



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIA – CURSO DE BIOMEDICINA**

OLÍVIA RIZZATI

A crescente resistência de *Candida* spp. e seus desafios em ambientes hospitalares

BOTUCATU

2022

OLÍVIA RIZZATI

A crescente resistência de *Candida* spp. e seus desafios em ambientes hospitalares

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências da UNESP, como parte das exigências para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biomédicas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Sandra de Moraes Gimenes Bosco

BOTUCATU

2022

R627c

Rizzati, Olívia

A crescente resistência de *Candida* spp. e seus desafios em ambientes hospitalares / Olívia Rizzati.

-- Botucatu, 2022

25 p.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado -

1. *Candida albicans*. 2. Patógeno. 3. Resistência à drogas. 4. Biofilmes. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer e dedicar este trabalho a todos os que me ajudaram durante toda a trajetória do curso.

A minha família por sempre estar presente auxiliando de todas as maneiras possíveis e ainda torcendo de longe pelo meu sucesso.

A minha república e todos os meus amigos que estiveram presentes durante as dificuldades e felicidades que a graduação proporciona.

A todos os meus professores que se dedicaram um pouco a enriquecer meu aprendizado.

E a minha orientadora Prof.^a Dr.^a Sandra de Moraes Gimenes Bosco que se empenhou junto comigo para a realização dessa monografia.

RESUMO

Candida spp. é um gênero de leveduras e vem sendo responsável pelo aumento considerável de infecções oportunistas, principalmente em ambientes hospitalares. Esse fungo está presente na microbiota das mucosas do organismo e tende a ser patogênico quando ocorre um desequilíbrio no sistema imune do hospedeiro ou então em indivíduos imunossuprimidos. Em alguns casos essas infecções são passíveis de tratamento, porém ultimamente cepas resistentes aos antifúngicos vem se tornando cada vez mais presente no dia-a-dia dos ambientes hospitalares, fato este que tem alertado a comunidade científica na busca de melhor compreender os mecanismos de resistência antifúngica e/ou busca por novos compostos com finalidade terapêutica. As infecções fúngicas têm um tratamento mais complexo; poucos são os antifúngicos existentes no mercado e muitos deles apresentam diferentes graus de toxicidade ao paciente.

O presente estudo visa discutir a importância das leveduras do gênero *Candida*, destacando algumas espécies e seus mecanismos de resistência aos antifúngicos. Além disso, outro aspecto a ser abordado é a produção de biofilme, um fator de virulência importante para este gênero de leveduras e certamente contribui para a resistência aos efeitos dos fármacos antifúngicos para o combate à candidíase.

Palavras-chave: *Candida* spp., patógeno, resistência, biofilme, antifúngicos.

ABSTRACT

Candida spp. is a genus of yeast and has been responsible for the considerable increase in opportunistic infections, especially in hospital environments. This fungus is present in the organism's mucosal microbiota and tends to be pathogenic when there is an imbalance in the host's immune system or in immunosuppressed individuals. In some cases, these infections are treatable, but lately strains resistant to antifungals have become increasingly present in the daily routine of hospital environments, a fact that has alerted the scientific community in the search for a better understanding of the resistance mechanisms of antifungal and/or search for new compounds with therapeutic purpose. Fungal infections have a more complex treatment; there are few antifungals available and many of them have different degrees of toxicity to the patient.

The present study aims to discuss the importance of studying the genus *Candida*, highlighting some of the species of this genus and their mechanisms of resistance to antifungal agents. In addition, another aspect to be addressed is the production of biofilm, an important virulence factor for this genus of yeasts and certainly contributes to resistance to the effects of antifungal drugs for treating candidiasis.

Key words: *Candida* spp., pathogen, resistance, biofilm, antifungals.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	6
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	8
2.1	<i>Candida albicans</i>	8
2.2	<i>Candida krusei</i>	9
2.3	<i>Candida glabrata</i>	10
2.4	<i>Candida parapsilosis</i>	11
2.5	<i>Candida tropicalis</i>	12
2.6	<i>Candida auris</i>	12
3	MECANISMOS DE EVASÃO AOS FÁRMACOS ANTIFÚNGICOS.....	15
4	BIOFILMES	17
4.1	Biofilmes polimicrobiais.....	19
5	IMPORTÂNCIA NO PROCESSAMENTO DA AMOSTRA	20
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	20
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22

1 INTRODUÇÃO

As infecções fúngicas em geral são amplamente negligenciadas pela população, pelos profissionais de saúde e pelas agências de fomento (MINISTÉRIO DA SAÚDE; 2010 BONGOMIN et al., 2017; GAFFI, 2020). Por muito tempo acreditou-se que os fungos eram raros causadores de doenças, no entanto, após o advento do HIV/AIDS e de outras doenças imunossupressoras, houve uma reversão neste cenário. Um estudo realizado por Bongomin et al. (2017) mostra que as infecções fúngicas afetam cerca de bilhões de pessoas no mundo e têm sido responsáveis pelo óbito de cerca de 1,5 milhão. Estima-se que anualmente os novos casos de infecções fúngicas sistêmicas sejam em torno de 500 mil casos de pneumonia por *Pneumocystis jirovecii*, 250 mil casos de aspergilose invasiva, 100 mil casos de histoplasmoze disseminada, mais de 10 milhões de casos de asma fúngica, milhão de casos de ceratite fúngica e 500 mil casos de candidíase invasiva (LIFE, 2020).

