C. parapsilosis</i> (3)* <i>C. glabrata</i> (2)* <i>C. krusei</i> (1)* <i>C. metapsilosis</i> (1)*
São Gonçalo ²	<i>C. albicans</i> (5)	<i>C. albicans</i> (2) <i>C. dubliniensis</i> (1)* <i>C. glabrata</i> (1)* <i>C. tropicalis</i> (1)*
Duque de Caxias ³	<i>C. tropicalis</i> (3) <i>C. albicans</i> (2) <i>C. parapsilosis</i> (2) <i>C. pelliculosa</i> (1)	<i>C. tropicalis</i> (3) <i>C. albicans</i> (2) <i>C. parapsilosis</i> (2) <i>C. tropicalis</i> (1)*
Rio de Janeiro / Méier ³	<i>C. albicans</i> (8) <i>C. tropicalis</i> (7) <i>C. parapsilosis</i> (3) <i>C. krusei</i> (5) <i>C. krusei</i> (1)	<i>C. albicans</i> (8) <i>C. tropicalis</i> (7) <i>C. parapsilosis</i> (3) <i>C. parapsilosis</i> (5)* <i>C. tropicalis</i> (1)*
Rio de Janeiro/Vila da Penha ⁴	<i>Candida</i> sp. (11)	<i>C. guilliermondii</i> (4) <i>C. parapsilosis</i> (4) <i>C. tropicalis</i> (2) <i>C. albicans</i> (1)

Metodologia de identificação: (1): MALDI-TOF/MS; (2): Tubo Germinativo; (3): Vitek; (4): Não determinada; *: discrepante com a identificação original.

DISCUSSÃO

Entre as infecções causadas por fungos em ambiente hospitalar, aquelas associadas a leveduras do gênero *Candida* são as mais prevalentes^{14,27}. Nos últimos anos, as candidíases invasivas se converteram em um sério problema de saúde pública, pelo progressivo aumento do número de pacientes imunocomprometidos, que, em decorrência dos avanços na tecnologia médica, tornaram-se extremamente susceptíveis a essas infecções^{28,29}.

Na presente avaliação, *Candida* não-*albicans* representou a maioria dos agentes fúngicos recuperados. Estudos longitudinais, realizados em instituições isoladas e em contextos regionais amplos, têm documentado a emergência de várias espécies não-*albicans*, bem como seu potencial para o desenvolvimento de resistência às drogas antifúngicas de uso clínico^{30,31}. Claramente, o perfil variável de susceptibilidade tem sido o principal fator de risco ligado a esse grupo de patógenos^{32,33,34}. Em particular, resistências secundárias são um dos fenômenos mais frequentemente observados e um dos determinantes de falhas terapêuticas mais importantes^{35,36}. Nesse contexto, a avaliação acerca da distribuição das espécies de *Candida* deve ser procedida, para o estabelecimento de práticas de intervenção específicas³⁷. Apesar da distribuição das espécies sofrer influência da região de isolamento e do período de tempo avaliado³⁸, outras investigações confirmam os achados aqui apresentados. Nesse sentido, altas taxas de isolamento para *Candida* não-*albicans* foram relatadas por Pfaller et al.⁷, Nucci et al.¹³, Farias-Ramos et al.³⁹ e Liu et al.⁴⁰, em amplos estudos multicêntricos internacionais. Igualmente, no Brasil, elevados percentuais de recuperação de espécies não-*albicans* foram informados por diversos autores em diferentes regiões do país^{14,16,41,42}.

No estudo em tela, o gênero feminino foi o mais acometido. A literatura internacional, a partir de dados multicêntricos, no entanto, tem relatado uma maior prevalência do gênero masculino nas candidíases hospitalares^{43,44,45}. Estudos brasileiros têm também confirmado essa característica demográfica^{14,46,47}. *Candida tropicalis* e *C. albicans* foram as leveduras mais isoladas nesse grupo de pacientes, o que parece estar de acordo como relatado por outros autores^{19,48}. Nessa investigação, considerando o gênero masculino, observou-se, igualmente, a prevalência de *C. tropicalis* e *C. albicans*. Relativamente aos pacientes hospitalizados, o isolamento desses agentes fúngicos tem sido bem documentado^{49,50}.

Nos serviços hospitalares avaliados, CTI, Enfermaria, Dermatologia e Emergência foram as unidades que apresentaram o maior número de cepas recuperadas. Inversamente, as unidades com o menor número de isolamentos foram UTQ, NEO, CC e UC. Não obstante as unidades ambulatoriais terem exibido percentuais de isolamento mais elevados, de fato, o isolamento fúngico é mais crítico nas unidades de tratamento intensivo, já que os pacientes são, em geral, imunocomprometidos e, conseqüentemente, susceptíveis às intercorrências infecciosas⁵¹. Nas unidades CTI, UTQ, NEO, CC e UC, *C. tropicalis*, *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii* foram as leveduras mais encontradas. Mesmo levando em conta as diferenças epidemiológicas, *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* são as espécies mais prevalentes em todo o mundo¹⁸. No Brasil, dependendo da região pesquisada, das características clínicas dos pacientes e das condutas médicas locais, há uma alternância no ranking de isolamento, contudo, essas três espécies estão, frequentemente, presentes^{13,14,20}. Apesar de exibir taxas mais baixas de recuperação, *C. guilliermondii* tem sido considerada uma espécie emergente, em muitos estudos^{52,53,54}.

Neste trabalho, a maioria das espécies de *Candida* foi recuperada de amostras de urina. *Candida tropicalis* e *C. albicans* foram as principais leveduras encontradas. Diversos estudos têm informado um grande número de isolamentos de *Candida* spp. de urina de pacientes hospitalizados, sendo que *C. tropicalis* e *C. albicans*, juntamente com *C. glabrata*, têm sido as espécies mais relatadas, na literatura^{55,56,57}. Outros sítios não estéreis foram quirodáctilos, secreção traqueal, secreção nasal, escarro, aspirado bronco-pulmonar, hálux e região inguino-crural. Nesses sítios, em conjunto, foram recuperadas, majoritariamente, *Candida* não-*albicans*. Corroborando estas casuística, há um considerável número de investigações envolvendo hospitais terciários brasileiros^{16,58,59,60}. Apesar dos sítios não estéreis terem sido a maior fonte dos isolamentos, eles têm sido considerados de importância relativa para o diagnóstico de infecção⁶¹. Todavia, como infecções invasivas podem ser decorrentes da microbiota do próprio paciente, o isolamento de fungos de sítios não estéreis pode apresentar algum valor preditivo para infecções do ambiente hospitalar^{62,63,64}. Com relação a isso, alguns autores têm informado que infecções do trato urinário inferior podem estar associadas com a ocorrência de candidemias^{65,66}.



