
CLASSIFICAÇÃO DA CAPACIDADE DE ADESÃO DE ISOLADOS CLÍNICOS DE *Candida* SPP EM PADRÕES DE ARRANJOS CELULARES DISTINTOS

Viviane Menezes de Menezes^{1 e2}, Iven Neylla Farias Vale¹, Silvio Gomes Monteiro¹,
Luís Henrique Bastos Gonçalves³, Patrícia Maria Silva Figueiredo¹ e Cristina
Andrade Monteiro^{1 e4}

RESUMO

A adesão às células do hospedeiro é considerada uma propriedade de virulência essencial para o desenvolvimento da candidíase, uma vez que é a etapa inicial do processo infeccioso em mucosa, especialmente em pacientes imunocomprometidos. O presente estudo avaliou a adesão à lamínula de 118 isolados clínicos de *Candida* de diversos sítios anatômicos e classificou os arranjos celulares em padrões de aderência distintos. Foram estudadas quatro espécies de *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. glabrata*). Em um total de 93 (79%) isolados foi identificada a propriedade de aderência e, destes, 51 (43,3%) mostraram capacidade fraca de aderência; 25 (21,2%), intensidade moderada e 17 (14,4%), forte. Isolados de *C. glabrata* mostraram os menores níveis de adesão e os de *C. tropicalis*, os maiores. Entre os isolados com capacidade de aderir, 44 (47,3%) apresentaram o padrão de aderência localizado, 24 (25,8%) mostraram um padrão agregativo e 9 (9,7%), o tipo pseudo-hifal. Nos isolados de *C. parapsilosis*, verificou-se maior variabilidade em termos de padrões de adesão às lamínulas. Em síntese, esta pesquisa mostra que os isolados de espécies de *Candida* não *C. albicans* foram mais aderentes que os de *C. albicans* sugerindo maior expressão desta propriedade naquelas amostras.

DESCRITORES: Adesão; *candida*; virulência; padrões de aderência.

-
- 1 Universidade do Ceuma (UNICEUMA), Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão, Rua Josué Montello, n.1, Renascença II, CEP 65075-120, São Luís, Maranhão, Brasil.
 - 2 Faculdade de Educação de Bacabal (FEBAC), Direção Acadêmica, Rua 12 de Outubro, n.377, Centro, Bacabal, Maranhão, Brasil.
 - 3 Instituto Florence de Ensino (FLORENCE), Rua Rio Branco, n. 216, Centro, São Luís, Maranhão, Brasil.
 - 4 Instituto Federal de Educação (IFMA), Ciência e Tecnologia do Maranhão, Avenida Getúlio Vargas, n.4, Monte Castelo, Maranhão, Brasil.

Endereço para correspondência: Cristina Andrade Monteiro. E-mail: crisand2003@yahoo.com

Recebido para publicação em: 25/8/2012. Revisto em: 8/2/2013. Aceito em: 17/9/2013.

ABSTRACT

Classification of adherence ability of clinical isolates of *Candida* spp in different patterns of cell arrangements

Adhesion has been identified as a potential virulence factor for developing candidiasis, since it is a primary mechanism of infection, especially in immunocompromised patients. The present study reports on an *in vitro* adherence assay and the establishment of patterns of adhesion of clinical isolates of *Candida* from many different anatomical sites, with the goal of comparing this virulence property among these isolates. Adherence ability was quantified in 118 strains of *Candida*. The results showed that all isolates adhered to coverslips in a species- and strain-dependent manner with *C. glabrata* showing the lowest and *C. tropicalis* the highest levels of adhesion. From 93 (79%) isolates with the ability to adhere, 51 (43.3%) showed weak adherence, 25 (21.2%) moderate adherence and 17 (14.4%), a strong adherence ability. Among the strains with the ability to adhere, 44 (47.31%) presented a pattern of localized adherence, 24 (25.8%) showed an aggregative pattern and only 9 (9.7%) had a pseudo-hyphal type. It was found that non *C. albicans* strains were more adherent than isolates of *C. albicans*, suggesting higher expression of this property in those species.

KEY WORDS: Adhesion; *candida*; virulence; patterns of adhesion.

INTRODUÇÃO

Leveduras do gênero *Candida* existem como comensais nos organismos, estão presentes na microbiota humana desde o nascimento sem causar infecção e coexistem com o hospedeiro durante toda a sua vida. Podem colonizar principalmente o trato gastrointestinal, a cavidade bucal, a vagina, os aparelhos respiratório e urinário, entre outras localizações (8). A alteração destas leveduras comensais para agente infeccioso se dá, principalmente, em razão dos fatores de virulência do micro-organismo e da resposta imunológica do hospedeiro, o que coloca as espécies de *Candida* entre os principais fungos oportunistas (14, 26).