As infecções fúngicas quanto mais tardiamente forem diagnosticadas, pior é o prognóstico dos pacientes acometidos por infecções sistêmicas, tanto por fungos dimórficos como pelos oportunistas. Nesse sentido, o CDC (Centers for Disease Control and Prevention), em Atlanta nos Estados Unidos, criou em setembro de 2020 a campanha sobre “Semana de Conscientização das Doenças Fúngicas” (*Fungal Disease Awareness Week*) com o lema: “pense fungos, salve vidas” (*think fungus and save lives* - <https://www.cdc.gov/fungal/awareness-buttons-banners.html>). A campanha foi repetida no mesmo período em 2021 e espera-se que seja repetida anualmente.

Dentre as infecções fúngicas sistêmicas causadas por fungos oportunistas, a candidíase é a que mais afeta os pacientes imunodeprimidos. No Brasil, Giacomazzi et al. (2016) estimaram a ocorrência de 2.981.416 casos de infecções graves por *Candida* spp. *Candidas* spp. são leveduras presentes na microbiota de membranas mucosas e são responsáveis pela maioria e mais corriqueiras infecções fúngicas observadas mundialmente. Dentre as espécies mais frequentes destaca-se a *Candida albicans*, no entanto outras espécies do gênero têm ganhado protagonismo nos casos de infecções graves, apresentando alta incidência de casos.

Essas espécies são patógenos oportunistas e beneficiam-se do indivíduo quando este sofre algum evento que cause um desequilíbrio no sistema imune, portanto são infecções preocupantes para pacientes imunossuprimidos, como indivíduos que fazem quimioterapia, transplantados, pacientes em diálise, com

síndrome da imunodeficiência adquirida (HIV/AIDS), diabéticos ou que fazem uso de corticosteróides por período prolongado para tratamento de doenças auto-imunes. São muito vistas em infecções nosocomiais, ou seja, infecções que acometem pacientes internados a algum tempo e que, portanto, tem um sistema imune debilitado (POULAIN, 2015).

Candidíases são infecções habituais, a candidíase vaginal acomete 75% das mulheres pelo menos uma vez na vida (POULAIN, 2015), mas estas tornam-se um desafio preocupante quando colonizam órgãos ou tornam-se sistêmicas, sendo que estas apresentam uma taxa de mortalidade ultrapassando 40% (DU et al., 2020). Sobretudo pelo fato de que infecções fúngicas são mais difíceis de serem diagnosticadas, pois a princípio os médicos primeiramente consideram uma etiologia bacteriana para diagnóstico, demorando a conclusão do diagnóstico micológico. Exames de hemoculturas não possuem muita sensibilidade e a presença de *Candida* spp. nem sempre indica uma candidemia, podendo indicar apenas uma contaminação (POULAIN, 2015).

Apresentam um grave problema para pacientes que passaram por cirurgias, principalmente com implantes médicos, indivíduos que utilizam estruturas como *stents* e pessoas que necessitam de nutrição parental ou utilizam cateteres por períodos prolongados (TÓTH et al., 2019).

O tratamento das infecções provocadas pelo gênero *Candida* é difícil, pois existem poucos fármacos antifúngicos e alguns possuem efeitos colaterais severos no paciente, como hepatotoxicidade e nefrotoxicidade. (POULAIN, 2015)

Normalmente os fármacos utilizados contra *Candida* spp. são os derivados azólicos e equinocandinas, porém, atualmente muitas cepas têm desenvolvido resistência durante o tratamento, ou então já apresentam intrinsecamente resistência a esses fármacos (GULATI; NOBILE, 2016).

O gênero *Candida* spp. é composto por diversas espécies sendo a mais conhecida a *Candida albicans*, uma das principais causadoras da candidíase vaginal e também o “sapinho” na boca principalmente em pacientes imunocomprometidos. Mas as outras espécies de *Candida* também podem causar essas mesmas doenças na mucosa e infecções sistêmicas como infecções urinárias (POULAIN, 2015).

O prognóstico para o paciente tende a ser prejudicado quando acometido por uma cepa resistente. Sendo assim é de extrema importância a conscientização do aumento da resistência e seus mecanismos, que podem estar associados ao uso

abusivo de antifúngicos e até de antibióticos de amplo espectro pela população em geral. O presente estudo visa à compilação de dados sobre diferentes espécies do gênero *Candida*. A análise de sua crescente resistência a antifúngicos e sua importância dentro do ambiente hospitalar. Além da discussão de um importante fator de virulência que é a formação do biofilme, outro grande motivo de preocupação na área da saúde.

Para essa revisão foram selecionados artigos no site PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) obtidos pelas seguintes palavras pesquisadas “*Candida albicans*”, “*Candida glabrata*”, “*Candida parapsilosis*”, “*Candida krusei*”, “*Candida tropicalis*”, “*Candida auris*”, “biofilm” e “resistent”.

Os artigos inclusos são datados de 2012 até 2020. Foram excluídos trabalhos que não se encaixavam na descrição das cepas de *Candida* spp., ou então que eram voltados a análises genéticas das espécies, o que não será estudado e discutido no presente estudo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Candida albicans*:

É um membro da microbiota dos animais presente em diversas mucosas do organismo, como a oral, o trato gastrointestinal e gênito-urinário. É a espécie mais comum e a mais vista em candidíases e também a mais associada com a formação de biofilme, um importante fator de virulência principalmente em pacientes imunossuprimidos. É a terceira dentre quatro das infecções hospitalares mais comuns, responsável por 15% dos casos de sepse e de 40% de infecções sanguíneas, essas são chamadas de candidemia (WALL et al., 2019).

