Fatores de virulência de espécies de *candida* isoladas na saliva de profissionais da saúde

Factores de virulencia de las especies de *candida* aisladas en la salvación de los profesionales de la salud

DOI: 10.46814/lajdv4n1-006

Recebimento dos originais: 01/12/2021

Aceitação para publicação: 21/01/2022

Fernando Yano Abrão

Mestre em Biologia da Relação Parasito Hospedeiro
Faculdade Unida de Campinas
Rua 234, N° 371 Setor Coimbra, Goiânia – GO, Brasil
E-mail. yanobruce@gmail.com

Laís Carneiro Naziasene Lima Marreto

Mestre em Biologia de Relação Parasito- Hospedeiro
Faculdade Unida de Campinas
Rua 234, N° 371 Setor Coimbra, Goiânia – GO, Brasil
E-mail: laiscnlma@gmail.com

Jacqueline Campos Borba de Carvalho

Doutorado em Agronomia Pela Universidade Federal de Goiás
Faculdade Unida de Campinas
Rua 234, N° 371 Setor Coimbra, Goiânia – GO, Brasil
E-mail: jacquelinecamposcarvalho@gmail.com

Pablo Henrique dos Santos Silva

Graduando em Farmácia pela Universidade Federal de Goiás
Universidade Federal de Goiás/ Faculdade de Farmácia
Rua 240, esquina com a 5ª Avenida, s/n° Setor Leste Universitário, Setor Leste Universitário, Goiânia
- GO, Brasil
E-mail: zpabloh.ufg@gmail.com

Flávio Silva de Carvalho

Doutor em Química
Centro Universitário de Goiás
Av. João Candido de Oliveira, 115 - Cidade Jardim, Goiânia – GO, Brasil
E-mail: flavioas8@hotmail.com

Rosana Pereira Moraes

Mestre em Biologia de Relação Parasito- Hospedeiro
FacUnicamps
Rua 234, N° 371 Setor Coimbra, Goiânia – GO, Brasil
E-mail: rosanapm@gmail.com

Lúcia Kioko Hasimoto e Souza

Doutor em Medicina Tropical e Saúde Pública

Universidade Federal de Goiás/Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública

R. 235, s/n.º, Setor Leste Universitário, Goiânia - GO, Brasil

E-mail: luciaksouza@gmail.com

RESUMO

Fungos do gênero *Candida* fazem parte da microbiota normal e pode causar infecções em indivíduos imunocomprometidos, com o auxílio de seus fatores de virulência. Os profissionais da saúde podem ser uma possível fonte de infecção no ambiente hospitalar. Foram avaliados fatores de virulência como atividade de proteinase e fosfolipase, fator hemolítico e a resistência a antifúngicos em 37 isolados de *Candida albicans* e 10 *C. parapsilosis* provenientes da saliva de profissionais da saúde. A atividade de proteinase foi observada em 84% dos isolados de *C. albicans* e 80% de *C. parapsilosis* e destas, atividade fortemente positiva foram obtidas para 46% e 50% respectivamente. A atividade de fosfolipase foi observada para 80% dos isolados de *C. parapsilosis*, embora nenhum com atividade fortemente positiva, enquanto 92% dos isolados de *C. albicans* produziram fosfolipase, sendo que 19% destes apresentaram atividade fortemente positiva. A maioria dos isolados apresentaram hemólise total (beta hemólise) em ágar Sabouraud dextrose suplementado com sangue de carneiro e glicose, com média do diâmetro da hemólise de 2,41 e 2,57 para *C. albicans* e *C. parapsilosis* respectivamente. A avaliação da suscetibilidade antifúngica por disco difusão não demonstrou a presença de isolados resistentes ao fluconazol, itraconazol, voriconazol e anfotericina B, porém 8 isolados de *C. albicans* e 1 de *C. parapsilosis* se mostraram dose dependente, ao quando avaliados com o itraconazol. A detecção de isolados de *C. albicans* e *C. parapsilosis* isolados da saliva de profissionais da saúde, produtores de importantes fatores de virulência, como proteinase, fosfolipase e fator hemolítico, responsáveis pelo estabelecimento da infecção, evidenciam a necessidade de medidas de prevenção para evitar a transmissão exógena destes patógenos, especialmente no ambiente hospitalar.

Palavras-chave: *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, suscetibilidade in vitro, proteinase, fosfolipase, hemólise.