Infecções oportunistas em seres humanos muitas vezes seguem a imunossupressão ou neutropenia (4). De maneira semelhante a todas as doenças infecciosas, a adesão de um micro-organismo ao tecido hospedeiro ou à superfície de um dispositivo clínico deve ocorrer antes que a infecção se estabeleça. Assim como muitos micro-organismos, a capacidade de *Candida albicans* aderir a superfícies é, presumidamente, uma característica importante de sobrevivência e/ou patogenicidade (14). *C. albicans* é o fungo mais comumente encontrado em laboratórios hospitalares e constitui a quarta causa mais comum de hemoculturas positivas em pacientes hospitalizados na América do Norte (17). Por fim, candidíase é a infecção oportunística mais comum em indivíduos infectados pelo HIV (16). Embora *C. albicans* seja a principal espécie isolada de pacientes com fungemia (5, 26), relatos recentes indicam uma tendência para o aumento da prevalência de infecções causadas por espécies de *Candida* não *C. albicans* (1, 7, 12). No Brasil

as espécies mais prevalentes são *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. guilliermondii* (12).

C. albicans possui a capacidade de aderir a tecido humano e a materiais artificiais tais como sondas, cateteres de látex e vários tipos de materiais plásticos, sendo, portanto, responsáveis por infecções importantes (17, 27, 28, 30). Entre os mecanismos pelos quais um fungo adere e mantém contato com a superfície hospedeira, estão os não específicos, tais como interações iônicas e hidrofóbicas e o reconhecimento específico entre ligantes e receptores (28). *C. albicans* possui uma família de genes Agglutinin-Like Sequence (Als) que codifica glicoproteínas de superfície celular relacionadas ao processo de adesão às superfícies das membranas mucosas (17). King et al. (15) demonstraram o fenótipo típico de adesão de *C. albicans* às células epiteliais bucais formando aglomerados de células. Quando *C. albicans* encontra uma proteína ancorada, uma célula ou tecido, o fungo adere e, então, agrega. Este fenômeno ocorre por causa das proteínas Als (17). Entretanto, as proteínas Als não foram identificadas em todas as espécies de *Candida* e, provavelmente, nestes outros polipeptídeos diferentes possam exercer a função de aderência (17, 20, 28).

A análise *in vitro* da propriedade de aderência das espécies de *Candida* pode contribuir para a compreensão do comportamento destes organismos em um processo de infecção específico. Desse modo, o presente estudo teve por objetivos avaliar e comparar a capacidade de adesão de isolados clínicos de *Candida* spp., provenientes de sítios anatômicos diferentes, a lamínulas de vidro e propor uma classificação da aderência em padrões de arranjos celulares distintos.

MATERIAL E MÉTODOS

População e amostra

As amostras de *Candida* spp. empregadas neste estudo foram isoladas de cultura de pacientes internados em hospitais públicos e privados de São Luís, Maranhão, Brasil. Os isolados de *Candida* foram obtidos entre os anos de 2007 e 2009 e pertencem à micoteca de um laboratório privado, os quais foram gentilmente cedidos para esta pesquisa. A cepa *C. albicans* ATCC 18804 foi utilizada como cepa-padrão deste experimento. A análise de aderência foi estudada em isolados clínicos de *C. albicans* (59 amostras), *C. glabrata* (18 amostras), *C. tropicalis* (22 amostras) e *C. parapsilosis* (19 amostras). Os isolados foram previamente identificados pelo sistema automatizado VITEK (BioMerieux, Marcy-l'Étoile, France). As leveduras rotineiramente crescem em placas contendo Agar Sabouraud Dextrose, com incubação a 37°C por 24 horas a partir de culturas-estoque em BHI-glicerol, e são armazenadas a 4°C durante os procedimentos laboratoriais.

Ensaio de adesão

Preparo do inóculo dos isolados de *Candida*

O inóculo de células leveduriformes foi preparado a partir de cultura-estoque em meio BHI incubado por 18 horas a 37°C e padronizado para, aproximadamente, 10^7 UFC/mL (27).