É um organismo diploide e possui a habilidade de mudar da forma de levedura oval para hifa ou pseudohifa, de acordo com diferentes estímulos do ambiente. Um mecanismo interessante para o aumento de seu fator de virulência e resistência, uma vez que a filamentação dessa levedura permite com que ela escape da resposta imunológica do hospedeiro.

É importante ressaltar que a forma de hifa da *C. albicans* é uma das suas vantagens para aderir e invadir facilmente a célula do hospedeiro. Além disso, existe uma diferença entre os filamentos da *Candida albicans*, uma vez que os microtúbulos

não possuem um papel importante como em outros fungos filamentosos (ARKOWITZ; BASSILANA, 2019).

Estudos mostram que a falta de nutrientes, possivelmente a falta de alguns tipos de aminoácidos, estimula a mudança para a forma filamentosa. E além disso a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), durante essa mudança é um fator importante de patogenicidade para o organismo hospedeiro pois estas estimulam a resposta inflamatória que pode ser nociva para o organismo invadido (ARKOWITZ; BASSILANA, 2019). A reprodução sexuada em *C. albicans* é pouco conhecida, no entanto sabe-se que mutações no *locus* no gene 5 que traduz diferentes combinações diploides “a” e “alfa” pode estar associada com seus fatores de virulência e são repostas às mudanças de fatores do ambiente (GULATI; NOBILE, 2016).

Quando cultivada em meio diferencial Chromagar® *Candida*, a colônia assume coloração esverdeada.

2.2 *Candida krusei*

Outra espécie de *Candida* que também está presente na mucosa de indivíduos saudáveis e que pode apresentar patogenicidade principalmente em indivíduos que não tem um sistema imune competente. Pode ser encontrada também em alimentos ou sucos (GÓMEZ-GAVIRIA; MORA-MONTES, 2020).

Não deve ser negligenciada por ser menos comum, pois atualmente tem se tornando cada vez mais frequente como agente causador de micoses e apresenta resistência a antifúngicos e alta taxa de mortalidade. (NAVARRO-ARIAS et al., 2019)

Costumeiramente o primeiro antifúngico utilizado em tratamentos é o fluconazol, porém essa espécie apresenta resistência intrínseca a esse fármaco, porém seu mecanismo não é totalmente conhecido (JAMIU et al., 2021). É uma espécie mais relacionada com casos de micoses em pacientes com o sistema imune bastante comprometido, não é vista rotineiramente em casos de candidíases vaginais ou orais.

Os casos que mais chamam a atenção atualmente são os de pacientes com neoplasias sanguíneas que tem seu sistema imune todo fragilizado, como em transplantes de medula óssea. Esses pacientes são tratados com fluconazol, como medida profilática, para evitar infecções fúngicas, porém crescem os casos de *C.*

krusei causando infecções nesses pacientes, possivelmente devido a contaminações nos ambientes hospitalares (GÓMEZ-GAVIRIA; MORA-MONTES, 2020).

A resistência da *C. krusei* pode ser tanto inata como adquirida, ou seja, uma cepa que já é resistente ao antifúngico desde o início do tratamento ou uma cepa que se torna resistente no decorrer do tratamento como um mecanismo de sobrevivência ao fármaco (JAMIU et al., 2021).

Os fatores de virulência da *C. krusei* foram menos estudados que os da *C. albicans*, os quais já são conhecidos diversos genes e suas possíveis adaptações para sobrevivência. Porém, atualmente acredita-se que a maioria dos fatores de virulência sejam similares, com a exceção de que as hifas da *C. albicans* apresentam uma propriedade melhor de invasão e aderência a células do hospedeiro do que as pseudohifas das outras espécies de *Candida* spp. (JAMIU et al., 2021)

A *C. krusei* é um fungo dimórfico com forma de levedura e pseudohifas e apresenta reprodução sexual. Sua identificação em Chromagar®*Candida* é devido a coloração da colônia tornar-se rosa e é de suma importância essa definição para que o médico possa planejar diferentes alternativas de tratamento já que o antifúngico mais comum não é o recomendado (JAMIU et al., 2021).

Além dessa patogenicidade conhecida da *C. krusei* é interessante saber que ela é utilizada em diversos processos biotecnológicos, como fermentador de alimentos, bebidas e produção de enzimas. Mas existe ainda a necessidade de estudá-la e entendê-la melhor para que fique claro quais são seus possíveis usos e qual é o momento em que esse fungo se torna um patógeno (YADAV et al., 2012).

2.3 *Candida glabrata*

Essa espécie de *Candida* é também um habitante da microbiota da mucosa humana. Conhecida por apresentar resistência aos azólicos e equinocandinas, além de formar biofilme, mas não tão frequentemente como as outras espécies. Seus fatores de virulência são menos expressivos e não costuma exigir tanto do sistema imune do hospedeiro. Além disso, não apresenta uma boa capacidade de invasão de células.

É a segunda a quarta espécie mais comum em candidemias a depender da localização do globo, é mais presente na Austrália, EUA e Europa (RASHEED;

BATTU; KAUR, 2020). Sua maior incidência atualmente é em adultos. É a espécie que possui um maior período de sobrevivência de seus esporos, estes conseguindo se manter vivos até 5 meses em ambientes inóspitos (RODRIGUES; SILVA; HENRIQUES, 2014).

