

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO *CAMPUS*  
UNIVERSITÁRIO DE SINOP**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciências em Saúde**

**IDENTIFICAÇÃO E PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE  
DE LEVEDURAS ISOLADAS EM SUPERFÍCIES DE  
AMBIENTES HOSPITALARES NO NORTE DE MATO  
GROSSO FRENTE A DESINFETANTES E  
DETERGENTES**

**FRANCIELLE RODRIGUES DOURADO MASSAIA**

Sinop, Mato Grosso  
Fevereiro, 2024

**FRANCIELLE RODRIGUES DOURADO MASSAIA**

**IDENTIFICAÇÃO E PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE  
DE LEVEDURAS ISOLADAS EM SUPERFÍCIES DE  
AMBIENTES HOSPITALARES NO NORTE DE MATO  
GROSSO FRENTE A DESINFETANTES E  
DETERGENTES**

Orientadora: Profa. Dra. Fabiana Cristina Donofrio  
Coorientador: Prof. Dra. Cibele Bonacorsi

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências em Saúde da Universidade Federal de Mato Grosso, Campus Universitário de Sinop como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências em Saúde.

Sinop, Mato Grosso  
Fevereiro, 2024

## Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

M414i Massaia, Francielle Rodrigues Dourado.  
Identificação e perfil de susceptibilidade de leveduras isoladas em superfícies de ambientes hospitalares no norte de Mato Grosso frente a desinfetantes e detergentes [recurso eletrônico] / Francielle Rodrigues Dourado Massaia. -- Dados eletrônicos (1 arquivo : 65 f., pdf). -- 2024.

Orientadora: Fabiana Cristina Donofrio.

Coorientadora: Cibele Bonacorsi.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências em Saúde, Sinop, 2024.

Modo de acesso: World Wide Web: <https://ri.ufmt.br>.

Inclui bibliografia.

1. Leveduras. 2. Hospital. 3. Desinfetantes. I. Donofrio, Fabiana Cristina, *orientador*. II. Bonacorsi, Cibele, *coorientador*. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO**  
**PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS EM SAÚDE**  
**FOLHA DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO: "Identificação e perfil de susceptibilidade de leveduras isoladas em superfícies de ambientes hospitalares no norte de mato grosso frente a desinfetantes e detergentes."**

**AUTOR (A): MESTRANDO (A) Francielle Rodrigues Dourado Massaia**

Dissertação defendida e aprovada em **28/02/2024**.

**COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA**

1. Presidente Banca Doutor(a) Fabiana Cristina Donofrio  
Instituição : Universidade Federal de Mato Grosso
2. Orientador(a) Doutor(a) Fabiana Cristina Donofrio  
Instituição : Universidade Federal de Mato Grosso
3. Examinador(a) Externo(a) Doutor(a) LILIAN CRISTIANE BAEZA  
Instituição : UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
4. Examinador(a) Interno(a) Doutor(a) Carla Regina Andrighetti Fröhner  
Instituição : Universidade Federal de Mato Grosso
5. Examinador(a) Suplente Doutor(a) Manoel Marques Evangelista de Oliveira  
Instituição : Fundação Oswaldo Cruz
6. Examinador(a) Suplente Doutor(a) Vanessa de Almeida Raia  
Instituição : Universidade Federal de Mato Grosso

**SINOP, 28/02/2024.**



Documento assinado eletronicamente por **CARLA REGINA ANDRIGHETTI, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 07/03/2024, às 15:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **FABIANA CRISTINA DONOFRIO, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 11/03/2024, às 17:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Lilian Cristiane Baeza, Usuário Externo**, em 12/03/2024, às 14:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ufmt.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ufmt.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **6645021** e o código CRC **F11BC6A5**.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer à Deus pela vida por abençoar e iluminar cada um dos meus sonhos e objetivos. Obrigada meu Deus, por ser tão generoso comigo, por me cercar de pessoas maravilhosas e oportunidades incríveis, que me trouxeram até aqui.

Agradeço aos meus pais, Rosani e Milton, que sempre me apoiaram e incentivaram a seguir meus sonhos dando tudo de si para que eu pudesse chegar até aqui. Obrigada por tanto amor, e por sempre acreditarem junto comigo nos meus sonhos.

Ao meu irmão, Leonardo, por todo o companheirismo ao longo da vida. Obrigada por ser tão presente e por todo o incentivo.