Aderência a lamínulas de vidro

O estudo da capacidade de adesão foi realizado segundo Silva et al. (27) com modificações. Para a análise da aderência, lamínulas de vidro redondas esterilizadas (Glasscyto) foram colocadas em placas de microtitulação de 24 poços (TPP Zellkultur Testplatte 24F) e, em seguida, foram adicionados 40 µL do inóculo padronizado de *Candida* e 960 µL de meio BHI em cada poço. Como controles, lamínulas de vidro foram processadas na ausência de células de *Candida*. As placas de microtitulação foram incubadas a 37°C durante 8 horas. Posteriormente, removeu-se o meio de incubação e as microplacas foram lavadas com água ultrapura para a remoção das células não aderidas. As lamínulas foram coradas com 1% (v/v) de violeta cristal por cinco minutos e, posteriormente, lavadas com água ultrapura estéril para remover o excesso de corante e, em seguida, colocadas sobre lâminas para visualização em microscopia óptica (NIKON Eclipse E100). O experimento foi realizado em triplicata.

Classificação da capacidade de adesão e padrões de aderência

A contagem de células aderidas a cada lamínula em um máximo de 70 campos/lamínula (aumento de 400x) foi realizada por dois observadores (10) com adaptações. O número de células aderidas foi definido como a média de três experimentos realizados para cada isolado. A capacidade de adesão em material inerte foi classificada como negativa, fraca (+), moderada (++) ou forte (+++) (10). A adesão celular foi considerada *negativa* quando menos de uma célula estava aderida por campo em 70 campos observados; *fraca* quando havia entre 1 e 10 células aderidas por campo em 50 campos analisados; *moderada* quando havia mais de 10 células aderidas por campo em 30 campos observados e *forte* quando foram contabilizadas 25 ou mais células aderidas por campo em um total de 20 campos observados. Não foram constatados resultados discrepantes entre os dois observadores na visualização microscópica.

As características de aderência de *Candida* às lamínulas de vidro são assim classificadas: padrão *difuso* quando as células de levedura aderem a toda a superfície da lamínula de vidro, sem formar grupos de células; adesão *localizada* que envolve grupos de leveduras que aderem a regiões localizadas da lamínula; *agregativa* que é caracterizada por grumos de leveduras que se arranjam como “tijolos empilhados” ou “cachos de uva” que se ligam à superfície da lâmina de vidro. A formação de filamentos ou pseudo-hifas ao longo da superfície da lamínula caracterizou o padrão filamentoso ou pseudo-hifal (21).

Análise estatística

Os dados foram avaliados pelo programa BioEstat versão 5.0 (2007) e analisados usando-se o teste de variância não paramétrico de Kruskal-Wallis. O nível de significância adotado em todos os testes foi de 5%, isto é, valores foram considerados significantes quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Capacidade de adesão

De um total de 118 isolados de *Candida* avaliados, observou-se que 93 (78,8%) apresentaram a capacidade de aderir à lamínula de vidro e destes, 51 mostraram capacidade fraca de aderência; 25, intensidade moderada e 17, forte (Tabela 1). Observou-se, ainda, que a capacidade de aderência variou de acordo com a espécie de *Candida* avaliada. Dentre as espécies analisadas, *C. tropicalis* mostrou maior capacidade de aderência à lamínula de vidro, com 91% dos isolados positivos, seguida de *C. parapsilosis* (89%), *C. albicans* (76%) e *C. glabrata* (61%). Além da variação interespecífica, verificou-se uma variabilidade intraespecífica com relação à capacidade de adesão (Tabela 1). A análise estatística mostra que estas diferenças de capacidade de adesão observadas entre as quatro espécies e os seus isolados diferentes não são significantes ($p > 0,05$).

Tabela 1. Número de espécies aderentes e níveis da capacidade de adesão dos isolados de *Candida*

Espécies	Negativo n (%)	Positiva n (%)	Níveis de adesão			Total n(%)
			Fraca	Moderada	Forte	
<i>C. albicans</i>	14 (24)	45 (76)	28	07	10	59 (50)
<i>C. tropicalis</i>	02 (09)	20 (91)	08	08	04	22 (19)
<i>C. parapsilosis</i>	02 (11)	17 (89)	09	05	03	19 (16)
<i>C. glabrata</i>	07 (39)	11 (61)	06	05	-	18 (15)
Total	25 (21)	93 (79)	51	25	17	118 (100)

Com relação ao nível ou intensidade de adesão, houve diversidade entre as espécies de *Candida* (Tabela 2), independentemente do sítio de origem. Quanto ao número total de espécies analisadas, estas diferenças não foram significantes (teste de Kruskal Wallis, $p = 0,0825$; $H = 6,69$). Também não foram verificadas diferenças estatísticas entre o grau de positividade de adesão entre os vários sítios de origem (teste de Kruskal Wallis, $p = 0,7177$; $H = 2,1$). Entretanto, observou-se que todas as amostras de *C. tropicalis*, provenientes de aspirados traqueais, e todas de *C. parapsilosis*, isoladas de cateteres, foram aderentes (Tabela 2).