Apresenta forma de levedura e pseudohifas, possui genoma haplóide e difere em sua fonte de carboidrato não usando os açúcares mais comuns como fonte de nutrientes. Em CHROMagar suas colônias podem ser brancas, roxas ou rosas (SILVA et al., 2012).

Detém uma capacidade de colonizar e aderir aos tecidos mesmo sem formar filamentos, sendo essa habilidade devida a grande quantidade de adesinas, uma proteína, em sua parede celular. É a espécie com a menor atividade metabólica, embora seus biofilmes costumadamente possuam o maior número de células (RASHEED; BATTU; KAUR, 2020).

Possui grande capacidade de destruição tecidual pois produz enzimas hidrolíticas, quebram moléculas que apresentam água em sua estrutura, portanto é bastante nociva no organismo humano. Além disso, possui uma atividade hemolítica pois degrada a hemoglobina e extrai o ferro para seus próprios processos metabólicos (SILVA et al., 2012a).

2.4 *Candida parapsilosis*

Candida parapsilosis é a terceira levedura mais comum causando candidemia. Mais presente na América Latina e na parte Mediterrânea da Europa. Não possui uma grande taxa de mortalidade e morbidade, mas apresenta um crescente número de cepas com resistência a equinocandinas e azólicos. Mais comum em recém nascidos e crianças desnutridas (SILVA et al., 2012b).

Como um dos fatores de virulência podemos citar a capacidade de adesão dessa espécie, ela tem uma habilidade muito grande de aderir a implantes médicos e objetos de nutrição parental com glucose (TÓTH et al., 2019). Outro fator importante é a mudança de levedura para filamentos ou pseudohifas.

Fungos patogênicos costumam produzir enzimas hidrolíticas para facilitar a entrada nas células do hospedeiro e causar lesão tecidual. Segundo pesquisas atuais a *C. parapsilosis* tem um destaque em suas enzimas hidrolíticas sendo considerada

uma das mais efetivas (TÓTH et al., 2019). Essas enzimas lisam moléculas carregadoras de água, dessa forma é possível observar como essa espécie possui uma capacidade tão grande de causar lesão tecidual. Além disso, produz prostaglandinas que ajudam na resposta inflamatória, já que estimulam a morte de macrófagos, células de defesa do organismo hospedeiro, e citocinas, proteínas moduladoras de inflamação (TÓTH et al., 2019).

Recomenda-se testar o uso de azólicos no começo do tratamento, embora essa espécie já tenha demonstrado que não é muito suscetível a esse fármaco. A *C. parapsilosis* apresenta um grau maior de resistência a equinocandinas, que é a classe de drogas de primeira linha recomendada para candidemias (TÓTH et al., 2019)

2.5 *Candida tropicalis*

É a segunda mais comum em candidemias, mais prevalente na Ásia e América Latina. É também a espécie mais relatada em casos de candidíases que levam a lesões na pele. Acredita-se que a *C. tropicalis* produza infecções sistêmicas mais persistentes do que a *C. albicans* e apresenta uma maior taxa de mortalidade do que qualquer outra NAC (*non-albicans Candida*)(OLIVEIRA et al., 2020).

Possui também uma alta resistência a azólicos, em particular ao fluconazol. Sendo só menor que a resistência vista na *C. glabrata*. É confirmada por meio de cultura de coloração azul em Chromagar®*Candida*.(RODRIGUES; SILVA; HENRIQUES, 2014)

Mais comum em pacientes oncológicos, sendo maior a taxa em transplantes de medula óssea, neoplasias hematológicas e menos comum em neoplasias sólidas. Tem relação com leucemias agudas, neutropenia e quimioterapias (ANN CHAI; DENNING; WARN, 2010).

A *C. tropicalis* aparece muito em infecções em UTI neonatais, essas infecções provavelmente acontecem por meio de contaminações com funcionários do local. E ainda são vistas muitas contaminações cruzadas entre *C. albicans* e *C. tropicalis* algo que antigamente não era tão comum assim (KOTHAVADE et al., 2010).

2.6 *Candida auris*

Relatada pela primeira vez em 2009 no Japão, essa espécie preocupa mundialmente os sistemas de saúde. Possui diferentes características e uma resistência bastante acentuada quando comparada com as outras espécies já citadas anteriormente. Existem atualmente descritos quatro clados dessa espécie. Clados são agrupamentos que possuem um ancestral em comum, mas divergiram em algum ponto da evolução, e acredita-se que essa diferenciação genômica continuará acontecendo até novas divergências no futuro (RHODES; FISHER, 2019).

Os quatro clados da *C. auris* são separados entre si geograficamente em sul da Ásia, sul da África, sul da América e leste da Ásia. As diferenças entre esses clados não são muito grandes quando analisados os SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*), ou seja, variações pontuais encontradas no DNA. E alguns clados possuem menores diferenças entre si do que quando comparados com outros, como por exemplo, o do sul da Ásia e do Leste da Ásia.

Em 2016, o Centro de Controle de Doenças (CDC) liberou um alerta clínico para os sistemas de saúde avisando sobre a emergência internacional de infecções causadas pela *C. auris* com altas taxas de mortalidade e em 2017 publicou uma atualização com recomendações de desinfecção e tratamentos em ambientes hospitalares (DU et al., 2020).