Dos sítios estéreis, *C. tropicalis*, *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii* foram as mais isoladas de hemocultura, cateter, líquido pleural e tecido ósseo. Para esse grupo de fungos, também houve preponderância de espécies não-*albicans*. Relativamente à hemocultura e ao cateter, esses são uma das mais importantes fontes de agentes fúngicos no ambiente hospitalar^{67,68}. A hemocultura, inclusive, é considerada o principal marcador desse tipo de infecção⁶⁹. Levando em conta particularmente os dispositivos de suporte e manejo de pacientes críticos, são os cateteres um dos principais veículos de infecção da corrente sanguínea, o que leva ao aumento do período de internação, maior taxa de morbimortalidade e custos de hospitalização mais elevados⁷⁰.

Nessa casuística, a cidade de Niterói foi a que contribuiu com o maior número de isolados fúngicos. Somada com a cidade de São Gonçalo, a taxa de isolamento, de ambas as cidades, atingiu quase 60,0%, quando comparadas com as cidades do Rio de Janeiro e Duque de Caxias. *Candida tropicalis* foi também a levedura mais isolada, seguida por *C. albicans*. As espécies emergentes, como *C. guilliermondii*, foram indistintamente isoladas nas áreas investigadas. Importa mencionar, todavia, que os estudos relacionados à distribuição das espécies de *Candida*, na região em tela, são escassos e pouco consolidados¹⁶. A maioria dos estudos nacionais não destaca a realidade local da região metropolitana do Rio de Janeiro, sendo os dados apresentados em conjunto com aqueles de outras regiões e de forma global^{20,41,71}. Como a epidemiologia das infecções por *Candida* spp. pode variar dependendo da região geográfica¹⁸, avaliações locais devem ser procedidas, para que o reconhecimento das diferenças na incidência, população de risco, distribuição das espécies e susceptibilidade aos antifúngicos permita o estabelecimento de medidas adequadas de controle e manejo das infecções, especialmente, no que tange à profilaxia e terapêutica antifúngica¹³, bem como no que se refere à alocação de recursos governamentais¹⁹.

O conhecimento sobre a epidemiologia das infecções por *Candida* spp. passa, invariavelmente, pela correta identificação das espécies fúngicas e pela eventual determinação de seus perfis de susceptibilidade às drogas de uso clínico²⁷. A avaliação da eficiência dos métodos empregados para a identificação fúngica é de extrema relevância para o sistema sanitário brasileiro, pois o diagnóstico das infecções invasivas é, ainda, deficiente, na maioria dos hospitais do país⁷². Para a confirmação das identidades dos agentes infecciosos estudados, foram utilizadas as técnicas de tubo germinativo²³, produção de clamidósporos²⁴, CHROMagar-*Candida*²⁵ e proteômica pelo MALDI-TOF/MS²⁶. O CHROMagar-*Candida* é um meio adequado para a identificação presuntiva de candidíases determinadas, principalmente, por *C. albicans*, pois permite que essa espécie seja separada das não-*albicans*, com alto grau de confiabilidade²⁵. O fato de *C. albicans* ser a espécie mais prevalente em infecções hospitalares confere ao CHROMagar-*Candida* grande importância diagnóstica⁷³. Relativamente às espécies de *Candida* não-*albicans*, essas apresentam resposta variável no meio cromogênico, em função do comportamento da espécie fúngica em análise⁷⁴.

Desse grupo, *C. krusei* e *C. tropicalis* são as espécies que, claramente, apresentam melhor desempenho⁷⁵. Na presente avaliação, *C. albicans* (*C. dubliniensis*), *C. tropicalis* e *C. krusei* foram corretamente identificadas, exibindo seus pigmentos característicos. Para essas três espécies, taxas de sensibilidade e especificidade de 93,8% a 100,0% têm sido descritas^{76,77,78}. No entanto, no caso das outras espécies de *Candida*, a pigmentação produzida não permitiu que a identificação fosse procedida, tendo em vista serem inespecíficas e, desse modo, inconclusivas. De fato, a literatura tem relatado que o CHROMagar-*Candida* é pouco efetivo na separação da maioria das espécies não-*albicans*⁷⁴. Mesmo não sendo considerado um método definitivo de identificação, sua efetividade na identificação presuntiva de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* permite sugerir seu uso como um guia para decisões clínicas e avaliações sanitárias relacionadas a esses agentes⁷⁹.

A exemplo do CHROMagar-*Candida*, as provas do tubo germinativo e da produção de clamidósporos foram também procedidas com a finalidade de se confirmar as identificações previamente realizadas nos laboratórios de origem das cepas. Ambas as provas são empregadas apenas para a identificação morfológica de *C. albicans*, já que essa espécie é a única que, consistentemente, produz tais estruturas⁸⁰. No estudo em tela, todas as cepas de *C. albicans*, inclusive *C. dubliniensis*, produziram tanto tubo germinativo quanto clamidósporo. Apesar de restrita a uma única espécie, a preponderância clínica de *C. albicans* justifica o emprego da prova do tubo germinativo⁸¹. A ocorrência de falso-negativos, todavia, limita seu uso como único método de identificação^{82,83}. Assim, para a confirmação de *C. albicans*, quando não há a formação de tubo germinativo, está indicada a realização da prova do clamidósporo⁸⁴. No entanto, falsos-negativos podem também ocorrer nessa outra prova morfológica⁸². Como os fatores que induzem à formação de tubo germinativo e à produção de clamidósporos são distintos, as duas provas devem, preferencialmente, ser de emprego complementar⁸³ e, a princípio, utilizadas apenas como metodologias de diagnóstico presuntivo⁸⁵. No presente trabalho, houve total concordância entre os resultados obtidos no CHROMagar-*Candida*, tubo germinativo e clamidósporos, no que se refere à identificação de *C. albicans*. Para diminuir as inconsistências de resultados, ambas as provas cromogênicas e morfológicas devem estar contempladas em protocolos associados⁸⁶.

Apesar dos métodos tradicionais serem mais utilizados nos laboratórios de microbiologia, a detecção, diferenciação e identificação dos fungos pode se apresentar ambígua⁸⁷. Com essa situação, novas tecnologias de diagnóstico representam uma alternativa válida, já que aumentam a sensibilidade e a especificidade na identificação, reduzindo a subjetividade inerente aos métodos tradicionais⁸⁸. Em decorrência disso, a utilização da espectrometria de massas por MALDI-TOF/MS, para o diagnóstico de isolados fúngicos, tem tido grande apelo⁸⁹. De fato, o MALDI-TOF/MS tem demonstrado ser uma técnica rápida, confiável, segura e econômica, bem como de aplicação direta nos laboratórios de micologia clínica⁹⁰.