A Figura 1 ilustra exemplos de organização celular ou padrões de adesão às lamínulas de vidro entre os isolados de *Candida*. Entre as 93 amostras com capacidade de aderir, 44 apresentaram padrão de aderência localizado, 24 isolados mostraram padrão agregativo; 16, padrão difuso e 9, padrão do tipo pseudo-hifal. Apenas dois isolados de *C. albicans* exibiram padrão filamentoso ou pseudo-hifal. *C. parapsilosis* foi a espécie que apresentou maior variabilidade dos padrões de adesão entre seus isolados, sendo cinco com padrão de pseudo-hifas. A maioria dos isolados que mostrou padrão localizado ou agregativo era proveniente de urina (Tabela 3).

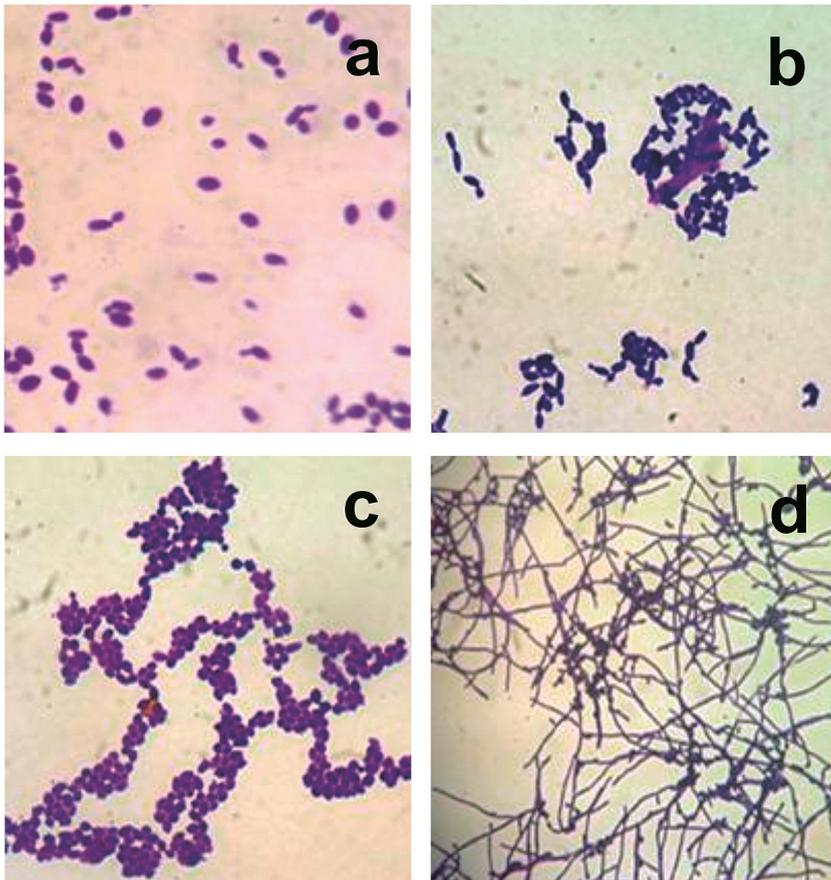


Figura 1. Organização celular ou padrões de adesão de diferentes isolados de *Candida* às lamínulas de vidro: (a) padrão difuso; (b) padrão localizado; (c) padrão agregativo; (d) padrão pseudo-hifal. Aumento 40X.

Tabela 2. Níveis da capacidade de adesão dos isolados de *Candida* em relação à espécie e ao sítio de origem

Espécie* n (%)	Sítio**	Níveis da capacidade de adesão				Total
		Negativo	Fraco	Moderado	Forte	
<i>C. tropicalis</i> 22 (19 %)	Urina	1	3	4	2	10
	Sangue	1	1	2	1	5
	Secreção traqueal	-	4	2	1	7
	Total	2	8	8	4	22
<i>C. glabrata</i> 18 (15 %)	Secreção traqueal	-	1	2	-	3
	Urina	7	5	3	-	15
	Total	7	6	5	-	18
<i>C. parapsilosis</i> 19 (16 %)	Sangue	1	5	4	-	10
	Ponta cateter	-	3	-	1	4
	Urina	1	1	1	2	5
<i>C. albicans</i> 59 (50 %)	Total	2	9	5	3	19
	Urina	6	13	2	6	27
	Secreção traqueal	5	7	1	-	13
	Secreção vaginal	2	7	3	1	13
	Ponta cateter	-	1	-	-	1
	Sangue	1	-	1	3	5
Total	14	28	7	10	59	