Candida auris possui uma capacidade de se espalhar rapidamente por ambientes hospitalares e em instrumentos médicos, sendo essas algumas características que mais preocupam a comunidade científica. Apresenta uma multi-resistência a diversos antifúngicos dentre eles o fluconazol. Já foi identificada em todos os seis continentes, sendo importante ressaltar que ela é apontada como um agente preocupante e com possibilidade de causar uma pandemia (RHODES; FISHER, 2019).

É difícil sua identificação até em laboratórios padrão, pois ainda não existem tecnologias específicas o suficiente, além de ser fácil confundir-la com a *Candida haemulonii*, um fungo haploide que geneticamente é mais relacionada com a *C. auris* do que as diversas outras espécies de *Candida* patogênicas já descritas anteriormente.

Foi documentado em pacientes infectados com a *C. auris* que passavam pelo mesmo protocolo padrão de qualquer candidemia não apresentavam erradicação do fungo após lavagens diárias da pele com clorexidina (RHODES; FISHER, 2019).

Em Chromagar®*Candida* suas colônias apresentam coloração branca, rosa ou roxo escuro. Diferente das outras espécies de *Candida* a *C. auris* apresenta uma maior tolerância a altas temperaturas. Acredita-se que essa espécie não tenha afinidade para colonizar as mucosas do indivíduo, apresente mais afinidade em colonizar a pele ou então o organismo (JEFFERY-SMITH et al., 2018).

Estudos apontam que essa espécie consegue mudar para pseudohifas, tolerando uma maior concentração de sais sendo um possível fator interessante para sua sobrevivência. Como a *C. albicans*, a *C. auris* também tem a habilidade de formar hifas verdadeiras dependendo do estímulo ambiental (JEFFERY-SMITH et al., 2018).

Para prevenção e controle desse agente que ainda é muito novo e pouco entendido, os cuidados nos ambientes hospitalares ainda são baseados em cuidados semelhantes com organismos também muito resistentes e preocupantes, como *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (MRSA) e *Enterobacteriaceae* resistentes a carbapenem (CRE).

É recomendado que pacientes que sejam transferidos de unidades contaminadas sejam rastreados e observados de perto. Todos os pacientes que sejam infectados ou colonizados com a *C. auris* devem ser isolados em quartos separados. Esses pacientes devem ser rastreados até depois de serem liberados do hospital e também em possíveis readmissões. O CDC ainda recomenda que os pacientes só sejam liberados de áreas isoladas depois de pelo menos 2 resultados negativos com uma semana de intervalo entre si (JEFFERY-SMITH et al., 2018).

Quando identificado pacientes que estejam contaminados com *C. auris* o CDC recomenda que sejam tratados apenas os indivíduos que apresentem alguma infecção, mas mesmo assim os pacientes contaminados com o fungo devem ser muito bem observados quando necessitarem de cateteres ou sondas. A equipe médica deve estar avisada e procurar se informar sobre quais os cuidados que devem ser tomados. Essa recomendação se refere aos pacientes que apresentam a *C. auris* constituindo a microbiota normal, não devemos tratá-la a fim de evitar expô-la a fármacos antifúngicos sem necessidade como forma de evitar que o micro-organismo

desenvolva resistência. Desse modo se algum dia o indivíduo vir a ter uma infecção causada pela *C. auris* a chance de eficácia do fármaco será mais assertiva (Treatment and Management of Infections and Colonization, Center for Disease Control, 2021).

Portanto, a limpeza de ambientes hospitalares quando estes recebem pacientes com *C. auris* é um fator importantíssimo. Já que pacientes contaminados podem vir a espalhar o fungo e contaminar outros pacientes com o sistema imune debilitado e agravar a situação desses indivíduos. É importante ressaltar que qualquer infecção fúngica pode contaminar o ambiente e outros pacientes, mas a *C. auris* é um micro-organismo mais preocupante por se tratar de um novo agente que foi descoberto recentemente, pouco conhecido e apresenta um desafio maior para a comunidade médico-científico.

3 MECANISMOS DE EVASÃO AOS FÁRMACOS ANTIFÚNGICOS

Nos dias atuais existem poucas opções de fármacos antifúngicos. Como os fungos são eucariotos eles são mais próximos dos animais, desse modo a produção de fármacos para combater fungos patogênicos é muito mais desafiadora do que a produção de fármacos antibacterianos, por exemplo. Além disso, como as micoses em geral são negligenciadas não existe um grande interesse da indústria farmacêutica para o desenvolvimento de novos fármacos (POULAIN, 2015).

Anteriormente foram apresentadas algumas das espécies mais frequentes do gênero *Candida*. Por mais que estas sejam diferentes entre si, a discussão sobre seus mecanismos de evasão será feita em conjunto, se apresentada alguma exceção ou diferença entre espécies essas serão destacadas.

O mecanismo mais conhecido, estudado e relatado tem relação com o alvo molecular de ação dos azólicos. A inibição da enzima lanosterol 14 alfa - desmetilase, essencial para a síntese de ergosterol, esteróide de membrana dos fungos.