Na presente casuística, todas as cepas de *Candida* estudadas foram submetidas à técnica de MALDI-TOF/MS, sendo pronta e inequivocamente identificadas. Vários autores têm relatado, igualmente, a efetividade dessa técnica na identificação de leveduras de interesse médico^{87,88,89,90}. A capacidade de diferenciar os agentes fúngicos ao nível de subespécie tem sido outra importante habilidade demonstrada em diversos trabalhos^{91,92,93,94}. Dentre as leveduras identificadas nesta investigação, destacam-se *C. dubliniensis* e *C. metapsilosis*. Esse é um achado significativo porque o método padrão para a determinação da etiologia de ambas as espécies é a biologia molecular, já que as provas fenotípicas têm uso limitado, por serem, com frequência, inconclusivas⁹⁵. Em relação a *C. dubliniensis*, o MALDI-TOF/MS tem se mostrado uma técnica bastante efetiva na separação de *C. albicans*⁹¹. A importância disso reside no fato de que, por serem proximamente relacionadas e apresentarem padrões diferentes de susceptibilidade aos antifúngicos, a diferenciação entre essas duas leveduras apresenta extrema dificuldade e considerável importância clínica^{96,97}. *Candida parapsilosis* é um outro agente fúngico cuja diferenciação com espécies filogeneticamente associadas tem sido também possível com a aplicação do MALDI-TOF/MS⁹⁸. Para essa espécie, a separação com *Candida orthopsilosis* e *Candida metapsilosis* é, igualmente, de difícil execução, por testes baseados em bioquímica, sendo, por isso, realizada apenas através da biologia molecular⁹⁹. No caso de *C. metapsilosis*, a literatura tem relatado o bom rendimento da técnica de MALDI-TOF/MS na identificação e separação desse agente^{89,100,101}. Considerando que *C. dubliniensis* e *C. metapsilosis* são leveduras emergentes e relacionadas às candidíases invasivas, as quais apresentam, normalmente, tendência à resistência à quimioterapia antifúngica, altas taxas de mortalidade e custos hospitalares elevados, um diagnóstico rápido, sensível e específico é fundamental para um melhor manejo dos pacientes críticos²⁷. Importa mencionar que, muitas vezes, percentuais de mortalidade mais elevados estão, exatamente, associados a dificuldades na determinação das etiologias das infecções por *Candida*^{27,102}.

Nesta pesquisa, quando comparados os resultados facilitados pela técnica de MALDI-TOF/MS com aqueles obtidos através dos métodos cromogênicos e morfológicos foram observadas discrepâncias na identificação de alguns agentes. Resultados discordantes entre o MALDI-TOF/MS e os métodos convencionais, todavia, têm sido também relatados por outros autores^{89,102,103,104}. A menor capacidade discriminativa dos métodos convencionais, principalmente em relação às espécies com grande proximidade genética, é uma das bases das diferenças encontradas com a técnica do MALDI-TOF/MS^{102,103,105}. Essas diferenças podem ocorrer, ainda, em função de culturas acidentalmente contaminadas, alterações sutis das características bioquímicas ou do padrão de assimilação de carboidratos e subjetividade na interpretação dos resultados das análises morfológicas⁸⁹. A ausência de uma determinada espécie fúngica na base de dados do MALDI-TOF/MS é outra fonte de erro entre os métodos^{88,106}.

Discrepâncias importantes foram observadas quando comparações foram feitas entre as identificações realizadas nas instituições de origem dos isolados clínicos e as identificações produzidas nas instituições da presente pesquisa (UFRJ e Laboratório Richet). Das 52 cepas identificadas como *C. albicans*, na cidade de Niterói, pelo método do tubo germinativo, apenas 19 foram confirmadas pelo MALDI-TOF/MS, sendo o restante classificado dentro de outras espécies de *Candida*. O mesmo aconteceu, em São Gonçalo, onde, das cinco cepas identificadas como *C. albicans*, também pelo método do tubo germinativo, somente duas foram confirmadas como *C. albicans* pela técnica do MALDI-TOF/MS. Tubos germinativos representam a iniciação de uma hifa verdadeira, que se desenvolve a partir da célula de levedura, diferindo das pseudohifas por apresentarem paredes paralelas e ausência de constricções¹⁰⁷. Como *C. albicans* (*C. dubliniensis*) é a espécie que produz tubos germinativos de forma consistente, possivelmente, um erro na avaliação microscópica dos resultados tenha ocorrido no laboratório dos isolamentos. Na realidade, as pseudohifas podem ser consideradas, equivocadamente, como tubos germinativos, pela semelhança morfológica entre essas duas estruturas filamentosas, levando ao diagnóstico incorreto. Somado a isso, a literatura relata que falsos positivos para *C. albicans* podem, de fato, ocorrer em percentuais de 1-2% em espécies como *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*^{81,82,108}. Arranjos da morfologia celular semelhantes a estruturas filamentosas podem ter sido também as causas da discrepância na identificação de *C. glabrata* que, na instituição onde foi isolada, empregando a prova do tubo germinativo, foi considerada como *C. albicans*, apesar de *C. glabrata* não ser capaz de produzir nenhum tipo de filamentação^{109,110}.

Importa mencionar ainda que divergências foram encontradas quando se confrontou a prova do tubo germinativo realizada nos laboratórios dos isolamentos primários com a mesma prova realizada no laboratório onde foi executada a presente investigação. No lado notório do estudo, apenas as leveduras que efetivamente eram *C. albicans* (*C. dubliniensis*) demonstraram a capacidade de produzir tubo germinativo, o que correspondeu a 22 das 57 cepas consideradas com *C. albicans* pelas unidades de saúde de Niterói e São Gonçalo. Para as outras 35 cepas, pela semelhança de morfologia, a presença de pseudohifas ou de arranjos celulares pode ter sido interpretada como tubos germinativos, induzindo ao diagnóstico equivocado¹¹¹.

Ao se comparar as identificações procedidas primariamente nas cidades de Duque de Caxias e do Rio de Janeiro (Méier), as discrepâncias entre os testes bioquímicos realizados em aparelho Vitek e a técnica de MALDI-TOF/MS foram claramente menores. Esses resultados estão em linha com o que foi encontrado por Stefaniuk et al.¹¹², que relataram alta correlação entre esses dois métodos. Em Duque de Caxias, apenas *C. pelliculosa* não apresentou concordância com o MALDI-TOF/MS, que a identificou como *C. tropicalis*. De acordo com Svobodova et al.¹¹³, todas os isolados identificados bioquimicamente como *C. pelliculosa* foram também reclassificados em outra espécie de *Candida*, pelo MALDI-TOF/MS. No Rio de Janeiro, por sua vez, somente as cepas de *C. krusei* não se mostraram concordantes com a identificação do MALDI-TOF/MS,



que as considerou como *C. parapsilosis* ou *C. tropicalis*. Da mesma forma, Galán et al.¹¹⁴ e Martínez-Lamas et al.¹¹⁵, empregando a técnica do MALDI-TOF/MS, reclassificaram os isolados de *C. krusei* dentro de diferentes *taxa*. De acordo com Kim et al.¹⁰¹, o uso de métodos bioquímicos pode produzir identificações incorretas, pois os perfis bioquímicos de certos isolados clínicos apresentam mínimas diferenças.