* Teste de Kruskal-Wallis para a adesão em relação à espécie, H=6, 69, p= 0, 0825;

** Teste de Kruskal-Wallis para a adesão em relação ao sítio de origem, H= 2, 1, p= 0, 7177

Tabela 3. Distribuição dos padrões de aderência entre os isolados de *Candida* em relação à espécie e ao sítio de origem

Espécies	Sítio de origem	Padrões de aderência				Total
		Localizado	Agregativo	Difuso	Pseudo-hifal	
<i>C. albicans</i>	Urina	13	3	3	2	21
	Secreção vaginal	9	1	1	0	11
	Secreção traqueal	4	2	2	0	8
	Sangue	1	3	0	0	4
	Ponta cateter	0	1	0	0	1
	Total	27	10	6	2	45
<i>C. parapsilosis</i>	Urina	1	1	1	1	4
	Sangue	3	0	4	2	9
	Ponta cateter	0	1	1	2	4
Total	4	2	6	5	17	
<i>C. tropicalis</i>	Urina	5	3	0	1	9
	Secreção traqueal	4	3	0	0	7
	Sangue	1	2	1	0	4
	Total	10	8	1	1	20
<i>C. glabrata</i>	Urina	2	3	2	1	8
	Secreção traqueal	1	1	1	0	3
	Total	3	4	3	1	11
Total	44	24	16	9	93	

DISCUSSÃO

A aderência de *Candida* às superfícies mucosas de células do hospedeiro é essencial para que ocorra colonização e infecção (14). Estudos mostram que a capacidade de aderência nas diversas espécies de *Candida* é diferente (27, 28, 30). Este fato explica por que algumas espécies colonizam mais frequentemente superfícies mucosas do que outras (27). Além disso, a capacidade de aderir a materiais inertes pode ser um indicativo de provável aderência a células vivas (31). Nesta pesquisa, todas as espécies de *Candida* avaliadas foram capazes de realizar adesão a lamínulas de vidro, corroborando outros estudos que relatam a aderência de espécies de *Candida* a materiais inertes como silicone (27, 30). Entretanto, é importante notar que isolados de *Candida* não-*Candida albicans* (CNCA) apresentaram maior capacidade de aderência (81,4%) que os de *C. albicans* (76,3%), pois 91% dos isolados de *C. tropicalis* apresentaram capacidade de aderir às lamínulas de vidro e destes, 20% apresentaram forte aderência (+++). Este resultado, em relação às demais espécies de CNCA, foi significativo ($p < 0,001$). A elevada capacidade de aderência de *C. tropicalis* pode indicar uma virulência aumentada desta espécie em relação às demais, ratificando os resultados obtidos por Tamura et al. (29) e Costa (8), segundo os quais espécies de CNCA têm maior propriedade de adesão que *C. albicans*. No estudo de Tamura et al. (29) (2007), os pesquisadores relatam *C. glabrata* como a espécie com maior capacidade de aderência, por outro lado, Costa (8) mostra isolados de *C. tropicalis* significativamente mais aderentes que aqueles de *C. albicans*. Moreno et al. (2009) também observaram que *C. tropicalis* é a espécie que apresenta maior capacidade de aderência a material inerte como resina acrílica (18).

Os resultados aqui obtidos são relevantes, visto que, em um estudo epidemiológico de 100 casos de candidúria, no período entre 1999 e 2004 em hospital pediátrico no Brasil, foram isoladas 20 amostras de *C. tropicalis*, 56 de *C. albicans*, 11 de *C. glabrata* e 4 de *C. parapsilosis* (9). O risco de infecção do trato urinário por *Candida* corresponde a um percentual de 10% a 15% das infecções fúngicas em ambiente hospitalar, fato especialmente relacionado com a capacidade de aderência das espécies de *Candida* a cateteres urinários (27).

De fato, *C. tropicalis* tem emergido como segundo ou terceiro agente mais comum de candidemia, principalmente em pacientes com câncer (22, 32). Além disso, uma incidência elevada de *C. tropicalis* como agente causal de infecções nosocomiais do trato urinário tem sido relatada (9, 25). Espécies de CNCA vêm mostrando um aumento no número de casos de fungemia em vários países (1, 6, 27), provavelmente em razão da maior expressão dos fatores de virulência, dentre estes a capacidade de aderir e formar biofilme.