Essa enzima é codificada pelo gene ERG11. Sua alteração é uma estratégia prevalentemente usada por *Candidas*. Essas pequenas substituições de aminoácidos no gene alteram sua conformação e conseqüentemente diminuem a afinidade dessa enzima pelo fármaco mesmo sem alterar gravemente a função da enzima na célula fúngica. Desse modo o fármaco torna-se pouco eficiente pois não consegue acoplar-

se com o alvo molecular para que foi planejado, então sua eficácia é quase nula. (JAMIU et al., 2021)

Outro mecanismo observado também ainda envolvendo o gene ERG11 ocorre quando há uma superexpressão deste. Com essa produção exacerbada os azólicos tornam-se insuficientes para interagir com tamanha quantidade de enzimas.

Pode ocorrer ainda o acúmulo intracelular de azólicos. Isso acontece por um mecanismo de bomba de efluxo ou mudanças na membrana celular (JAMIU et al., 2021). Essas bombas de efluxo são vistas em todas as células de muitos organismos. Quando elas funcionam como mecanismo de defesa, elas têm a função de expulsar substâncias tóxicas para o meio extra-celular. A partir do momento em que ocorre o aumento da expressão do gene específico a quantidade de bombas aumenta, dessa forma ocorre uma expulsão em massa do fármaco e este não consegue atingir o seu efeito terapêutico. A depender da espécie de *Candida* o gene codificante de bombas de efluxo não é o mesmo, ele varia de acordo com a cepa em questão, mas são bastante similares em sua estrutura (SANGUINETTI; POSTERARO; LASS-FLÖRL, 2015).

Casos de resistência aos polienos, como a Anfotericina B, são raros. Esses são os fármacos que foram usados por muitos anos em tratamentos de micoses como a primeira droga de escolha, porém atualmente vem ocorrendo uma redução no seu uso devido a sua alta nefrotoxicidade e ao desenvolvimento de novas drogas que têm se apresentado mais efetivas e seguras quanto efeitos colaterais ao paciente (JAMIU et al., 2021).

Acredita-se que a resistência a Anfotericina B seja menos encontrada pois essa droga age em um componente celular vital, o ergosterol. Alguns estudos, porém, relatam uma resistência desenvolvida por um mecanismo que diminui a concentração de ergosterol na membrana celular. Isso ocorre com a inativação do gene ERG3 que resulta na queda dos níveis de ergosterol por uma substituição de moléculas na membrana, sendo assim produzido 14 alfa-metilfecosterol com ergosterol. Dessa forma os polienos não têm uma oferta suficiente de ergosterol para agir (JAMIU et al., 2021).

Importante ressaltar que equinocandinas são fármacos de amplo uso em micoses e rotineiramente são os mais usados no tratamento.

4 BIOFILMES

Biofilmes são comunidades estruturadas em forma 3D envoltas em uma matriz extracelular de polissacarídeos. Essa estrutura é criada para promover uma “sociedade” firme, rígida e segura. Como consequência apresenta um mecanismo mais elaborado de resistência a fármacos antifúngicos, um aspecto preocupante. Além disso, o biofilme facilita a locomoção da cepa de *Candida* pelo organismo invadido, fazendo com que a colonização seja muito mais rápida e eficaz (TSUI; KONG; JABRA-RIZK, 2016).

Portanto, atualmente o estudo sobre a formação do biofilme ganhou importância pela necessidade de entender e estudar mais a fundo essas estruturas evoluídas e então combatê-las de forma mais eficaz e segura (TSUI; KONG; JABRA-RIZK, 2016).

A matriz extracelular apresenta um grande fator de sobrevivência do biofilme, é ela que garante a estrutura, segurança e estabilidade. O açúcar mais visto em sua constituição é a beta 1,3 glucana. Porém existem outros açúcares que também são encontrados (TSUI; KONG; JABRA-RIZK, 2016). Entretanto, a matriz extracelular não é apenas formada por esses carboidratos produzidos pela *Candida* spp., mas também por outras estruturas celulares de organização presentes no ambiente devido a lise de células do próprio biofilme como também de células do hospedeiro, levadas à morte devido a colonização do fungo (GULATI; NOBILE, 2016).

Uma camada de hifas, células basais, forma uma fundação para o crescimento e desenvolvimento de outras hifas que vão aderindo umas às outras. Em seguida ocorre uma fase de proliferação celular, em que o crescimento das hifas acontece de forma a se interligar por meio da formação de septos e prolongamentos. Por fim, são produzidos esporos que se desprendem facilmente para poderem se disseminar e colonizar outras superfícies garantindo assim a sobrevivência da espécie. Observa-se que a forma de dispersão geralmente é a de levedura, sugerindo que ocorra uma troca de forma, isso acontece, pois a levedura é uma forma unicelular e de fácil deslocamento, tornando vantajoso usar essa forma (TSUI; KONG; JABRA-RIZK, 2016).

Estudos relataram uma diferença nessas leveduras que são liberadas para a dispersão, elas apresentam uma maior capacidade de formação de hifas e aderência, sugerindo que o biofilme torna essa célula mais resistente como uma forma de manter a dispersão e facilitar a sobrevivência. (TSUI; KONG; JABRA-RIZK, 2016). É observado que essas células são liberadas geralmente da camada mais superficial do biofilme. A frequência com que são liberadas depende diretamente do pH do ambiente que varia de acordo com a fonte de carbono que mais é usada como fonte de alimento do biofilme (WALL et al., 2019).

Além disso, o biofilme também apresenta uma capacidade acentuada de comunicação entre si através da secreção de moléculas sinalizadoras. Essa estrutura pode ser formada tanto em instrumentos médicos, substâncias inorgânicas, como no interior do organismo do indivíduo (TSUI; KONG; JABRA-RIZK, 2016).