CONCLUSÕES

Como em outros estudos, *Candida não-albicans* foi preponderante, sendo o CTI o setor hospitalar com o maior número de isolamentos^{31,33,40,51}. Espécies emergentes como *C. dubliniensis* e *C. metapsilosis* foram isoladas e suas etiologias foram determinadas apenas pela espectrometria de massas, já que os métodos fenotípicos tradicionais têm baixo poder discriminativo^{83,95,96,101}. Apesar desses métodos tradicionais serem amplamente utilizados na rotina dos laboratórios de micologia clínica¹¹⁶, resultados inconclusivos são frequentemente relatados⁸⁷. Provas morfológicas trazem subjetividade na interpretação dos dados, o que pode levar a ambiguidades e a uma baixa concordância

interlaboratorial¹¹⁷. As provas bioquímicas, todavia, são mais sensíveis e específicas e as inconsistências nas identificações fúngicas são, muitas vezes, decorrentes de um menor poder discriminativo e/ou de um limitado número de *taxa* cadastrados nas bases de dados dos equipamentos^{114,118}. A proteômica de massas em seu formato MALDI-TOF é um novo recurso que tem se mostrado uma ferramenta de identificação célere, precisa e adequada a uma grande número de espécies fúngicas, inclusive aquelas muito relacionadas ou de baixa ocorrência^{23,91}. Correlações fortemente positivas entre as provas moleculares e a técnica de MALDI-TOF/MS têm confirmado essa efetividade na identificação de espécies fúngicas de importância médica^{88,100,102}. Além do diagnóstico micológico, o MALDI-TOF/MS pode ser empregado, ainda, em estudos epidemiológicos nos quais se objetiva conhecer os padrões de dispersão das infecções por fungos¹¹⁵. Em função da produção de uma rápida e acurada identificação fúngica, um melhor manejo dos pacientes críticos e a pronta instituição da terapêutica específica podem minimizar a seleção de cepas resistentes e levar à diminuição do período de internação, impactando de forma positiva os custos de hospitalização tanto em instituições privadas quanto públicas^{90,119,120}.

REFERÊNCIAS

1. Peay KG, Kennedy PG, Talbot JM. Dimensions of biodiversity in the Earth mycobiome. *Nat Rev Microbiol*. 2016;14(7):434-47. doi:10.1038/nrmicro.2016.59
2. Suhr MJ, Hallen-Adams HE. The human gut mycobiome: pitfalls and potentials: a mycologist's perspective. *Mycologia*. 2015;107(6):1057-73. doi:10.3852/15-147
3. Wang X, Veerdonk FL, Netea MG. Basic genetics and immunology of *Candida* infections. *Infect Dis Clin North Am*. 2016;30(1):85-102. doi:10.1016/j.idc.2015.10.010
4. Salazar N, Los Reyes-Gavilán CG. Editorial: Insights into microbe-microbe interactions in human microbial ecosystems: strategies to be competitive. *Front Microbiol*. 2016;23(7):1508. doi:10.3389/fmicb.2016.01508
5. Eliakim-Raz N, Babaoff R, Yahav D, Yanai S, Shaked H, Bishara J. Epidemiology, microbiology, clinical characteristics, and outcomes of candidemia in internal medicine wards-a retrospective study. *Int J Infect Dis*. 2016;52:49-54. doi:10.1016/j.ijid.2016.09.018
6. Douglas AP, Slavin MA. Risk factors and prophylaxis against invasive fungal disease for haematology and stem cell transplant recipients: an evolving field. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2016; 14(12):1165-77. doi:10.1080/14787210.2016.1245613
7. Pfaller M, Neofytos D, Diekema D, Azie N, Meier-Kriesche HU, Quan SP et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 3648 patients: data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH Alliance®) registry, 2004-2008. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012;74(4):323-31. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2012.10.003
8. Pfaller MA, Moet GJ, Messer SA, Jones RN, Castanheira M. *Candida* bloodstream infections: comparison of species distributions and antifungal resistance patterns in community-onset and nosocomial isolates in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2008-2009. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(2):561-6. doi:10.1128/AAC.01079-10
9. Diekema D, Arbefeville S, Boyken L, Kroeger J, Pfaller M. The changing epidemiology of healthcare-associated candidemia over three decades. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012;73(1):45-8. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2012.02.001
10. Hii IM, Chang HL, Lin LC, Lee YL, Liu YM, Liu CE et al. Changing epidemiology of candidemia in a medical center in middle Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect*. 2015;48(3):306-15. doi:10.1016/j.jmii.2013.08.017
11. Mario DA, Denardi LB, Bandeira LA, Antunes MS, Santurio JM, Severo LC et al. The activity of echinocandins, amphotericin B and voriconazole against fluconazole-susceptible and fluconazole-resistant Brazilian *Candida glabrata* isolates. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2012;107(3):433-6. doi:10.1590/S0074-02762012000300022
12. Dagi HT, Findik D, Senkeles C, Arslan U. Identification and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from bloodstream infections in Konya, Turkey. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2016;15(1):36. doi:10.1186/s12941-016-0153-1
13. Nucci M, Queiroz-Telles F, Alvarado-Matute T, Tiraboschi IN, Cortes J, Zurita J et al. Epidemiology of candidemia in Latin America: a laboratory-based survey. *PLoS One*. 2013;8(3):e59373. doi:10.1371/journal.pone.0059373