Ao meu marido, Julio, por toda cumplicidade, paciência, empenho e ao seu companheirismo. Obrigada por ser tão compreensivo nos momentos de estresse, principalmente nos momentos de dificuldades, por não me deixar desistir e por estar sempre presente, obrigada pelo apoio e incentivo que sempre me deu.

Agradeço aos meus avós, Maria, Lourdes, José e Manoel (In memoriam), que me ensinaram os conceitos de caráter e humildade, vocês foram e são muito importantes na minha vida.

À minha orientadora, professora Dra. Fabiana Cristina Donofrio, sempre tão apaixonada pela pesquisa, seus ensinamentos foram muito além do nosso projeto, obrigada pelo empenho e carinho. Muito obrigada por todas as oportunidades e por acreditar na minha capacidade. Obrigada pelos ensinamentos e por compartilhar seu conhecimento em prol desta pesquisa.

À minha Coorientadora, professora Dra. Cibele Bonacorsi, por contribuir com seus conhecimentos, enriquecendo a nossa pesquisa.

À toda a equipe do Laboratório de Análises Microbiológicas e Parasitológicas (LAMP) UFMT que estiveram sempre comigo desde o início da minha pesquisa e que tanto me apoiaram, Principalmente Neocimar, Laryssa, Izamara, Geovana e Yasmin, Lembrarei de vocês sempre com muito carinho e admiração.

Ao professor Dr<sup>o</sup> Manoel Marques Evangelista Oliveira, por sua parceria e contribuição na execução de algumas etapas importantíssimas da pesquisa.

Gostaria de agradecer especialmente minha Coordenadora e amiga Neocimar, por me incentivar e nunca me deixar desistir da realização de mais esse objetivo, por sempre escutar meus desabafos, pelos conselhos que me deu por todo carinho e amizade, meu muito obrigada.

Agradeço aos hospitais participantes por aceitarem contribuir e participar da nossa pesquisa.

Quero agradecer a toda minha família, e a todos que direta ou indiretamente contribuíram para meu crescimento pessoal e acadêmico, minha imensa e eterna gratidão a todos vocês.

## **Epígrafe**

“O mundo é um lugar perigoso de se viver, não por causa daqueles que fazem o mal, mas sim por causa daqueles que observam e deixam o mal acontecer”.

Albert Einstein

## RESUMO

Ambientes hospitalares constituem uma importante fonte de infecções, pois são capazes de albergar uma diversidade de micro-organismos capazes de sobreviver em superfícies por horas, dias e meses, aumentando o risco de transmissão cruzada. Dentre os fungos, os gêneros *Aspergillus* spp. e *Candida* spp. estão entre as responsáveis pela maioria das infecções nosocomiais. Este estudo visou identificar leveduras em superfícies de ambientes hospitalares no Norte de MT e as possíveis fontes de contaminação, podendo contribuir para o aprimoramento de medidas de controle mais eficazes de higienização no ambiente hospitalar. As coletas das amostras foram realizadas nos setores críticos, UTI, centro cirúrgico, isolamento de UTI e enfermaria em hospitais públicos e privados no Norte de MT por meio de *swab* estéril. O material foi semeado em ágar Sabouraud dextrosado com cloranfenicol 0,05%, incubado a 37°C por 48 horas. As colônias foram avaliadas em suas características macro e micromorfológicas. As leveduras foram isoladas e cultivadas em CHROMagar *Candida*, identificando as espécies de *Candida* spp. de forma sugestiva por meio da pigmentação da colônia. A confirmação das espécies foi realizada por meio do sequenciamento genético. Os testes de susceptibilidade das leveduras frente aos desinfetantes e detergentes foram realizados pela metodologia de disco-difusão e adaptação da microdiluição em caldo. Nossos resultados demonstraram o isolamento de 406 micro-organismos em diferentes superfícies nos 3 hospitais avaliados, antes e após a desinfecção e, destes, 39 leveduras em setores críticos como UTI, diversas superfícies das enfermarias e centro cirúrgico, respectivamente, sendo as espécies de maior ocorrência *C. albicans* e *C. krusei*, identificadas presuntivamente por meio cromógeno. Das espécies confirmadas por sequenciamento, a maior ocorrência foi de *C. parapsilosis* e *Trichosporon asteroides*. Das 39 leveduras testadas, 100% apresentaram sensibilidade frente aos desinfetantes MAX CARRINHO (DFM), detergente 3000K (3000K), detergente DSH3 (DSH3), SURFIC 4% (SFC 4%), SURFIC 1% (SFC 1%) e desinfetante MIRAX (MX), por meio do método de microdiluição em caldo adaptado.