RESUMEN

Los hongos del género *Candida* forman parte de la microbiota normal y pueden causar infecciones en individuos inmunodeprimidos con la ayuda de sus factores de virulencia. El personal sanitario puede ser una posible fuente de infección en el entorno hospitalario. Se evaluaron factores de virulencia como la actividad de la proteinasa y la fosfolipasa, el factor hemolítico y la resistencia a los antifúngicos en 37 aislados de *Candida albicans* y 10 de *C. parapsilosis* procedentes de la saliva de trabajadores sanitarios. Se observó actividad de proteinasa en el 84% de los aislados de *C. albicans* y en el 80% de los de *C. parapsilosis* y, de éstos, se obtuvo una actividad fuertemente positiva para el 46% y el 50% respectivamente. Se observó actividad fosfolipasa en el 80% de los aislados de *C. parapsilosis*, aunque ninguno mostró una actividad fuertemente positiva, mientras que el 92% de los aislados de *C. albicans* produjeron fosfolipasa, el 19% de los cuales mostró una actividad fuertemente positiva. La mayoría de los aislados mostraron hemólisis total (beta hemólisis) en agar dextrosa Sabouraud suplementado con sangre de oveja y glucosa, con un diámetro medio de hemólisis de 2,41 y 2,57 para *C. albicans* y *C. parapsilosis* respectivamente. La evaluación de la susceptibilidad antifúngica por difusión en disco no demostró la presencia de aislados resistentes a fluconazol, itraconazol, voriconazol y anfotericina B, sin embargo 8 aislados de *C. albicans* y 1 de *C. parapsilosis* fueron dosis dependientes cuando se evaluaron con itraconazol. La detección de aislados de *C. albicans* y *C. parapsilosis* en la saliva de profesionales sanitarios, productores de importantes factores de virulencia, como la proteinasa, la fosfolipasa y el factor hemolítico, responsables del establecimiento de la infección, ponen de

manifiesto la necesidad de adoptar medidas preventivas para evitar la transmisión exógena de estos patógenos, especialmente en el ámbito hospitalario.

Palabras clave: *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, susceptibilidad in vitro, proteinasa, fosfolipasa, hemólisis.

1 INTRODUÇÃO

Leveduras do gênero *Candida* colonizam a pele, mucosas do trato gastrointestinal, vaginal e bucal em aproximadamente 50% da população saudável (SILVA et al., 2002). *C. albicans* é a principal espécie isolada colonizando a mucosa bucal de profissionais da saúde, assim como outras espécies *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *C. famata* (ATAIDES et al., 2010).

A colonização assintomática é um evento frequente e é considerada um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de infecção fúngica em pacientes debilitados e a presença de leveduras em profissionais da saúde e tem preocupado as equipes de controle de infecção hospitalar, pois podem ser fonte de contaminação e transmissão inter-humana (HA & WHITE, 1999; HOUSSAIN et al., 2003; KOGA-ITO et al., 2006; PALOS et al. 2009; ATAIDES et al., 2010). A candidíase hoje é um desafio para a medicina atual ocupando a quarta posição na causa de septicemia (PFALLER e DIEKEMA, 2007; WISPLINGHOFF et al., 2004) e seu índice de mortalidade mesmo após o tratamento medicamentoso é alto, variando de 40 a 60% (SENEVIRATNE et al., 2008; WARNOCK 2007; BARNES 2008).

C. albicans e *C. parapsilosis* apresentam diversos fatores de virulência, a produção de exoenzimas como proteases e fosfolipases, a produção de fator hemolítico, que são mecanismos que auxiliam na degradação tecidual, facilitam a sua proliferação e estabelecimento da infecção e a resistência aos antifúngicos que dificulta o tratamento medicamentoso (ODDS 1988; CALDERONI 2001; NAGLIK et al., 2003; KANAFANI & PERFECT 2008).

O objetivo deste trabalho foi avaliar os fatores de virulência e verificar a suscetibilidade a antifúngicos de isolados de *C. albicans* e *C. parapsilosis* isoladas da saliva de profissionais da saúde.

2 METODOLOGIA

2.1 ISOLADOS

Foram incluídos neste estudo 37 *C. albicans* e 10 *C. parapsilosis* isolados da saliva de profissionais da saúde do Hospital Araújo Jorge - Goiânia-GO. A identificação dos isolados foi realizada segundo Kurtzman e Fell (1998) através de produção de tubo germinativo em soro fetal

bovino, produção de clamidoconídios em ágar fubá com tween 80, assimilação de carbono e nitrogênio e fermentação de açúcares.