14. Doi AM, Pignatari AC, Edmond MB, Marra AR, Camargo LF, Siqueira RA et al. Epidemiology and microbiologic characterization of nosocomial candidemia from a Brazilian National Surveillance Program. *PLoS One*. 2016;11(1):e0146909. doi:10.1371/journal.pone.0146909
15. Pereira CA, Marra AR, Camargo LF, Pignatari AC, Sukiennik T, Behar PR et al. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian pediatric patients: microbiology, epidemiology, and clinical features. *PLoS One*. 2013;8(7):e68144. doi:10.1371/journal.pone.0068144
16. Neufeld PM, Melhem MS, Szeszs MW, Ribeiro MD, Amorim EL, Silva M et al. Nosocomial candidiasis in Rio de Janeiro State: distribution and fluconazole susceptibility profile. *Braz J Microbiol*. 2015;46(2):477-84. doi:10.1590/S1517-838246220120023
17. Bailly S, Maubon D, Fournier P, Pelloux H, Schwebel C, Chapuis C et al. Impact of antifungal prescription on relative distribution and susceptibility of *Candida* spp. - Trends over 10 years. *J Infect*. 2016;72(1):103-11. doi:10.1016/j.jinf.2015.09.041
18. Guinea J. Global trends in the distribution of *Candida* species causing candidemia. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20 Suppl 6:5-10. doi:10.1111/1469-0691.12539
19. Wille MP, Guimarães T, Furtado GH, Colombo AL. Historical trends in the epidemiology of candidaemia: analysis of an 11-year period in a tertiary care hospital in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2013;108(3):288-92. doi:10.1590/S0074-02762013000300005
20. Colombo AL, Guimarães T, Sukienik T, Pasqualotto AC, Andreotti R, Queiroz-Telles F et al. Prognostic factors and historical trends in the epidemiology of candidemia in critically ill patients: an analysis of five multicenter studies sequentially conducted over a 9-year period. *Intensive Care Med*. 2014;40(10):1489-98. doi:10.1007/s00134-014-3400-y
21. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução RDC n.º 20, de 10 de abril de 2014. Dispõe sobre o regulamento sanitário para o transporte de material biológico humano. *Diário Oficial União*. 11 abr 2014.
22. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Manual de vigilância sanitária sobre o transporte de material biológico humano para fins de diagnóstico clínico. Brasília, DF: Anvisa; 2015.
23. Taschdjian CL, Burchall JJ, Kozinn PJ. Rappid identification of *Candida albicans* by filamentation on serum and serum substitutes. *Am J Dis Child*. 1960;99:212-5.
24. Dalmau LM. Observations on mycological technique with particular references to pathogenic fungi. *J Pub Heath Trop Med*. 1929;05:302-11. doi:
25. Odds FC, Bernaerts R. CHROMagar *Candida*, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. *J Clin Microbiol*. 1994;32(8):1923-9.
26. Keçeli SA, Dündar D, Tamer GS. Comparison of vitek matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry versus conventional methods in *Candida* identification. *Mycopathologia*. 2016;181(1-2):67-73. doi:10.1007/s11046-015-9944-8
27. Pfaller MA, Castanheira M. Nosocomial candidiasis: antifungal stewardship and the importance of rapid diagnosis. *Med Mycol*. 2016;54(1):1-22. doi:10.1093/mmy/myv076
28. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20(1):133-63. doi:10.1128/CMR.00029-06
29. Lockhart SR, Iqbal N, Cleveland AA, Farley MM, Harrison LH, Bolden CB et al. Species identification and antifungal susceptibility testing of *Candida* bloodstream isolates from population-based surveillance studies in two U.S. cities from 2008 to 2011. *J Clin Microbiol*. 2012;50(11):3435-42. doi:10.1128/JCM.01283-12
30. Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry. *Clin Infect Dis*. 2009;48(12):1695-703. doi:10.1086/599039
31. Pfaller MA, Andes DR, Diekema DJ, Horn DL, Reboli AC, Rotstein C et al. Epidemiology and outcomes of invasive candidiasis due to non-*albicans* species of *Candida* in 2,496 patients: data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH) registry 2004-2008. *PLoS One*. 2014;9(7):e101510. doi:10.1371/journal.pone.0101510
32. Arendrup MC. *Candida* and candidaemia: susceptibility and epidemiology. *Dan Med J*. 2013;60(11):B4698.
33. Krcmery V, Barnes AJ. Non-*albicans Candida* spp. causing fungaemia: pathogenicity and antifungal resistance. *J Hosp Infect*. 2002;50(4):243-60. doi:10.1053/jhin.2001.1151
34. Nieto MC, Tellería O, Cisterna R. Sentinel surveillance of invasive candidiasis in Spain: epidemiology and antifungal susceptibility. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2015;81(1):34-40. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2014.05.021
35. Clark-Ordóñez I, Callejas-Negrete OA, Aréchiga-Carvajal ET, Mourriño-Pérez RR. *Candida* species diversity and antifungal susceptibility patterns in oral samples of HIV/AIDS patients in Baja California, Mexico. *Med Mycol*. 2016 Sep. doi:10.1093/mmy/myw069
36. Gonçalves SS, Souza AC, Chowdhary A, Meis JF, Colombo AL. Epidemiology and molecular mechanisms of antifungal resistance in *Candida* and *Aspergillus*. *Mycoses*. 2016;59(4):198-219. doi:10.1111/myc.12469
37. Bassetti M, Taramasso L, Nicco E, Molinari MP, Mussap M, Viscoli C. Epidemiology, species distribution, antifungal susceptibility and outcome of nosocomial candidemia in a tertiary care hospital in Italy. *PLoS One*. 2011;6(9):e24198. doi:10.1371/journal.pone.0024198
38. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Hollis RJ, Messer SA. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and antifungal susceptibilities of isolates collected in 1997 in the United States, Canada, and South America for the SENTRY Program. *J Clin. Microbiol*. 1998;36(7):1886-9.