**Palavras-chave:** leveduras; hospital; desinfetantes.

## ABSTRACT

Hospital environments constitute an important source of infections, as they are capable of harboring a diversity of microorganisms capable of surviving on surfaces for hours, days and months, increasing the risk of cross-transmission. Among fungi, the genera *Aspergillus* spp. and *Candida* spp. are among those responsible for the majority of nosocomial infections. This study aimed to identify yeasts on surfaces in hospital environments in the North of MT and possible sources of contamination, which could contribute to the improvement of more effective control measures for hygiene in the hospital environment. Sample collection was carried out in critical sectors, ICU, surgical center, ICU isolation and ward in public and private hospitals in the North of MT using sterile swabs. The material was sown on Sabouraud agar dextrosed with 0.05% chloramphenicol, incubated at 37°C for 48 hours. The colonies were evaluated based on their macro and micromorphological characteristics. The yeasts were isolated and cultivated in CHROMagar *Candida*, identifying the species of *Candida* spp. suggestively through the pigmentation of the colony. Confirmation of the species was carried out through genetic sequencing. Yeast susceptibility tests to disinfectants and detergents were carried out using disk diffusion methodology and adaptation of microdilution in broth. Our results demonstrated the isolation of 406 microorganisms on different surfaces in the 3 hospitals evaluated, before and after disinfection, and, of these, 39 yeasts in critical sectors such as the ICU, various surfaces in the wards and the surgical center, respectively, being the most common species. occurrence of *C. albicans* and *C. krusei*, presumptively identified by chromogenic means. Of the species confirmed by sequencing, the highest occurrence was *C. parapsilosis* and *Trichosporon asteroides*. Of the 39 yeasts tested, 100% were sensitive to the disinfectants MAX CARRINHO (DFM), detergent 3000K (3000K), detergent DSH3 (DSH3), SURFIC 4% (SFC 4%), SURFIC 1% (SFC 1%) and MIRAX disinfectant (MX), using the adapted broth microdilution method.

**Keywords:** yeasts; hospital; disinfectants.

## LISTA DE ABREVIATURAS

AIDS - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida  
ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
BHI - *Brain Heart Infusion*  
CC – Centro Cirúrgico  
CLX - Leuco-Clorex 133  
CNCA - *Candidas* não *Candida albicans*  
DFM - Max Carinho  
DNA - Ácido Desoxirribonucleico  
DSH3- Detergente Dash3  
DTM - Detergente Max  
HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana  
IH - Infecção Hospitalar  
IRAS - Infecção Relacionada à Assistência à Saúde  
LAMP - Laboratório de Análises Microbiológicas e Parasitológicas  
MC - Microdiluição em Caldo  
ML - Mililitro  
MRSA - *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina  
MX - Desinfetante Mirax  
NP - Nippobac  
PD - Prodigy  
PHMB - Polihexametileno Biguanida  
RDNA - DNA Ribossomal  
RPM - Rotação por Minutos  
SCIH - Serviço de Controle de Infecção Hospitalar  
SDA - Sabouraud Dextrose Agar  
SFC 1 % - Surfic 1%  
SFC 4% - Surfic 4%  
UFMT - Universidade Federal de Mato Grosso  
UTI - Unidades de Terapia Intensiva  
VRE - Vancomicina-*Enterococos* Resistentes  
3000K - Detergente 3000k

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>1.1 Revisão de literatura</b> .....	12
<i>1.1.1 Infecções hospitalares</i> .....	12
<b>1.2 Infecções fúngicas</b> .....	13
<b>1.3 Desinfecção dos ambientes e superfícies hospitalares</b> .....	14
<b>1.4 Justificativa</b> .....	15
<b>2. OBJETIVO</b> .....	17
<b>2.1 Objetivo geral</b> .....	17
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	17
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	18
<b>3.1 Tipo de estudo e local da pesquisa</b> .....	18
<b>3.2 Coleta das amostras</b> .....	18
<b>3.3 Processamento das amostras</b> .....	18
<b>3.4 Identificação molecular</b> .....	19
<i>3.4.1 Extração do dna genômico</i> .....	19
<i>3.4.2 Sequenciamento</i> .....	20
<b>3.5 Susceptibilidade aos desinfetantes e detergentes utilizados na higienização dos ambientes hospitalares</b> .....	20
<i>3.5.1 Desinfetantes e detergentes</i> .....	20
<i>3.5.2 Teste de susceptibilidade in vitro</i> .....	21
<i>3.5.3 Teste de susceptibilidade por disco-difusão</i> .....	21
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	23
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	33
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	34
<b>7. ARTIGO</b> .....	42