2.2 ATIVIDADE DE PROTEINASE

A atividade de proteinase foi avaliada através do método de Ruchel et al. (1982). Uma colônia de *Candida* foi inoculada em meio base de proteinase contendo Yeast Carbon Base (YCB), soro albumina bovina, protovit (Roche) e água destilada, ajustada a pH 5,0. Após 5 dias de incubação a 37°C foi observado a presença de um halo de degradação ao redor do crescimento da colônia, demonstrando a atividade da enzima. *C. albicans* (ICB 12A) foi utilizada como controle positivo. A atividade enzimática (Pz) foi avaliada através do cálculo da razão entre o diâmetro da colônia (dc) e o diâmetro da colônia mais a zona de degradação (dcp) (PRICE et al., 1982). O coeficiente Pz classificou os isolados em 3 classes (Tabela 1).

Tabela 1. Classificação de atividade de proteinase e fosfolipase de acordo com valores obtidos de Pz.

Pz	Atividade enzimática	Código
= 1,0	Ausência	1
$\geq 0,64 < 1,0$	Positiva	2
$< 0,64$	Fortemente Positiva	3

2.3 ATIVIDADE DE FOSFOLIPASE

A avaliação de atividade de fosfolipase foi realizada em ágar Sabouraud dextrose suplementado com 1 mol/L de cloreto de sódio, 0,005 mol/L de cloreto de cálcio e 8% de gema de ovo (PRICE et al., 1982). A amostra de levedura inoculada na superfície do meio, e após 5 dias de incubação a 37°C foi observado a produção de fosfolipase através da formação de uma zona de precipitação opaca em torno da colônia, demonstrando a atividade da enzima. Como controle positivo foi utilizado *C. albicans* (ATCC 10231). A atividade de fosfolipase (Pz) foi obtida pelo cálculo da razão entre o diâmetro da colônia (dc) e o diâmetro formado pela colônia e a zona de precipitação (dpc), conforme descrito anteriormente para proteinase.

2.4 FATOR HEMOLÍTICO

A detecção do fator hemolítico foi realizada em ágar Sabouraud dextrose contendo 3% de glicose e 7% de sangue de carneiro desfibrinado, com pH ajustado a $5,6 \pm 0,2$ (LUO et al., 2001). As amostras foram inoculadas na superfície do meio de cultura e a incubação realizada a 37°C por 48 horas. A presença de hemólise foi visualizada pelo halo ao redor da colônia e o fator hemolítico foi calculado pela razão entre o diâmetro da colônia mais da hemólise, dividido pelo diâmetro da colônia.

Como controle positivo foi utilizado *C. albicans* (ATCC 10231) e *C. parapsilosis* (ATCC 22019) foi usada como controle negativo.

2.5 TESTE DE SUSCETIBILIDADE ANTIFÚNGICA POR DISCO DE DIFUSÃO

Os testes de suscetibilidade antifúngica para itraconazol, fluconazol, anfotericina B e voriconazol foram realizados segundo Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI), documento M44-A, 2004, utilizando placas contendo meio de Muller Hinton suplementado com 2% de glicose e 0,5 µg/mL de azul de metileno. A partir de colônias de *Candida* provenientes de culturas de 24 horas em ASD, foi preparado um inoculo em solução salina 0,85% com turvação comparada com o padrão 0,5 da escala de McFarland. Esta suspensão foi transferida para superfície do meio com um swab estéril em dois sentidos, para garantir uma distribuição uniforme. Em seguida foram colocados os disco de fluconazol (25 µg), voriconazol (1 µg), itraconazol (10 µg) e anfotericina B (100 µg). As placas foram incubadas a 35°C por 24h e o diâmetro da zona de inibição foi medido utilizando uma régua. *Candida parapsilosis* ATCC 22019 foi usada como controle.

Os critérios de interpretação para classificação do antifúngico em resistente, dose dependente e sensível estão relacionados na tabela 2.

Tabela 2. Classificação de *C. albicans* e *C. parapsilosis* frente aos agentes antifúngicos de acordo com o diâmetro da zona de inibição utilizando a técnica de disco difusão.

Antifúngico/Concentração	Diâmetro da zona de inibição (mm)		
	Resistente	Dose dependente	Sensível
Fluconazol ¹ (25 µg)	≤14	15-18	≥19
Voriconazol ¹ (1 µg)	≤13	14-16	≥17
Itraconazol ² (10 µg)	≤11	12-19	≥20
Anfotericina B ³ (100 µg)	≤9	10-14	≥15

Fonte: ¹CLSI, M44A; ²Negri et al., 2009; ³ Vasconcelos et al., 2011.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade das exoenzimas fosfolipase e proteinase foram avaliadas em 37 isolados de *C. albicans* e 10 *C. parapsilosis* através do halo formado em seus respectivos meios de cultura (Figura 1).