39. Faria-Ramos I, Neves-Maia J, Ricardo E, Santos-Antunes J, Silva AT, Costa-de-Oliveira S et al. Species distribution and in vitro antifungal susceptibility profiles of yeast isolates from invasive infections during a Portuguese multicenter survey. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014;33(12):2241-7. doi:10.1007/s10096-014-2194-8
40. Liu W, Tan J, Sun J, Xu Z, Li M, Yang Q et al. Invasive candidiasis in intensive care units in China: in vitro antifungal susceptibility in the China-SCAN study. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69(1):162-7. doi:10.1093/jac/dkt330
41. Colombo AL, Nucci M, Park BJ, Nouér SA, Arthington-Skaggs B, Matta DA et al. Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. *J Clin Microbiol*. 2006;44(8):2816-23. doi:10.1128/JCM.00773-06
42. Colombo AL, Guimarães T. Candidúria: uma abordagem terapêutica. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007;40(3):332-7. doi:10.1590/S0037-86822007000300016
43. Arendrup MC, Dzajic E, Jensen RH, Johansen HK, Kjaeldgaard P, Knudsen JD et al. Epidemiological changes with potential implication for antifungal prescription recommendations for fungaemia: data from a nationwide fungaemia surveillance programme. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19(8):E343-53. doi:10.1111/1469-0691.12212
44. Bassetti M, Merelli M, Righi E, Diaz-Martin A, Rosello EM, Luzzati R et al. Epidemiology, species distribution, antifungal susceptibility, and outcome of candidemia across five sites in Italy and Spain. *J Clin Microbiol*. 2013;51(12):4167-72. doi:10.1128/JCM.01998-13
45. Cleveland AA, Farley MM, Harrison LH, Stein B, Hollick R, Lockhart SR et al. Changes in incidence and antifungal drug resistance in candidemia: results from population-based laboratory surveillance in Atlanta and Baltimore, 2008-2011. *Clin Infect Dis*. 2012;55(10):1352-61. doi:10.1093/cid/cis697
46. Aquino VR, Lunardi LW, Goldani LZ, Barth AL. Prevalence, susceptibility profile for fluconazole and risk factors for candidemia in a tertiary care hospital in southern Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2005;9(5):411-8. doi:10.1590/S1413-86702005000500009
47. França JC, Ribeiro CE, Queiroz-Telles Fd. Candidemia em um hospital terciário brasileiro: incidência, frequência das diferentes espécies, fatores de risco e suscetibilidade aos antifúngicos. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008;41(1):23-8. doi:10.1590/S0037-86822008000100005
48. Silva-Rocha WP, Lemos VL, Svidizinski TI, Milan EP, Chaves GM. *Candida* species distribution, genotyping and virulence factors of *Candida albicans* isolated from the oral cavity of kidney transplant recipients of two geographic regions of Brazil. *BMC Oral Health*. 2014;14(1):20. doi:10.1186/1472-6831-14-20
49. Asensio A, Muñoz E, Cantero M, Ramos A. *Candida guilliermondii* fungemia in hospitalized patients epidemiologically linked to a patient care attendant. *Am J Infect Control*. 2015;43(9):1012-4. doi:10.1016/j.ajic.2015.04.207
50. Pinhati HM, Casulari LA, Souza AC, Siqueira RA, Damasceno CM, Colombo AL. Outbreak of candidemia caused by fluconazole resistant *Candida parapsilosis* strains in an intensive care unit. *BMC Infect Dis*. 2016;16(1):433. doi:10.1186/s12879-016-1767-9
51. Li C, Wang H, Yin M, Han H, Yue JF, Zhang F et al. The differences in the epidemiology and predictors of death between candidemia acquired in intensive care units and other hospital settings. *Intern Med*. 2015;54(23):3009-16. doi:10.2169/internalmedicine.54.3744
52. Papon N, Savini V, Lanoue A, Simkin AJ, Crèche J, Giglioli-Guivarc'h N et al. *Candida guilliermondii*: Biotechnological applications, perspectives for biological control, emerging clinical importance and recent advances in genetics. *Curr Genet*. 2013;59(3):73-90. doi:10.1007/s00294-013-0391-0
53. Savini V, Catavittello C, Onofrillo D, Masciarelli G, Astolfi D, Balbinot A et al. What do we know about *Candida guilliermondii*? A voyage throughout past and current literature about this emerging yeast. *Mycoses*. 2011;54(5):434-41. doi:10.1111/j.1439-0507.2010.01960.x
54. Pfaller MA, Diekema DJ, Mendez M, Kibbler C, Erzsebet P, Chang SC et al. *Candida guilliermondii*, an opportunistic fungal pathogen with decreased susceptibility to fluconazole: geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK antifungal surveillance program. *J Clin Microbiol*. 2006;44(10):3551-6. doi:10.1128/JCM.00865-06
55. Jamil S, Jamil N, Saad U, Hafiz S, Siddiqui S. Frequency of *Candida albicans* in Patients with Funguria. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2016;26(2):113-6.
56. Rishpana MS, Kabbin JS. Candiduria in catheter associated urinary tract infection with special reference to biofilm production. *J Clin Diagn Res*. 2015;9(10):DC11-3.
57. Toner L, Papa N, Aliyu SH, Dev H, Lawrentschuk N, Al-Hayek S. *Candida* growth in urine cultures: a contemporary analysis of species and antifungal susceptibility profiles. *QJM*. 2016;109(5):325-9. doi:10.1093/qjmed/hcv202
58. Neves-Junior A, Cartágenes-Pinto AC, Rocha DA, Sá LF, Junqueira ML, Ferreira-Pereira A. Prevalence and fluconazole susceptibility profile of *Candida* spp. clinical isolates in a Brazilian tertiary hospital in Minas Gerais, Brazil. *An Acad Bras Cienc*. 2015;87(2 Suppl):1349-59. doi:10.1590/0001-3765201520140717
59. Furlaneto MC, Rota JF, Quesada RM, Furlaneto-Maia L, Rodrigues R, Oda S et al. Species distribution and in vitro fluconazole susceptibility of clinical *Candida* isolates in a Brazilian tertiary-care hospital over a 3-year period. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2011;44(5):595-9. doi:10.1590/S0037-86822011000500013
60. Bruder-Nascimento A, Camargo CH, Sugizaki MF, Sadatsune T, Montelli AC, Mondelli AL et al. Species distribution and susceptibility profile of *Candida* species in a Brazilian public tertiary hospital. *BMC Res Notes*. 2010;3(1):1-5. doi:10.1186/1756-0500-3-1
61. Wang JL, Chang SC, Hsueh PR, Chen YC. Species distribution and fluconazole susceptibility of *Candida* clinical isolates in a medical center in 2002. *J Microbiol Immunol Infect*. 2004;37(4):236-41.