## 1. INTRODUÇÃO

Ambientes hospitalares albergam uma diversidade de micro-organismos em áreas críticas, especialmente as que apresentam proximidade com indivíduos hospitalizados em enfermarias, berçários, centro cirúrgico, isolamento e unidades de terapia intensiva (UTI), e são capazes de sobreviver em superfícies por várias horas, dias, meses e até anos, o que aumenta de forma expressiva o risco de transmissão cruzada (OTTER; YEZLI; FRENCH, 2011; CARVALHO, 2013).

Diversas superfícies dos ambientes hospitalares podem ser classificadas como contaminadas, dentre elas a mesa de cabeceira, as barras, a cabeceira e grades de cama, o colchão, o telefone, as maçanetas e as torneiras das enfermarias, e outros locais não clássicos como computadores, jalecos, telefones pessoais dos profissionais, bem como roupas protetoras de chumbo, umidificadores de oxigênio utilizados nos centros cirúrgicos (FACCÍOLA; PELLICANÓ; VISALLI, 2019).

As bactérias e os fungos mais comumente isolados nos ambientes hospitalares e que tem a capacidade de sobreviver na superfície seca por vários meses e anos, tornando-se assim uma importante fonte de transmissão são *Clostridioides difficile*, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina (VRE), *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, Vírus, *Aspergillus* spp. e *Candida* spp. (CLEVELAND *et al.*, 2012; OTTER; YEZLI; FRENCH, 2011; COSTA, 2015; KHAN; BAIG; MEHBOOB, 2017).

Muitas das infecções adquiridas por via exógena nos ambientes hospitalares são decorrentes das atividades e práticas realizadas pelas mãos dos profissionais da área da saúde, infusos, equipamentos, biomateriais e fontes inanimadas ambientais contaminadas (EGRES, 2010), apresentando grande importância devido ao aumento progressivo e elevadas taxas de morbidade e mortalidade (WEBER *et al.*, 2010; OTTER; YEZLI; FRENCH, 2011; FU; WANG, 2016; KHAN; BAIG; MEHBOOB, 2017).

A contaminação do ambiente hospitalar pode ser explicada por vários fatores, incluindo a culturabilidade do micro-organismo, o grau de colonização/infecção do indivíduo hospitalizado, a facilidade de contaminação ou dificuldade de limpeza do ambiente e desinfecção de equipamentos tais como bombas de infusão, monitores, aparelhos de pressão, suportes de soro, comadres, bacias, cubas, cadeiras de banho, e se há um surto em curso no momento da amostragem, entre outros (HUSLAGE *et al.*, 2010).

Dentre os fungos adquiridos em ambiente hospitalar, as leveduras do gênero *Candida* spp. são consideradas patógenos oportunistas, causando desde infecções superficiais de pele e mucosa até infecções invasivas (KHAN; BAIG; MEHBOOB, 2017; JEFFERY-SMITH *et al.*, 2018).

*Candida albicans* é a espécie mais frequente no ambiente hospitalar, porém, outras espécies de *Candida* não-*Candida albicans* (CNCA) como *C. auris*, *C. glabrata*, membros do complexo *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. lipolytica*, *C. rugosa*, *C. kefyr* e membros do complexo *C. haemulonii* estão sendo comumente isoladas. Estas leveduras apresentam patogenicidade e perfil de sensibilidade frente aos antifúngicos, desinfetantes, detergentes e antissépticos variáveis (JEFFERY-SMITH *et al.*, 2018; SPIVAK; HANSONA, 2018; PEREIRA *et al.*, 2020; RAJA; PARK, 2021). Diversos estudos demonstram um número crescente de infecções invasivas por CNCA potencialmente multirresistente, estando *C. auris* associada a grandes surtos em instalações de saúde em todo o mundo (AHMAD; ALFOUZAN, 2021; BORGIO *et al.*, 2021; NIMER, 2022; SPETTEL *et al.*, 2022).