Figura 1. Atividade de fosfolipase (1) e proteinase (2) de isolados de *C. albicans* e *C. parapsilosis* demonstrando o halo de degradação ao redor da colônia resultado da atividade enzimática.

Para *C. albicans* a atividade de proteinase e fosfolipase foi observada em 84 % e 92% dos isolados respectivamente, enquanto 80 % de *C. parapsilosis* demonstraram atividade de proteinase e fosfolipase. Embora a atividade de fosfolipase tenha sido observada para a maioria dos isolados de *C. parapsilosis*, nenhum destes apresentou alta atividade desta enzima e 19% dos isolados de *C. albicans* foram altamente produtores de fosfolipase. A atividade de proteinases mostrou que 46% dos isolados de *C. albicans* e 50% para *C. parapsilosis* foram fortemente positivos (Tabela 3).

Tabela 3. Distribuição de valores de atividade enzimática (Pz) de proteinase e fosfolipase para os isolados de *C. albicans* e *C. parapsilosis* isoladas da saliva de profissionais da saúde.

Pz	<i>C. albicans</i> (n=37)		<i>C. parapsilosis</i> (n=10)	
	Proteinase	Fosfolipase	Proteinase	Fosfolipase
(=1,0) ¹	6 (16%)	3 (8%)	2 (20%)	2 (20%)
(≥0,64 < 1,0) ²	14 (38%)	27 (73%)	3 (30%)	8 (80%)
(<0,64) ³	17 (46%)	7 (19%)	5 (50%)	0 (0%)

Pz= Atividade enzimática; ¹ Ausência de atividade; ² Presença de atividade; ³ Atividade fortemente positiva.

A produção e secreção de enzimas hidrolíticas como proteinases e fosfolipases são importantes fatores de virulência. Estas enzimas têm papel na nutrição do patógeno, mas também nos danos aos tecidos, na disseminação dentro do organismo humano e para superar o sistema imune do hospedeiro, sendo uma importante contribuição na patogenicidade fúngica (SAMARANAYAKE et al., 2005; SCHALLER et al., 2005; KARKOWSKA-KULETA et al., 2009). A atividade de exoenzimas de *C. albicans* de mucosa oral de indivíduos saudáveis tem sido avaliada, demonstrando valores variados. Lyon et al. (2006) avaliaram amostras de *C. albicans* da cavidade oral observando que 70% dos isolados apresentaram produção de fosfolipase e 100% de proteinase, enquanto Maia et. al (2008) em amostras de várias espécies de *Candida ssp.* isoladas da cavidade oral de indivíduos saudáveis observaram que apenas 17% produziram proteinase e nenhuma das amostras de *C. albicans* avaliadas produziu fosfolipase. Oksuz et al. (2007) ao avaliarem diferentes espécies de *Candida*, provenientes de diversos sítios anatômicos de indivíduos sadios, observaram que em 56,7% dos isolados de *C. albicans* foi detectado atividade de proteinase e em 52,4% fosfolipase, sendo que os isolados da cavidade oral foram os que apresentavam maior atividade de fosfolipase (59%). O isolamento de *C. parapsilosis* foi observado em 51% das mãos de profissionais da saúde e indivíduos saudáveis e o estudo demonstrou que todas foram produtoras de proteinase e que destes, 84,6% mostraram alta atividade enzimática (BONASSOLI et al., 2005). Apesar das exoenzimas hidrolíticas serem um importante mecanismo de virulência para fungos do gênero *Candida*, há uma heterogeneidade entre os resultados encontrados, quanto a sua incidência e quantidade de produção. Os resultados de atividade enzimática encontrados em isolados de indivíduos sadios, nem sempre são significativamente menores que para os isolados provenientes de infecção. Em nosso trabalho, foram avaliados apenas isolados de

indivíduos sadios, mesmo assim observamos que alguns isolados apresentavam uma expressão maior de virulência quanto à produção destas enzimas, comparados aos valores observados para os de *Candida* provenientes de sítios de infecção fúngica.

Os resultados de hemólise observados em ágar sangue demonstraram que a maioria dos isolados apresentaram a capacidade de produzir lise total das hemácias (beta hemólise) com 48 horas de incubação (figura 2).