Dentre os isolados de *C. tropicalis* aderentes positivos, aqueles provenientes de secreção traqueal se revelaram 100% aderentes, apesar desta diferença não ter sido significativa em relação aos demais sítios anatómicos.

Ressalta-se que *C. parapsilosis* também apresenta importantes fatores de virulência como adesão a células e formação de biofilme (3, 31), corroborando este trabalho no qual a espécie foi a segunda com maior capacidade de adesão (89%), pois 100% de isolados provenientes de ponta de cateter foram aderentes. Embora *C. parapsilosis* seja frequentemente considerada menos virulenta que *C. albicans*, é uma das causas mais frequentes de candidemia associada a hiperalimentação parenteral, dispositivos intravasculares e soluções oftálmicas contaminadas (23, 31). Vários fatores dão à *C. parapsilosis* uma vantagem seletiva, incluindo a capacidade de proliferar em altas concentrações de glicose e de aderência a materiais protéticos (23, 27, 31). Surto nosocomiais de *C. parapsilosis* também têm sido descritos e atribuídos à contaminação exógena, através das mãos de profissionais da saúde (2, 23).

Neste estudo, verificou-se, pela primeira vez, que as células de *Candida*, ao aderirem à superfície da lamínula de vidro, arranjam-se em formas diferenciadas de organização celular e, desta forma, os isolados puderam ser classificados em padrões distintos. Estes padrões foram categorizados de maneira semelhante à classificação de linhagens diarreicas de *E. coli* que mostram padrões de aderência distintos quando aderidas às células HEp-2, HeLa ou às lamínulas *in vitro* (21). Neste estudo, 47,3% dos isolados com capacidade de aderir apresentaram um padrão do tipo localizado e 25,8%, um padrão agregativo. A maioria destes isolados era proveniente de urina. A grande quantidade de isolados mostrando padrão do tipo localizado ou agregativo poderia ser explicada pela presença de adesinas (proteínas Als) na parede celular de *Candida* que seriam responsáveis pela capacidade de aderência intercelular mostrada pelas diferentes linhagens. Estes tipos de padrão de aderência facilitariam a formação de biofilme por estas espécies.

Regiões estruturais específicas das proteínas Als em *C. albicans* parecem estar envolvidas no fenômeno de agregação celular, como a região de repetições em *tandem* e a região rica em resíduos de treonina (17). A região rica em treonina na Als5p, que é composta por 127 aminoácidos, está envolvida na agregação (24), entretanto, Als7p e Als9p, com 128 aminoácidos, não proporcionam agregação após a adesão (16, 33). Da mesma forma, a propriedade de agregação de várias proteínas Als de *C. albicans* é proporcional ao número de repetições em *tandem* na molécula (24). Por exemplo, Als1p com 20 repetições induz a formação de agregados maiores que aqueles induzidos por Als5p com somente cinco seqüências repetidas (16).

Somente dois isolados de *C. albicans* mostraram um padrão filamentosos ou pseudo-hifal de aderência, o que também foi observado em sete (7,5%) dos isolados das demais espécies de *Candida* não *albicans*. A capacidade de diferenciação entre as formas leveduriformes e as formas filamentosas tem sido descrita em muitos estudos e tem relação direta com a invasão tecidual por facilitar a penetração no tecido do hospedeiro (13), não sendo, contudo, essencial para a patogênese da *Candida* (11). Provavelmente a forma filamentosas seja mais virulenta em razão da maior superfície de contato entre o micro-organismo e a área a ser infectada, embora as duas formas sejam frequentemente encontradas tanto como

comensais quanto em processos infecciosos. Espécies de *Candida* não *albicans* que não formam hifas verdadeiras são potencialmente patogênicas e estão envolvidas com a morbimortalidade por estes agentes (13).

A possibilidade de mudar o seu próprio fenótipo tem sido descrita em relação à *C. albicans* e pode modular alguns fatores de virulência, inclusive o dimorfismo celular e a aderência (13). Entretanto, os mecanismos que possibilitam esta mudança fenotípica ainda necessitam ser esclarecidos (8), é provável que estejam associados à riqueza de nutrientes e expressão de genes de adesinas ou de outras proteínas (13, 19).