A formação de biofilme em mucosas, principalmente na oral, é muito observada em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida. Desde 1980 com a epidemia de AIDS a comunidade científica tornou-se mais interessada no entendimento da formação dessa estrutura (TSUI; KONG; JABRA-RIZK, 2016).

A formação de biofilme mais preocupante é a que pode ocorrer em equipamentos médicos. Pois já existe uma alta probabilidade de desenvolvimento de infecções em pacientes que necessitam de cateteres centrais ou implantes e, portanto, essa habilidade do biofilme torna-se um desafio por aumentar a chance de candidemias e infecções nosocomiais (TSUI; KONG; JABRA-RIZK, 2016).

Os únicos fármacos que são realmente efetivos, tanto *in vivo* quanto *in vitro*, contra biofilmes são as equinocandinas.

A maioria dos mecanismos de resistência do biofilme são os mesmos vistos nas cepas comuns já apresentadas acima neste trabalho, como utilizar as bombas de efluxo para sua sobrevivência, alterar a expressão gênica de modo a ser vantajoso para a sobrevivência da célula.

É observado nos biofilmes que a superexpressão das bombas de efluxo já acontece naturalmente. Então quando o fármaco antifúngico tenta aderir a estrutura procurando sua molécula alvo, o mecanismo de defesa do sistema já está preparado

de forma a evitar que este penetre na estrutura, já que é todo expulso da célula por meio do funcionamento das bombas (LOHSE et al., 2018).

A matriz extracelular tem uma grande importância nesse aspecto por impedir pela sua composição a penetração da droga e ainda proteger a estrutura celular. Dessa forma os fármacos que tem como mecanismo de ação a desestruturação da parede celular perdem sua capacidade de agir por não conseguirem ultrapassar a estrutura celular (POULAIN, 2015).

Outra adaptação do biofilme bastante importante e preocupante na comunidade médico-científica são as chamadas células resistentes que estão emaranhadas no biofilme na sua parte mais profunda e passam por um processo de dormência, não sendo afetadas pelo uso de fármacos antifúngicos.

Pouco se sabe ainda sobre essas células, porém o que já foi estudado é que seu mecanismo de resistência pouco depende das bombas de efluxo e da estrutura da parede celular. A relação se dá muito mais devido ao estado de dormência celular. Mostra-se então que um caminho promissor para estudos e possíveis desenvolvimentos de fármacos seria o estudo e pesquisa mais aprofundado desse mecanismo de dormência dessas células resistentes.

4.1 Biofilmes polimicrobiais

Como apresentado acima, as diversas espécies do gênero *Candida* em sua maioria fazem parte da microbiota normal do ser humano. Isso indica que as cepas têm interação com os outros micro-organismos que habitam a microbiota humana, já que convivem de forma harmônica na maior parte do tempo. Dessa forma descobriu-se que esses micro-organismos interagem entre si para que haja uma melhor comunicação e sobrevivência (GULATI; NOBILE, 2016).

Pensando assim descobriu-se também que os biofilmes podem ser formados por um conjunto de micro-organismos, lembrando que esse é um mecanismo de sobrevivência então sempre ocorrerá a procura por melhores meios e mais práticos de se conseguir nutrientes. (TSUI; KONG; JABRA-RIZK, 2016)

Isso indica que o desafio de entender e enfrentar os biofilmes é muito maior do que se imaginava. Atualmente trata-se o biofilme nos hospitais como causado por apenas um organismo, mas abre-se a discussão se não seria mais vantajoso

conseguir identificar quais patógenos estão envolvidos em sua estrutura e tratá-los em conjunto, com uma terapia de mistura de fármacos, dessa forma sendo mais incisivo com medicamentos específicos (LOHSE et al., 2018).

5 IMPORTÂNCIA NO PROCESSAMENTO DA AMOSTRA

Para uma melhor identificação da espécie é de suma importância um bom processamento das amostras no laboratório clínico. De acordo com manuais disponíveis pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) os diferentes tipos de amostras devem ser processados corretamente e com extrema acurácia para que os resultados obtidos sejam fidedignos e acreditáveis.

Com isso, os hospitais que colhem amostras biológicas para identificação em laboratórios clínicos devem ter funcionários devidamente treinados e um sistema que consiga explicar corretamente como deve se fazer a coleta do material desejado. Além disso uma comunicação médico e analista do laboratório é muito válida, para que este consiga desenvolver uma melhor estratégia de cultivo afim de eliminar ou confirmar as suspeitas condizentes com a sintomatologia do paciente. Vale ressaltar que se a amostra não estiver adequada o processo de semear a amostra e interpretar os resultados pode ser comprometido.

Amostras biológicas são muito suscetíveis a contaminações, ainda mais, coletas pois os seres humanos possuem uma microbiota rica que eventualmente pode confundir o biomédico responsável pelo exame fazendo o pensar em possíveis contaminações, inviabilizando o diagnóstico.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo busca trazer uma série de informações sobre as espécies mais comuns, que por muitas vezes se tornam patógenos, do gênero *Candida* e que tem se mostrado presente no ambiente hospitalar, preocupando a comunidade médico-científica.

A crescente resistência observada nesse gênero pode ser relacionada com o uso abusivo de antifúngico e antibacterianos também, mesmo estes não sendo os

fármacos de uso tradicional para o tratamento de micoses. Esse uso exacerbado cria um ambiente desafiador e atrativo para selecionar cepas com mecanismos mais evoluídos de sobrevivência.