Figura 2. Fator hemolítico em ágar Sabouraud dextrose suplementado com glicose e sangue de carneiro, demonstrando a presença do halo de hemólise total (beta hemólise) ao redor da colônia de isolados de *C. albicans* da saliva de profissionais da saúde e controle negativo *C. parapsilosis* ATCC 22019.

A análise da média dos resultados de hemólise obtidos entre a razão do diâmetro do halo de hemólise mais o diâmetro da colônia dividido pelo diâmetro da colônia, mostrou que *C. albicans* apresentou 2,41 e *C. parapsilosis* 2,57. De um total de 47 isolados, apenas 4 isolados foram negativos, sendo 3 *C. albicans* e 1 *C. parapsilosis*, desses 4 isolados não apresentaram a atividade de proteinase, nem fosfolipase (tabela 4).

Tabela 4. Resultados do fator hemolítico, apresentando o número de isolados e média apresentada pelos isolados de *C. albicans* e *C. parapsilosis* isoladas da saliva de profissionais da saúde.

Espécies (nº isolados)	Tipos de Hemólise		
	Alfa	Beta	Gama (não hemolítico)
<i>C. albicans</i> (n=37)	0	34 (2,41±0,53)x	3
<i>C. parapsilosis</i> (n=10)	0	9 (2,57±0,49)x	1

x média ± desvio padrão

Luo et al (2001) ao avaliarem diversas espécies de *Candida* ssp. demonstraram que todas os 15 isolados de *C. albicans* foram produtores de beta hemólise (média de 1,718) e nenhum isolado de *C. parapsilosis* foi capaz de lisar as hemácias. Segundo suas observações com 24 horas há apenas a formação de alfa hemólise e a beta hemólise com um halo externo de alfa hemólise ocorre com 48

horas, sugerindo que a beta hemólise é consequência do amadurecimento fisiológico do fungo. Em nossos resultados, este fato foi observado tanto para *C. albicans* e *C. parapsilosis*. Ygit e Aktas (2009) avaliaram atividade hemolítica em 15 *C. albicans*, sendo todas produtoras de beta hemólise, com um fator hemolítico médio de 2,32, já as 7 *C. parapsilosis* estudadas não apresentaram nenhum tipo de hemólise. Apesar de trabalhos demonstrarem a ausência de atividade hemolítica em isolados de *C. parapsilosis*, França et al. (2009) avaliando 34 isolados de *C. parapsilosis* observaram em todas as amostras atividade hemolítica, sendo que a maioria destas com fraca atividade (1,5 a 2,7), resultados estes semelhantes aos valores encontrados em nosso trabalho. Bonassoli et al. (2005) estudaram *C. parapsilosis* da microbiota normal da mão de profissionais da saúde, observaram também atividade hemolítica na maioria (25/26) dos isolados, com beta hemólise detectada em 16 isolados (61,5%) e alfa hemólise em 9 (34,6%). A hemólise dos eritrócitos humanos é causada por uma manoproteína presente na parede celular do fungo (WATANABE et al., 1999) que resulta na liberação de ferro, importante no processo na invasão do fungo no hospedeiro (ODDS et al., 1988; MANNS et al., 1994). Entretanto a estrutura e função da virulência desta manoproteína ainda é pouco estudada, sendo necessários estudos posteriores para investigar a natureza dos fatores hemolíticos secretados por espécies de *Candida*, sua aplicação em diagnóstico e identificação e seus efeitos no hospedeiro humano.

O teste de suscetibilidade por disco de difusão é um método interessante para a pesquisa de cepas resistentes de *Candida spp.* por ser um método simples, barato, de fácil execução, com resultados são obtidos rapidamente e não sendo necessário de equipamento especializado (MATTAR et al, 2003; ESPINEL-INGROFF, 2007). Os resultados de suscetibilidade *in vitro* através do método de disco difusão para os 37 isolados de *C.albicans* mostrou para fluconazol o diâmetro dos halos formados variou de 22 a 40 mm, para voriconazol de 25 a 40 mm, itraconazol variou de 14 a 28 e para anfotericina B de 18 a 25 mm. Estes resultados não classificaram nenhum dos isolados como resistentes aos antifúngicos avaliados, sendo observados 8 (21,6%) classificados como dose dependente. Os resultados apresentados para *C. parapsilosis* foram fluconazol 30 a 45 mm, para voriconazol de 30 a 46 mm, itraconazol variou de 17 a 27 mm, com 1 (10%) isolado classificado como dose dependente. E para anfotericina B o diâmetro do halo variou de 19 a 22 mm, sem nenhum isolado resistente (Tabela 5 e Figura 3).