A investigação da presença e/ou expressão das Als ou de genes responsáveis pela passagem para hifa nos isolados de *Candida* seria fundamental para estabelecer correlações com os dados fenotípicos de aderência obtidos nesta pesquisa.

Em síntese, os resultados desta pesquisa demonstram que as espécies de *Candida* avaliadas foram capazes de aderir a superfícies inertes, estruturando-se em padrões distintos de organização celular, nos quais alguns desses tipos poderiam facilitar a formação de biofilmes por estas espécies. Os dados aqui obtidos também mostram que a propriedade de aderência não está diretamente relacionada ao sítio de infecção, mas provavelmente a fatores específicos destes micro-organismos e à resposta do hospedeiro.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) pelo apoio financeiro concedido a Viviane Menezes, Edital ATB-04191/10 e Edital FAPEMA nº 026/2010 - Taxa de Bancada, e pela bolsa de Mestrado destinada a Iven Neylla Farias.

REFERÊNCIAS

1. Bassetti M, Righi E, Costa A, Fasce R, Molinari MP, Rosso R, Pallavicini FB, Viscoli C. Epidemiological trends in nosocomial candidemia in intensive care. *BMC Infect Dis* 6: 21, 2006.
2. Bonassoli LA, Bertoli M, Svidzinski TIE. High frequency of *Candida parapsilosis* on the hands of healthy hosts. *J Hosp Infect* 59: 159-162, 2005.
3. Bruder-Nascimento A, Camargo CH, Sugizaki MF, Sadatsune T, Montelli AC, Mondelli AL, Bagagli E. Species distribution and susceptibility profile of *Candida* species in a Brazilian public tertiary hospital. *BMC Res Notes* 3: 1-5, 2010.
4. Chakravarthi S, Haleagrahara N. A Comprehensive Review of the Occurrence and Management of systemic candidiasis as na opportunistic infection. *Microbiol. J I*: 1-7, 2011.
5. Chakravarthi S, Wei CZ, Nagaraja, HS. Increased susceptibility to opportunistic renal candidiasis due to immunosuppression induced by breast cancer cell lines. *Sci World J* 5: 5-10, 2010.
6. Cheng MF, Yang YL, Yao TJ, Lin CY, Liu JS, Tang RB, Yu KW, Fan YH, Hsieh KS, Ho M, Lo HJ. Risk factors for fatal candidemia caused by *Candida albicans* and non-*albicans* *Candida* species. *BMC Infect Dis* 5: 22, 2005.
7. Colombo AL, Nucci M, Park BJ. Epidemiology of candidemia in Brazil: A nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centres. *J Clin Microbiol* 44: 2816-2823, 2006.