É importante enfatizar que o uso de fármacos antifúngicos deve ser receitado apenas quando estritamente necessário. Também se torna bastante interessante a identificação correta do micro-organismo para estrategicamente selecionar qual o fármaco será usado, pois a depender da espécie existem melhores escolhas de fármacos para o tratamento.

Em complemento ao já exposto, se faz de suma importância o acompanhamento e devida observação pela equipe médica, sobre a evolução do paciente. Ainda mais se este for um indivíduo imunossuprimido por qualquer razão, como quimioterapia, transplantados ou portadores do vírus HIV.

Ao realizar esse acompanhamento as infecções ou patógenos resistentes são observados com facilidade, dessa forma é mais fácil para o médico estabelecer um plano de ação eficaz, tornando o tempo de exposição ao fármaco o mais curto possível. Além disso, deve se manter os exames deste em dia para acompanhar também como o organismo está reagindo ao fármaco, pois muitos desses podem causar nefrotoxicidade e hepatotoxicidade como efeitos colaterais.

No trabalho também é relatado a importância do estudo e compreensão da formação e mecanismos de evasão do biofilme. Este é o maior desafio enfrentado em hospitais atualmente. É um perigo invisível e imprevisível e, portanto, torna-se um problema muito grande sobretudo em pacientes debilitados, geralmente a muito tempo acamados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANN CHAI, L. Y.; DENNING, D. W.; WARN, P. *Candida tropicalis* in human disease. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 36, n. 4, p. 282–298, nov. 2010.
- ARKOWITZ, R. A.; BASSILANA, M. Recent advances in understanding *Candida albicans* hyphal growth. **F1000Research**, v. 8, p. 700, 21 maio 2019.
- Bongomin F, Gago S, Oladele RO e Denning DW. Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases - Estimate Precision. *J Fungi*. 2017; 3:57.
- Departamento de Ciência e Tecnologia, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Ministério da Saúde. Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde. *Rev Saúde Pública* 2010;44(1):200-2
- DU, H. et al. *Candida auris*: Epidemiology, biology, antifungal resistance, and virulence. **PLOS Pathogens**, v. 16, n. 10, p. e1008921, 22 out. 2020.
- Giacomazzi J, Baethgen L, Carneiro LC, et al. The burden of serious human fungal infections in Brazil. *Mycoses*. 2016; 59(3):145-150.
- Global Fund for Fungal Infections (GAFFI). Fungal Disease Frequency [Internet]. 2020. Disponível em: <https://www.gaffi.org/why/fungal-diseasefrequency/>.
- GULATI, M.; NOBILE, C. J. *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. **Microbes and Infection**, v. 18, n. 5, p. 310–321, maio 2016.
- JAMIU, A. T. et al. Update on *Candida krusei*, a potential multidrug-resistant pathogen. **Medical Mycology**, v. 59, n. 1, p. 14–30, 4 jan. 2021.
- JEFFERY-SMITH, A. et al. *Candida auris*: a Review of the Literature. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 31, n. 1, jan. 2018.
- KOTHAVADE, R. J. et al. *Candida tropicalis*: its prevalence, pathogenicity and increasing resistance to fluconazole. **Journal of Medical Microbiology**, v. 59, n. 8, p. 873–880, 1 ago. 2010.
- Leading International Fungal Education (LIFE). Fungal Infections [Internet]. 2020. Disponível em: <http://www.life-worldwide.org/fungal-diseases>.
- OLIVEIRA, J. S. DE et al. The yeast, the antifungal, and the wardrobe: a journey into antifungal resistance mechanisms of *Candida tropicalis*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 66, n. 6, p. 377–388, jun. 2020.
- POULAIN, D. *Candida albicans*, plasticity and pathogenesis. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 41, n. 2, p. 208–217, 3 abr. 2015.
- RASHEED, M.; BATTU, A.; KAUR, R. Host–pathogen interaction in *Candida glabrata* infection: current knowledge and implications for antifungal therapy. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 18, n. 11, p. 1093–1103, 1 nov. 2020.

- RHODES, J.; FISHER, M. C. Global epidemiology of emerging *Candida auris*. **Current Opinion in Microbiology**, v. 52, p. 84–89, dez. 2019.
- RODRIGUES, C. F.; SILVA, S.; HENRIQUES, M. *Candida glabrata*: a review of its features and resistance. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 33, n. 5, p. 673–688, maio 2014.
- SILVA, S. et al. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 36, n. 2, p. 288–305, mar. 2012.
- TÓTH, R. et al. *Candida parapsilosis*: from Genes to the Bedside. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 32, n. 2, 20 mar. 2019.
- Treatment and Management of Infections and Colonization, **Center for Disease Control**, 2021
- TSUI, C.; KONG, E. F.; JABRA-RIZK, M. A. Pathogenesis of *Candida albicans* biofilm. **Pathogens and Disease**, v. 74, n. 4, p. ftw018, jun. 2016.
- WALL, G. et al. *Candida albicans* biofilm growth and dispersal: contributions to pathogenesis. **Current Opinion in Microbiology**, v. 52, p. 1–6, dez. 2019.
- YADAV, J. S. S. et al. *Candida krusei*: biotechnological potentials and concerns about its safety. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 58, n. 8, p. 937–952, ago. 2012.