62. Sandford GR, Merz WG, Wingard JR, Charache P, Saral R. The value of fungal surveillance cultures as predictors of systemic fungal infections. *J Infect Dis.* 1980;142(4):503-9. doi:10.1093/infdis/142.4.503
63. Pfaller M, Cabezudo I, Koontz F, Bale M, Gingrich R. Predictive value of surveillance cultures for systemic infection due to *Candida* species. *Eur J Clin Microbiol.* 1987;6(6):628-33. doi:10.1007/BF02013057
64. Agvald-Ohman C, Klingspor L, Hjelmqvist H, Edlund C. Invasive candidiasis in long-term patients at a multidisciplinary intensive care unit: *Candida* colonization index, risk factors, treatment and outcome. *Scand J Infect Dis.* 2008;40(2):145-53. doi:10.1080/00365540701534509
65. Aubron C, Suzuki S, Glassford NJ, Garcia-Alvarez M, Howden BP, Bellomo R. The epidemiology of bacteriuria and candiduria in critically ill patients. *Epidemiol Infect.* 2015;143(3):653-62. doi:10.1017/S0950268814000934
66. Bougnoux ME, Kac G, Aegerter P, d'Enfert C, Fagon JY. Candidemia and candiduria in critically ill patients admitted to intensive care units in France: incidence, molecular diversity, management and outcome. *Intensive Care Med.* 2008;34(2):292-9. doi:10.1007/s00134-007-0865-y
67. Stempel JM, Farmakiotis D, Tarrand JJ, Kontoyiannis DP. Time-to-reporting of blood culture positivity and central venous catheter-associated *Candida glabrata* fungemia in cancer patients. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2016;85(3):391-3. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2016.04.001
68. McCarty TP, Pappas PG. Invasive Candidiasis. *Infect Dis Clin North Am.* 2016;30(1):103-24. doi:10.1016/j.idc.2015.10.013
69. Guillamet CV, Vazquez R, Micek ST, Ursu O, Kollef M. Development and validation of a clinical prediction rule for candidemia in hospitalized patients with severe sepsis and septic shock. *J Crit Care.* 2015;30(4):715-20. doi:10.1016/j.jcrc.2015.03.010
70. Gahlot R, Nigam C, Kumar V, Yadav G, Anupurba S. Catheter-related bloodstream infections. *Int J Crit Illn Inj Sci.* 2014;4(2):162-7. doi:10.4103/2229-5151.134184
71. Da Matta DA, Melo AS, Colombo AL, Frade JP, Nucci M, Lott TJ. Candidemia surveillance in Brazil: evidence for a geographical boundary defining an area exhibiting an abatement of infections by *Candida albicans* group 2 strains. *J Clin Microbiol.* 2010;48(9):3062-7. doi:10.1128/JCM.00262-10
72. Colombo AL, Cortes JA, Zurita J, Guzman-Blanco M, Alvarado Matute T, Queiroz Telles F et al. Recommendations for the diagnosis of candidemia in Latin America. *Rev Iberoam Micol.* 2013;30(3):150-7. doi:10.1016/j.riam.2013.05.008
73. Kato H, Iizawa Y, Kishiwada M, Usui M, Nakamura A, Murata Y et al. Negative impact of biliary candidiasis on early and late postoperative complications after pancreatoduodenectomy usefulness of the CHROMagar *Candida* plate for identification. *Pancreas.* 2016;45(9):e45-7. doi:10.1097/MPA.0000000000000682
74. Horvath LL, Hospenthal DR, Murray CK, Dooley DP. Direct isolation of *Candida* spp. from blood cultures on the chromogenic medium CHROMagar *Candida*. *J Clin Microbiol.* 2003;41(6):2629-32. doi:10.1128/JCM.41.6.2629-2632.2003
75. Yücesoy M, Marol S. Performance of CHROMAGAR *Candida* and BIGGY agar for identification of yeast species. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2003;2:8. doi:10.1186/1476-0711-2-8
76. García-Martos P, García-Agudo R, Hernández-Molina JM, Marín P, Tallero E, Mira J. Identification of yeasts of clinical interest on CHROMagar *Candida* culture medium. *Rev Iberoam Micol.* 1998;15(3):131-5.
77. San-Millán R, Ribacoba L, Pontón J, Quindós G. Evaluation of a commercial medium for identification of *Candida* species. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1996;15(2):153-8. doi:10.1007/BF01591489
78. Hospenthal DR, Beckius ML, Floyd KL, Horvath LL, Murray CK. Presumptive identification of *Candida* species other than *C. albicans*, *C. krusei*, and *C. tropicalis* with the chromogenic medium CHROMagar *Candida*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2006;5:1. doi:10.1186/1476-0711-5-1
79. Muriel MA, Vizcaíno MJ, Bilbao R, Herruzo R. Identification of yeast and sensitivity in vitro against different antifungal agents. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2000;18(3):120-4.
80. Sheppard DC, Locas MC, Restieri C, Laverdiere M. Utility of the germ tube test for direct identification of *Candida albicans* from positive blood culture bottles. *J Clin Microbiol.* 2008;46(10):3508-9. doi:10.1128/JCM.01113-08
81. Terlecka JA, du Cros PA, Orla Morrissey C, Spelman D. Rapid differentiation of *Candida albicans* from non-*albicans* species by germ tube test directly from BacTAlert blood culture bottles. *Mycoses.* 2007;50(1):48-51. doi:10.1111/j.1439-0507.2006.01307.x
82. Carrillo-Muñoz AJ, Quindós G, Cárdenes CD, Alonso-Vargas R, Arévalo P, Brió S et al. Evaluation of Chromalbicans Agar for presumptive identification of *Candida albicans*. *Rev Iberoam Micol.* 2001;18(3):105-8. Spanish.
83. Lo HJ, Ho YA, Ho M. Factors accounting for misidentification of *Candida* species. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1998;32(3):217-21.
84. Sand C, Rennie RP. Comparison of three commercial systems for the identification of germ-tube negative yeast species isolated from clinical specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1999;33(4):223-29. doi:10.1016/S0732-8893(98)00138-2
85. Yazdanpanah A, Khaithir TM. Issues in identifying germ tube positive yeasts by conventional methods. *J Clin Lab Anal.* 2014;28(1):1-9. doi:10.1002/jcla.21635
86. Fotedar R, al-Hedaithy SS. Identification of chlamyospore-negative *Candida albicans* using CHROMagar *Candida* medium. *Mycoses.* 2003;46(3-4):96-103. doi:10.1046/j.1439-0507.2003.00867.x
87. 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. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;71(3):304-8. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2011.07.002
88. Yaman G, Akyar I, Can S. Evaluation of the MALDI TOF-MS method for identification of *Candida* strains isolated from blood cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012;73(1):65-7. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2012.01.013