8. Costa KRC. Aspectos fenotípicos e moleculares da adesão e atividade enzimática de *Candida* sp isolada de pacientes com sinais clínicos de candidíase oral. [Tese de Doutorado em Biociências Aplicada a Farmácia - USP Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto], 2009.
9. da Silva EH, Ruiz LDAS, Matsumoto FE, Auler ME, Giudice MC, Moreira D, Szeszs W, Paula CR. Candiduria in a public hospital of Sao Paulo (1999-2004): characteristics of the yeast isolates. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 49: 349-353, 2007.
10. Emira N, Mejdi S, Dorra K, Amina B, Eulogio V. Comparison of the adhesion ability of *Candida albicans* strains to biotic and abiotic surfaces. *African Journal of Biotechnology* 10: 977-985, 2011.
11. Gow NA, Brown AJ, Odds FC. Fungal morphogenesis and host invasion. *Curr Opin Microbiol* 5: 366-371, 2002.
12. Hinrichsen SL, Falcão E, Vilella TAS, Rêgo L, Lira C, Almeida L, Martins M, Araújo C, Duarte M, Lopes G. *Candida* isolates in tertiary hospitals in northeastern Brazil. *Brazilian J Microbiol* 40: 325-329, 2009.
13. Jacobsen D, Wilson D, Wächtler B, Brunke S, Naglik JR, Hube B. *Candida albicans* dimorphism as a therapeutic target. *Expert Rev Anti Infect Ther* 10: 85-93, 2012.
14. Jain PA, Veerabhadru K, Kulkarni RD, Ajantha GS, Shubhada C, Amruthkishan U. Comparative study of adherence of oral *Candida albicans* isolates from HIV sero-positive individuals and HIV sero-negative individuals to human buccal epithelial cells. *Indian J Pathol Microbiol* 53: 513-517, 2010.
15. King RD, Lee JC, Morris AL. Adherence of *Candida albicans* and other *Candida* species to mucosal epithelial cells. *Infect Immun* 27: 667-674, 1980.
16. Klotz SA, Gaur NK, De Armond R, Sheppard D, Khardori N, Edwards JE Jr, Lipke PN, El-Azizi M. *Candida albicans* Als proteins mediate aggregation with bacteria and yeasts. *Med Mycol* 45: 363-370, 2007.
17. Klotz SA, Lipke PN. The Perfect Adhesive. *Current research, technology and education topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology* 16: 838-844, 2010.
18. Moreno SMA, Vergani CE, Sanitá PV, Giampaolo ET, Machado AL, Pavarina AC. Avaliação da adesão de *Candida* spp em uma resina acrílica experimental. *Revista de Odontologia da UNESP* 38: 89, 2009.
19. Naglik JR, Fostira F, Ruprai J, Staab JF, Challacombe SJ, Sundstrom P. *Candida albicans* HWPI gene expression and host antibody responses in colonization and disease. *J Med Microbiol* 55: 1323-1327, 2006.
20. Nascimento, ACMOB. Susceptibilidade antifúngica, produção de biofilme e caracterização do gene *als3* em isolados de *Candida albicans* e não *albicans* do Hospital das Clínicas de Botucatu. [Dissertação de Mestrado, UNESP, Botucatu, São Paulo], 2009.
21. Nataro JP, Kaper JB, Robins-Browne R, Prado V, Vial P, Levine MM. Patterns of adherence of diarrheagenic *Escherichia coli* to HEp-2 cells. *Pediatr Infect Dis J* 6: 829-831, 1987.
22. Nucci M, Colombo AL. Candidemia due to *Candida tropicalis*: clinical, epidemiologic, and microbiologic characteristics of 188 episodes occurring in tertiary care hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 58: 77-78, 2007.
23. Pires RH, dos Santos JM, Zaia JE, Martins CHG, Giannini, MJSM. *Candida parapsilosis* complex water isolates from a haemodialysis unit: biofilm production and in vitro evaluation of the use of clinical antifungals. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 6: 646-654, 2011.
24. Rauceo JM, De Armond R, Otoo H, Kahn PC, Klotz SA, Gaur NK, Lipke PN. Threonine-rich repeats increase fibronectin binding in the *Candida albicans* adhesin Als5p. *Eukaryot Cell* 5: 1664-1673, 2006.
25. Rho J, Shin JH, Song JW, Park MR, Kee SJ, Jang SJ, Park YK, Suh SP, Ryang DW. Molecular investigation of two consecutive nosocomial clusters of *Candida tropicalis* candiduria using pulsed-field gel electrophoresis. *J Microbiol* 42: 80-86, 2004.
26. Saliba F. Emerging fungal infections. *Expert Rev Anti-Infect Ther* 10: 419-421, 2012.

27. Silva S, Negri M, Henriques M, Oliveira R, Williams D, Azeredo J. Silicone colonization by non-*Candida albicans* *Candida* species in the presence of urine. *J Med Microbiol* 59: 747-754, 2010.
28. Silva S, Negri M, Henriques M, Oliveira R, Williams D, Azeredo J. Adherence and biofilm formation of non-*Candida albicans* *Candida* species. *Trends Microbiol* 19: 241-247, 2011.
29. Tamura NK, Gasparetto A, Svidzinski TI. Evaluation of the adherence of *Candida* species to urinary catheters. *Mycopathologia* 156: 269-272, 2003.
30. Tamura NK, Negri MFN, Bonassoli LA, Svidzinski, TIE. Virulence factors for *Candida* spp recovered from intravascular catheters and hospital workers'. *Rev Soc Bras Med Trop* 40: 91-93, 2007.
31. Trofa D, Gacser A, Nsanchuk J. *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. *Clin Microbiol Rev* 21: 606-625, 2008.
32. Weinberger M, Leibovici L, Perez S, Samra Z, Ostfeld I, Levi I, Bash E, Turner D, Goldschmied-Reouven A, Regev-Yochay G, Pitlika SD, Kelle N. Characteristics of candidaemia with *Candida albicans* compared with non-*albicans* *Candida* species and predictors of mortality. *J Hosp Infect* 61: 146-154, 2005.
33. Zhao X, Oh S-H, Jajko R, Diekema DJ, Pfaller MA, Pujol C, Soll DR, Hoyer LL. Analysis of *ALS5* and *ALS6* allelic variability in a geographically diverse collection of *Candida albicans* isolates. *Fungal Genet Biol* 44: 1298-1309, 2007.