Nos últimos anos, estudos demonstram a importância da transmissão de micro-organismos por meio de ambientes hospitalares e destacam a necessidade da implantação de estratégias múltiplas de controle da disseminação de patógenos, principalmente em ambientes como UTIs, devido à gravidade e instabilidade do quadro clínico dos indivíduos hospitalizados, somados a fatores como desinfecção, estrutura física, quantidades de equipamentos e superfícies em determinadas unidades (OLIVEIRA; DAMASCENO, 2010; OTTER; YEZLI; FRENCH, 2011; DATTA *et al.*, 2011).

Diversos estudos demonstram que a desinfecção adequada de superfícies reduz a incidência de IRAS (WEBER *et al.*, 2010; OTTER; YEZLI; FRENCH, 2011). Entre desinfetantes disponíveis, os produtos mais utilizados em ambientes hospitalares são à base de cloro e polifenóis (DANCER, 2004; GODDARD; MCCUE, 2001). Entretanto, os produtos à base de álcool não podem ser utilizados para grandes superfícies, devido à sua baixa eficiência na destruição dos micro-organismos (SCHABRUN; CHIPCHASE, 2006).

Os processos de desinfecção ambiental são indispensáveis e devem ser rigorosamente seguidos, visando reduzir o índice dos patógenos (DIH, 2019). Novas tecnologias estão sendo desenvolvidas para alcançar a desinfecção de alto nível por meio de produtos químicos tais como peróxido de hidrogênio acelerado, glucoprotamina, álcool etílico 70% e monopersulfato de potássio 1%, e/ou por métodos de descontaminação *no-touch* (sem toque) utilizando aerolização de peróxido de hidrogênio, ozônio ou luz ultravioleta, visando reduzir etapas de

reprocessamento, diminuindo a exposição do pessoal a germicidas, proporcionando redução microbiana significativa e retardando a geração de biofilme pelos micro-organismos (DIH, 2019; GONÇALVES *et al.*, 2019; ROCHA *et al.*, 2022).

Neste contexto, este estudo teve como objetivo identificar as leveduras presentes em diferentes superfícies de diversos ambientes hospitalares no Norte de Mato Grosso e as possíveis fontes de contaminação, bem como suas susceptibilidades frente aos desinfetantes e detergentes utilizados na rotina de desinfecção e higienização hospitalar, contribuindo assim para o aprimoramento de medidas de controle mais seguras e eficazes.

## **1.1 Revisão de literatura**

### *1.1.1 Infecções hospitalares*

As infecções hospitalares são infecções adquiridas durante a internação do paciente ou mesmo após o recebimento da alta, desde que os sintomas surjam com intervalo de até 6 meses após o recebimento da alta hospitalar desde que a mesma esteja relacionada com a internação. Atualmente, o termo infecção hospitalar foi substituído por infecção relacionada à assistência à saúde (IRAS). Com essa mudança é possível relacionar a infecção hospitalar não somente com a infecção adquirida no ambiente hospitalar, mas também com as oriundas de procedimentos realizados em outros ambientes que prestam assistência em saúde, como clínicas médicas e ambulatórios responsáveis por diagnóstico ou assistência terapêutica (BAPTISTA *et al.*, 2020; AGUIAR, 2023).

As IRAS representam um grave problema de saúde mundial, visto que apresentam forte relação com as elevadas taxas de morbimortalidade, alterando o tempo de internação dos pacientes, gerando aumento nas despesas com procedimentos terapêuticos e diagnósticos, situação que pode agravar o quadro clínico, principalmente em pacientes internados em UTIs. Assim, pacientes hospitalizados em UTIs são mais suscetíveis às infecções por apresentarem um sistema imunológico em supressão, decorrente do próprio quadro clínico, tratamento com imunossuppressores, antimicrobianos, quimioterápicos ou mesmo uso de dispositivos invasivos como cateteres, sonda vesical, ventilação mecânica, entre outros (LIMA, 2021).