89. Marklein G, Josten M, Klanke U, Müller E, Horré R, Maier T et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for fast and reliable identification of clinical yeast isolates. *J Clin Microbiol*. 2009;47(9):2912-7. doi:10.1128/JCM.00389-09
90. Relloso MS, Nieves J, Fares Taie S, Farquharson V, Mujica MT, Romano V et al. Evaluation of mass spectrometry: MALDI-TOF/MS for fast and reliable yeast identification. *Rev Argent Microbiol*. 2015;47(2):103-7. Spanish. doi:10.1016/j.ram.2015.02.004
91. Roberts AL, Alelew A, Iwen PC. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry to differentiate between *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2016;85(1):73-6. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2016.01.017
92. Quiles-Melero I, García-Rodríguez J, Gómez-López A, Mingorance J. Evaluation of matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry for identification of *Candida parapsilosis*, *C. orthopsilosis* and *C. metapsilosis*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012;31(1):67-71. doi:10.1007/s10096-011-1277-z
93. Morales-López SE, Taverna CG, Bosco-Borgeat ME, Maldonado I, Vivot W, Szusz W et al. *Candida glabrata* species complex prevalence and antifungal susceptibility testing in a culture collection: first description of *Candida nivariensis* in Argentina. *Mycopathologia*. 2016. doi:10.1007/s11046-016-0052-1
94. Girard V, Mailler S, Chetry M, Vidal C, Durand G, Belkum A et al. Identification and typing of the emerging pathogen *Candida auris* by matrix-assisted laser desorption ionisation time of flight mass spectrometry. *Mycoses*. 2016;59(8):535-8. doi:10.1111/myc.12519
95. De Carolis E, Hensgens LA, Vella A, Posteraro B, Sanguinetti M, Senesi S et al. Identification and typing of the *Candida parapsilosis* complex: MALDI-TOF MS vs. AFLP. *Med Mycol*. 2014;52(2):123-30. doi:10.1093/mmy/myt009
96. Hof H, Eigner U, Maier T, Staib P. Differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans* by means of MALDI-TOF mass spectrometry. *Clin Lab*. 2012;58(9-10):927-31. doi:10.7754/Clin.Lab.2012.111213
97. Sullivan DJ, Westerneng TJ, Haynes KA, Bennett DE, Coleman DC. *Candida dubliniensis* sp. nov.: phenotypic and molecular characterization of a novel species associated with oral candidosis in HIV-infected individuals. *Microbiology*. 1995;141(Pt 7):1507-21. doi:10.1099/13500872-141-7-1507
98. Tavanti A, Davidson AD, Gow NA, Maiden MC, Odds FC. *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* spp. nov. to replace *Candida parapsilosis* groups II and III. *J Clin Microbiol*. 2005;43(1):284-92. doi:10.1128/JCM.43.1.284-292.2005
99. Barbedo LS, Figueiredo-Carvalho MH, Muniz MM, Zancopé-Oliveira RM. The identification and differentiation of the *Candida parapsilosis* complex species by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism of the internal transcribed spacer region of the rDNA. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2016;111(4):267-70. doi:10.1590/0074-02760150466
100. Fraser M, Brown Z, Houldsworth M, Borman AM, Johnson EM. Rapid identification of 6328 isolates of pathogenic yeasts using MALDI-ToF MS and a simplified, rapid extraction procedure that is compatible with the Bruker Biotyper platform and database. *Med Mycol*. 2016;54(1):80-8. doi:10.1093/mmy/myv085
101. Kim SH, Shin JH, Mok JH, Kim SY, Song SA, Kim HR et al. Misidentification of *Candida guilliermondii* as *C. famata* among strains isolated from blood cultures by the VITEK 2 system. *Biomed Res Int*. 2014;2014:250408. doi:10.1155/2014/250408
102. Lima-Neto R, Santos C, Lima N, Sampaio P, Pais C, Neves RP. Application of MALDI-TOF MS for requalification of a *Candida clinical* isolates culture collection. *Braz J Microbiol*. 2014;45(2):515-22. doi:10.1590/S1517-83822014005000044
103. Sendid B, Ducoroy P, François N, Lucchi G, Spinali S, Vagner O et al. Evaluation of MALDI-TOF mass spectrometry for the identification of medically-important yeasts in the clinical laboratories of Dijon and Lille hospitals. *Med Mycol*. 2013;51(1):25-32. doi:10.3109/13693786.2012.693631
104. Spanu T, Posteraro B, Fiori B, D'Inzeo T, Campoli S, Ruggeri A et al. Direct Maldi-Tof Mass Spectrometry assay of blood culture broths for rapid identification of *Candida* species causing bloodstream infections: an observational study in two large microbiology laboratories. *J Clin Microbiol*. 2012;50(1):176-9. doi: 10.1128/JCM.05742-11
105. Bader O, Weig M, Taverne-Ghadwal L, Lugert R, Gross U, Kuhns M. Improved clinical laboratory identification of human pathogenic yeasts by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17(9):1359-65. doi:10.1111/j.1469-0691.2010.03398.x
106. Lacroix C, Gicquel A, Sendid B, Meyer J, Accoceberry I, François N et al. Evaluation of two matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) systems for the identification of *Candida* species. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20(2):153-8. doi:10.1111/1469-0691.12210
107. Berardinelli S, Opheim DJ. New germ tube induction medium for the identification of *Candida albicans*. *J Clin Microbiol*. 1985;22(5):861-2.
108. Lipperheide V, Andracka L, Pontón J, Quindós G. Evaluation of the albicans IDR plate method for the rapid identification of *Candida albicans*. *Mycoses*. 1993;36(11-2):299-303. doi:10.1111/j.1439-0507.1993.tb00731.x
109. Fidel PL Jr, Vazquez JA, Sobel JD. *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. *Clin Microbiol Rev*. 1999;12(1):80-96. doi:
110. Ho HL, Haynes K. *Candida glabrata*: new tools and technologies-expanding the toolkit. *FEMS Yeast Res*. 2015;15(6). doi:10.1093/femsyr/fov066



111. Barbedo LS, Sgarbi DBG. Candidíase. J Bras Doenças Sex Transm. 2010;22(1):22-38.
112. Stefaniuk E, Baraniak A, Fortuna M, Hryniewicz W. Usefulness of CHROMagar *Candida medium*, biochemical methods: API ID32C and VITEK 2 compact and two MALDI-TOF MS systems for *Candida* spp. identification. Pol J Microbiol. 2016;65(1):111-4. doi:10.5604/17331331.1197283
113. Svobodova L, Bednarova D, Ruzicka F, Chrenkova V, Dobias R, Mallatova N et al. High frequency of *Candida fabianii* among clinical isolates biochemically identified as *Candida pelliculosa* and *Candida utilis*. Mycoses. 2016;59(4):241-6. doi:10.1111/myc.12454
114. Galán F, García-Agudo L, Guerrero I, Marín P, García-Tapia A, García-Martos Pet al. Evaluación de la espectrometría de masas en la identificación de levaduras de interés clínico. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2015;33(6):372-8. doi:10.1016/j.eimc.2014.10.003
115. Martínez-Lamas L, Pérez del Molino ML, Pardo F, Varela E, Regueiro BJ. Espectrometría de masas matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight vs. metodología convencional en la identificación de *Candida non-albicans*. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2011;29(8):568-72. doi:10.1016/j.eimc.2011.03.014
116. Perfect JR. Fungal diagnosis: how do we do it and can we do better? Curr Med Res Opin. 2013;29(Suppl 4):3-11. doi:10.1185/03007995.2012.761134
117. Reis MA, Rezende CA, Neufeld PM. External quality control in mycology: performance evaluation of clinical analysis laboratories participating in the National Program of Quality Control. Rev Bras An Clin. 2015;47(1-2):25-33.
118. Durán-Valle MT, Sanz-Rodríguez N, Muñoz-Paraíso C, Almagro-Moltó M, Gómez-Garcés JL. Identification of clinical yeasts by Vitek MS system compared with API ID 32 C. Med Mycol. 2014;52(4):342-9. doi:10.1093/mmy/myt036
119. Pedrosa EG, Gimeno C, Soriano A, Cantón R. Estudios de coste-efectividad con MALDI-TOF e impacto clínico. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2016;34(Suppl 2):47-52. doi:10.1016/S0213-005X(16)30191-4
120. Pulcrano G, Iula DV, Vollaro A, Tucci A, Cerullo M, Esposito M, Rossano F, Catania MR. Rapid and reliable MALDI-TOF mass spectrometry identification of *Candida non-albicans* isolates from bloodstream infections. J Microbiol Methods. 2013;94(3):262-6. doi:10.1016/j.mimet.2013.07.001

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Dr. Pedro Peloso e ao Laboratório Richet por facilitarem o acesso ao aparelho de Maldi-Tof, utilizado na presente investigação.

Conflito de Interesse

Os autores informam não haver qualquer potencial conflito de interesse com pares e instituições, políticos ou financeiros deste estudo.



Esta publicação está sob a licença Creative Commons Atribuição 3.0 não Adaptada.

Para ver uma cópia desta licença, visite http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/deed.pt_BR.