Poucas avaliações de suscetibilidade *in vitro* utilizando método de disco difusão em amostras de *Candida spp* isoladas de profissionais da saúde têm sido realizadas. Negri et al. (2009) estudaram *C. albicans* e *C. parapsilosis* isolados das mãos de profissionais da saúde do Hospital Universitário de Maringá e não encontraram isolados resistentes ao itraconazol, anfotericina B e fluconazol utilizando esta metodologia. A população avaliada neste estudo não foi submetida a nenhum tipo de tratamento com antifúngico, o que explicaria a ausência de cepas resistentes. Uma vez que a resistência a

antifúngicos é relativamente baixa, e geralmente esta associada a prolongadas exposições ao tratamento antifúngico, como ao fluconazol e a anfotericina B (LEWIS, et al., 1998; ENWURU et al., 2008).

Tabela 5. Resultados da variação do diâmetro do halo observados no teste de suscetibilidade *in vitro*, através o método de disco difusão para isolados de *C. albicans* e *C. parapsilosis* provenientes da saliva de profissionais da saúde.

Espécies(n)/antifúngico	Variação do diâmetro do halo (mm)	Dose dependente	Resistente
<i>C. albicans</i> (37)			
Fluconazol	22 a 40	0	0
Voriconazol	25 a 40	0	0
Itraconazol	14 a 28	8	0
Anfotericina B	18 a 25	0	0
<i>C. parapsilosis</i> (10)			
Fluconazol	30 a 45	0	0
Voriconazol	30 a 46	0	0
Itraconazol	17 a 27	1	0
Anfotericina B	19 a 22	0	0

Figura 3. Teste de suscetibilidade por disco difusão do isolado 111 de *C. albicans* em meio Ágar Mueller Hinton suplementado glicose e azul de metileno após 24 horas de incubação.

Estudos em hospitais brasileiros demonstram que *C. albicans* é o principal agente de candidemias, seguido por *C. parapsilosis*, este último relacionado principalmente com infecções exógenas (MIRANDA et al. 2009). Estas duas espécies foram as principais isoladas da saliva de profissionais da saúde em nosso estudo, e apresentaram importantes características de virulência, que são importantes para o estabelecimento da infecção. Esses profissionais de saúde atuam diretamente com pacientes suscetíveis, alertando para a necessidade de prevenção, para evitar a disseminação desses microrganismos no ambiente hospitalar (PRADO et al., 2002; PALOS et al., 2009).

4 CONCLUSÃO

Reportamos a colonização de profissionais da saúde com isolados de *C. albicans* e *C. parapsilosis* apresentando atividade de proteinase e fosfolipase, sendo que alguns destes fortemente produtores. Foi também detectado nestes isolados, a presença de fator hemolítico e a maioria se

mostrou sensível ao fluconazol, itraconazol, anfotericina B e voriconazol através do método de disco difusão. A detecção de isolados de *C.albicans* e *C. parapsilosis* isolados da saliva de profissionais da saúde, produtores de importantes fatores de virulência, responsáveis pelo estabelecimento da infecção, evidenciam a necessidade de medidas de prevenção para evitar a transmissão exógena destes patógenos, especialmente no ambiente hospitalar.