As IRAS podem ser explicadas pela contaminação por micro-organismos de artigos tocados e/ou manuseados pelo paciente e, principalmente, por profissionais de saúde, como estetoscópios, mesas de cabeceiras, cortinas, grades e manivelas de camas, maçanetas, suporte

para hidratação venosa, controles de ar e TV, lixeiras, colchões, entre outros. As superfícies hospitalares contribuem para a infecção cruzada secundária por meio das mãos dos profissionais de saúde que atuam naquele ambiente e de instrumentos ou produtos que poderão ser contaminados ao entrar em contato com essas superfícies (FACCÍOLA; PELLICANÓ; VISALLI, 2019; ARANTES *et al.*, 2021). Entretanto, a contaminação das mãos ainda é o principal fator envolvido na transmissão das IRAS no ambiente hospitalar (SILVA, 2020).

Outros fatores que podem interferir na contaminação cruzada no ambiente de serviço de saúde são a ausência e/ou ineficácia na utilização de técnicas de limpeza e desinfecção do ambiente pelos profissionais de saúde de superfícies úmidas ou molhadas, superfícies empoeiradas ou com matéria orgânica, e assim, favorecem a presença de micro-organismos e desempenham um papel importante na cadeia de transmissão de diversos patógenos nosocomiais aos pacientes (FACCÍOLA; PELLICANÓ; VISALLI, 2019; GONÇALVES *et al.*, 2019; ARANTES *et al.*, 2021; KOSLOWSKI *et al.*, 2021).

## 1.2 Infecções fúngicas

Atualmente, os procedimentos cirúrgicos de grande complexidade, perda de integridade das barreiras naturais, múltiplos procedimentos invasivos e terapia antibiótica prolongada contribuíram para o aumento das infecções fúngicas nas UTIs, centros cirúrgicos, unidades de pediatria, berçário neonatal, clínica médica e/ou cirúrgica (PEMÁN; ZARAGOZA; SALAVERT, 2013; DAHIYA *et al.*, 2020; OHNISHI *et al.*, 2022).

Dentre as infecções fúngicas sistêmicas oriundas por fungos oportunistas, a candidíase é a mais frequente ocorrendo principalmente em pacientes imunodeprimidos, sendo protagonizada principalmente por leveduras do gênero *Candida* spp. (PAPPAS *et al.*, 2018).

Em um estudo realizado em Assam na Índia por Saha *et al.* (2022), foram isoladas leveduras do gênero *Trichosporon* spp., *Cryptococcus neoformans* e *Candida* spp. em pacientes imunocomprometidos, incluindo portadores da Síndrome da Imunodeficiência adquirida (AIDS), provavelmente devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos de amplo espectro, em pacientes que realizaram transplantes de órgãos, ou em tratamento para câncer.

*Candida albicans* é responsável por 80% das infecções, contudo as infecções causadas por *Candida* do gênero não *albicans* (*Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida dubliniensis*) tem se tornado cada vez mais frequentes nas infecções hospitalares, ocasionando um aumento nos casos de morbidade e mortalidade dos pacientes (CIUREA *et al.*,

2020; KIM *et al.*, 2022; WIEDERHOLD, 2022). Dentre as não *albicans* destaca-se *Candida parapsilosis*, como a mais comumente encontrada nas candidemias e, a ocorrência que pode ser explicada devido ao fato de possuir maior capacidade de sobreviver nas superfícies ambientais, podendo facilmente colonizar as mãos ou os equipamentos utilizados pelos profissionais de saúde, contribuindo com a disseminação das infecções nosocomiais (KIM *et al.*, 2022; WIEDERHOLD, 2022).

Uma outra espécie de CNCA que recentemente tem ganhado maior atenção em escala global é a *Candida auris*, mesmo se tratando de uma espécie nova já traz grandes preocupações no âmbito da saúde mundial, devido apresentar elevados índices de resistência aos antifúngicos disponíveis atualmente tornando-se com isso um patógeno de grande preocupação devido sua capacidade de emergir para vários países do mundo (PAPPAS *et al.*, 2018; WIEDERHOLD, 2022).

A preocupação mundial é a potencial capacidade dos micro-organismos desenvolverem multirresistência aos desinfetantes, antissépticos e antifúngicos disponíveis no mercado, dificultando os esquemas terapêuticos disponíveis para esses micro-organismos, que ainda são muito limitados quando comparados aos esquemas antibacterianos (CHAOUI *et al.*, 2019; RODRIGUES, 2023).

### **1.3 Desinfecção dos ambientes e superfícies hospitalares**

A grande descoberta sobre o importante papel das mãos dos profissionais da saúde na cadeia de transmissão de patógenos dentro das unidades de assistência em saúde e com isso a importância de se realizar a higienização das mãos, surgiu no século IX, por Marimonides. Seguidamente por Ignaz Semmelweis, que comprovou a grande eficácia da higienização das mãos, através da prevenção da transmissão da febre puerperal (SOUZA *et al.*, 2023).

No geral os ambientes hospitalares tendem a ser viabilizadores de saúde e bem estar aos seus usuários, porém, podem também ser reservatórios ou fonte de contaminação para os seus pacientes. Com as superfícies limpas e desinfetadas são capazes de eliminar em até 99% dos patógenos, enquanto as que foram apenas limpas representam um índice de eliminação de micro-organismos de cerca de 80%. É importante salientar que os padrões de assepsia e de higiene do ambiente hospitalar podem contribuir para evitar uma possível contaminação dos pacientes através do ambiente hospitalar contaminado (ANDRADE; ANGERAMIA; PADOVANIB, 2020).

Para o processo de limpeza das unidades hospitalares tem sido indicado principalmente a utilização de compostos químicos, produtos que apresentem ação germicida, visando destruir e remover os micro-organismos presentes nas superfícies. No Brasil existem vários produtos que apresentam princípios ativos fenólicos ou compostos orgânicos e inorgânicos liberadores de cloro ativo, ou que apresentam em sua composição princípios quaternário de amônia ou álcoois indicados para higienização desses ambientes (ANDRADE; ANGERAMIA; PADOVANIB, 2020).

A UTI é um setor do hospital que atende pacientes que necessitam de cuidados 24 horas, devido à alta complexidade do quadro clínico dos mesmos, uma vez que este setor concentra a maior taxa de infecções hospitalares segundo estudos, deve ser considerado o setor prioritário nos processos de higienização e desinfecção, devido ao alto número de procedimentos invasivos realizados nos pacientes que encontram-se internados neste setor (GENÁRIO *et al.*, 2022).

O procedimento de limpeza pode ser ineficaz quando parâmetros importantes são ignorados, como tempo de exposição, temperatura, concentração do sanitizante e aplicação do produto sobre a superfície, quando ocorre uma baixa concentração do produto em contato com os patógenos pode levar a uma possível seleção de micro-organismos resistentes (BASSANI, 2017).

Um grande avanço na busca pela redução e controle das IRAS foi a implementação do setor de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH), através da Lei 9431 em 1997, que tornou obrigatório a implementação do setor assim como a do Programa de controle de IRAS que buscam reduzir ao máximo possível as taxas de incidência assim como a busca a diminuição da gravidade das Infecções Hospitalares (ALMEIDA *et al.*, 2022).

#### **1.4 Justificativa**

Acredita-se que os ambientes hospitalares são locais responsáveis por trazer saúde e bem estar, porém, podem apresentar-se como um local de risco, pois tornam os pacientes internados suscetíveis a adquirir infecções por micro-organismos como bactérias, vírus e fungos multirresistentes, prolongando o tempo de internação e aumentando as taxas de mortalidade. As IRAS são responsáveis por cerca de 45 mil óbitos anuais no Brasil, provocando um impacto na taxa de morbimortalidade registrada no país (AGUIAR, 2023; ROCHA, 2019).

A desinfecção dos ambientes hospitalares visa prevenir a disseminação das infecções, assim como diminuir o grau de resistência apresentados pelos micro-organismos que compõem a microbiota desses locais (CHAGAS, 2011).

## 2. OBJETIVO

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar a frequência de leveduras potencialmente patogênicas isoladas de superfícies de ambientes hospitalares no Norte de Mato Grosso e a sua susceptibilidade frente a desinfetantes e detergentes utilizados na rotina hospitalar.

### 2.2 Objetivos específicos

- Verificar a existência de leveduras patogênicas em diferentes superfícies em ambientes críticos hospitalares.
- Identificar as espécies de leveduras por método fenotípico CHROMagar *Candida*, e genotípico.
- Avaliar o perfil de susceptibilidade *in vitro* das espécies isoladas frente ao cloreto de alquil dimetil benzil amônio (cloreto de benzalcônio) e polihexametileno biguanida (PHMB) (Marca SURFIC<sup>®</sup>, MIRAX BG), ácido alquil benzeno sulfônico (Marca– MAX detergente – AudaxCo), hipoclorito de sódio (2%), peróxido de hidrogênio (4,5%), cocoamida propil betaína etoxilada, álcool graxo carboxipropixado, gluconato de sódio, hipoclorito de sódio (Marca NIPPO-LAT 3000 K) por meio do método de microdiluição em caldo e disco difusão.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Tipo de estudo e local da pesquisa**

O instrumento utilizado no projeto de pesquisa foi caracterizado como descritivo e experimental (GIL, 2008).