REFERÊNCIAS

- ATAIDES, F. S.; ABRAO, F. Y.; COSTA, C. R.; SILVA, M. R. R.; PIMENTA, F. C.; PALOS, M. A. P.; SOUZA, L. K. H. Identificação de espécies de *Candida* na saliva de profissionais do Hospital das Clínicas – Universidade Federal de Goiás. **Revista Eletrônica de Enfermagem (REE)**, vol. 12 n. 03, 2010.
- BARNES, R. A. Early diagnosis of fungal infection in immunocompromised patients. **J Antimicrob Chemother**, 61(Suppl 1):i3-6. 2008.
- BONASSOLI, L. A.; BERTOLIA, M.; SVIDZINSKI, T. I. E. High frequency of *Candida parapsilosis* on the hands of healthy hosts. **J. Hosp. Infec.**, v. 59, p.159-162, 2005.
- CALDERONI, R. A; FONZI, W. A. Virulence factors of *Candida albicans*. **Trends in Microbiology** Vol.9 No.7 July, 2001.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts: Approved guideline M44-A, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA, 2004.
- ENWURU, C. A.; OGUNLEDUN, A.; IDIKA, N.; ENWURU, N. V.; OGBONNA, F.; ANIEDOBE, M. Fluconazole resistant opportunistic oro-pharyngeal *Candida* and non-*Candida* yeast-like isolates from HIV infected patients attending ARV clinics in Lagos, Nigeria. **Afr Health Sci.** Sep;8(3):142-8; 2008.
- ESPINEL-INGROFF, A. Standardized disk diffusion method yeast. **Clin Microb Newsl.** 29:97–100; 2007.
- FRANÇA, E. J. G.; MAIA L.; QESADA, R. M. B. Q.; FAVERO, D.; OLIVERA, M. T.; FURLANETO, M. C. Haemolytic and proteinase activities in clinical isolates of *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis* with reference to the isolation anatomic site. **Mycoses.** oi:10.1111/j.1439-0507.2009.01825.x, 2009.
- HA, K. C.; WHITE, T. C. Effects of azole antifungal drugs on the transition from yeast cells to hyphae in susceptible and resistant isolates of the pathogenic yeast *Candida albicans*. **Antimicrob Agents Chemother** 43: 763-768, 1999.
- HOSSAIN, H.; ANSARI, F.; SCHULZ-WEIDNER, N.; WETZEL, W. E.; CHAKRABORTY, T., DOMA, E. Clonal identity of *Candida albicans* in the oral cavity and the gastrointestinal tract of pre-school children. **Oral Microbiol and Immunol** 18:302-308, 2003.
- KANAFANI, Z. A.; PERFECT, J. R. Resistance to Antifungal Agents: Mechanisms and Clinical Impact. **Clinical Infectious Diseases.** 46:120–8, 2008.
- KARKOWSKA-KULETA, J.; RAPALA-KOZIK, M.; KOZIK, A. Fungi pathogenic to humans: molecular bases of virulence of *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* and *Aspergillus fumigatus*. **Acta Biochimica Polonica** 56: 211-224, 2009.
- KOGA-ITO, C. Y.; LYON, J. P.; VIDOTTO, V.; RESENDE, M. A. Virulence factors and antifungal susceptibility of *Candida albicans* isolates from oral candidosis patients and control individuals. **Mycopathologia.** 161: 219-223, 2006.
- KURTZMAN, C. P.; FELL, J.W. The Yeasts, a taxonomic study. Elsevier 4° ed. p. 77-100, 1998.

- LEWIS, R. E.; KEPSEK, M. E.; PFALLER, M. A. Update on clinical antifungal susceptibility testing for *Candida* species. **Pharmacotherapy**. May-Jun;18(3):509-15, 1998.
- LUO, G.; SAMARANAYAKE, L. P.; YAU, J. Y. Y. *Candida* species exhibit differential in vitro hemolytic activities. **J Clin Microbiol**. 39:2971—4. 2001.
- LYON, J.P.; RESENDE, M. A. Correlation between adhesion, enzyme production, and susceptibility to fluconazole in *Candida albicans* obtained from denture wearers. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**. 102:632–8. 2006.
- MANNES, J. M.; MOSSER, D. M.; BUCKLEY, H. R. Production of a Hemolytic Factor by *Candida albicans*. **Infection and Immunity**, p. 5154-5156, Nov. 1994.
- MAIA, L. F. M.; SPECIAN, A. F.; BIZERRA, F. C.; OLIVERA, M. T.; FURLANETO, M. C. In Vitro Evaluation of Putative Virulence Attributes of Oral Isolates of *Candida* spp. Obtained from Elderly Healthy Individuals. **Mycopathologia**. 166:209–217, 2008.
- MATAR, M. J.; OSTROSKY-ZEICHNER, L.; PAETZNICK, V. L.; RODRIGUEZ, J. R.; CHEN, E.; REX, J. H. Correlation between E-Test, disk diffusion, and microdilution methods for antifungal susceptibility testing of fluconazole and voriconazole. **Antimicrob Agents Chemother** ; 47:1647–1651, 2003.
- MIRANDA, L.N.; VAN DER HEIJDEN, I.M. COSTA, S.F.; SOUSA, A. P. I.; SIENRA, R. A.; GOBARA, S.; SANTOS, C. R.; LOBO, R. D. PESSOA, V. P.; LEVIN, A. S. *Candida* colonisation as a source for candidaemia. **Journal of Hospital Infection** . 72,9-16, 2009.
- NAGLIK, J. R.; CHALLACOMBE, S. J.; HUBE, B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. **Microbiol Mol Biol Rev** 67: 400-428, 2003.
- NEGRI, M.; HENRIQUES, M.; SVIDZNSKI, T. I. E.; PAULA, C. R. P.; OLIVERA, R. Correlation Between Etests, Disk Diffusion, and Microdilution Methods for Antifungal Susceptibility Testing of *Candida* Species From Infection and Colonization. **Journal of Clinical Laboratory Analysis** 23 : 324–330; 2009.
- ODDS, F. C. **Candida and Candidosis**, 2nd edn. London, UK: Bailliere Tindall, 1988.
- OKSUZ, O.;SAHIN, I.; YILDIRIM, GULCAN, A.; YAVUZ, T.; KAYA, D.; KOC, A. N. Phospholipase and Proteinase Activities in Different *Candida* Species Isolated from Anatomically Distinct Sites of Healthy Adults Jpn. **J. Infect. Dis.**, 60 (5), 280-283, 2007.
- PALOS, M. A. P.; SILVA, D. V. B.; GIR, E.; CANINI, S. R. M. S.; ANDERS, P.S.; LEAO L. S. N. O.; PIMENTA, F. C. Microbiota das mãos de mães e dos profissionais de saúde de uma maternidade de Goiânia. **Rev Eletr Enf**. 11(3): 373-8, 2009.
- PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. **Clin Microbiol Rev** 20: 133–163. 2007.
- PRADO, M. A.; PIMENTA, F. C.; HAYASHIDA, M.; SOUZA, P.R.; PEREIRA, M. S.; GIR, E. Enterobactérias isoladas de baratas (Periplaneta americana) capturadas em um hospital brasileiro. **Am J Public Health**. 11(2):93-7, 2002.
- PRICE, M. F.; WILKINSON, I. D.; GENTRY, L. O. Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. **Sabouraudia**. 20: 7-14; 1982.

RUCHEL, R.; TEGELER, R.; Borg, M. Characterization of secretory proteinases from different strains of *Candida albicans*. **Sabouraudia**. 20:233-244. 1982.

SAMARANAYAKE, Y. H.; DASSANAYAKE, R. S.; JAYATILAKE, J.A.; CHEUNG, B. P.; YAU, J. Y.; YEUNG, K. W.; SAMARANAYAKE L. P. 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**. 54(Pt 6):583–93. doi:10.1099/jmm. 0.45762-0. 2005.

SCHALLER, M.; BORELLI, C.; KORTING, H. C.; HUBE, B. Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. **Mycoses**. Vol. 48, Issue 6, 2005.

SENEVIRATNE, C. J.; JIN, L.; SAMARANAYAKE, L. P. Biofilm lifestyle of *Candida*: a mini review. **Oral Dis**. 14:582-590, 2008.

SILVA, V. M.; CRISTINA DIAZ, J.; NALDY FEBRE, Y. Rede De Diagnóstico en micología médica. Vigilancia de la Resistencia de leveduras a antifúngicos. **Rev Chil Infectol** Santiago V 19 Supl 2, 2002.

TSANG, C. S. P.; CHU, F. C. S.; LEUNG, W. K.; JIN, L. J.; SAMARANAYAKE L. P.; SIU, S. C. Phospholipase, proteinase and haemolytic activities of *Candida albicans* isolated from oral cavities of patients with type 2 diabetes mellitus. **Journal of Medical Microbiology**, 56, 1393–1398. 2007.

VASCONCELOS, A. A.; MENEZES, E. A.; CUNHA, F. A. Chromogenic Medium for Direct Susceptibility Testing of *Candida* spp. Isolated from Urine. **Mycopathologia**. DOI 10.1007/s11046-011-9407-9. 2011.

WARNOCK, D. W. Trends in the Epidemiology of Invasive Fungal Infections. **Jpn. J. Med. Mycol**. Vol. 48, 1-12, 2007.

WATANABE, T.; TAKANO, M.; MURAKAMI, M.; TANAKA, H.; MATSUHISA, A.; NAKAO, N.; MIKAMI, T.; SUZUKI, M.; MATSUMOTO, T. Characterization of a haemolytic factor from *Candida albicans*. **Microbiology**, 145,689-694: 1999.

WISPLINGHOFF, H.; BISCHOFF, T.; TALLENT, S.M.; SEIFERT, H.; WEENZEL, R. P. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. **Clin Infect Dis** 39: 309–317, 2004.

YIGIT,N.; AKTAS, E. Comparison of the efficacy of different blood medium in determining the hemolytic activity of *Candida* species. **Journal de Mycologie Médicale** . 19, 110—115; 2009.