O estudo foi aprovado pela Pró-Reitoria de pesquisa nº 170/2022, e as coletas das amostras ambientais foram autorizadas pelos hospitais privados e públicos.

As amostras de superfícies de ambientes hospitalares (mesas de atendimento, cirurgia, camas, pisos, azulejos, pias, torneiras, bebedouros, travesseiros, fechaduras, mesas de preparo de medicamentos, equipamentos de administração de medicamentos, ventilador mecânico, oxímetro, esfigmomanômetro, termômetro, grades de contenção, macas, cadeiras de roda, entre outros) foram coletadas em áreas críticas como centro cirúrgico, UTI adulta e pediátrica, enfermarias, quartos de isolamento e banheiros, sendo definidas de acordo com as possíveis fontes de contaminação, nos hospitais públicos e privados no município de Sinop – MT, no período de abril de 2022 a maio de 2023. As coletas foram realizadas em dois momentos, antes da limpeza e após a limpeza, conforme a disponibilidade e necessidade da rotina hospitalar.

#### **3.2 Coleta das amostras**

As amostras das superfícies de ambientes hospitalares foram coletadas com auxílio de *swabs* estéreis, onde os mesmos foram friccionados contra as superfícies e acondicionados em tubos contendo 1 mL de salina estéril, devidamente identificados, posteriormente o material foi transportado em caixas de isopor ao Laboratório de Análises Microbiológicas e Parasitológicas da UFMT, Campus Sinop para serem processados.

#### **3.3 Processamento das amostras**

Os tubos contendo as amostras foram centrifugados por 5 minutos a 5000 rpm e, em seguida, 100 µL do *pellet* foi semeado em meio Ágar Sabouraud Dextrosado (SDA) a 2% acrescido de cloranfenicol a 0,05%, incubado a 25°C por um período de 5 a 7 dias. Após o crescimento fúngico, as colônias isoladas foram analisadas quanto às suas características macroscópicas: coloração (superfície e reverso), textura (cotonosa, velutínea, algodonsa,

cremosa) e tempo de crescimento. Essas características foram de suma importância, pois auxiliaram na identificação do provável agente etiológico. A análise microscópica da cultura foi realizada utilizando corante lactofenol azul algodão e observada ao microscópio óptico nas objetivas de (10X e 40X). As colônias com características leveduriformes foram reisoladas em tubos contendo SDA e submetidas às mesmas condições de incubação e temperatura para a obtenção de colônias únicas. Em seguida, foi realizada pesquisa de leveduras capsuladas do gênero *Cryptococcus* sp por meio do corante tinta nanquim e cultura em CHROMagar *Candida* (Kasvi) para realizar a identificação presuntiva de leveduras do gênero *Candida* por meio da coloração expressada pela colônia isolada. Seguindo as orientações do fabricante para o CHROMagar® *Candida* (Kasvi), as colônias que expressaram coloração de verde-claro a verde médio, sugere-se *C. albicans*; colônias azuis acinzentadas, cinzentas-azuladas a azuis esverdeadas ou azuis metalizadas com ou sem halos violetas no meio circundante, *C. tropicalis*; colônias planas de grande dimensão, cor-de-rosa claro a vermelho claro com um rebordo esbranquiçado, *C. krusei*; colônias malva-marrom *C. glabrata*, colônias branco a lilás *C. complexo de parapsilosis*, demais colônias para as cores inespecíficas, sugestivas para as demais espécies (BAYONA *et al.*, 2022).

### 3.4 Identificação Molecular

#### 3.4.1 Extração do DNA genômico

Para a extração do ácido desoxirribonucleico (DNA), os isolados foram semeados em placas de Petri (90 mm) com meio SDA, após crescimento a 37°C por 48 horas apenas a colônia única (pura) foi selecionada para realizar a obtenção de massa celular. A colônia selecionada foi semeada no mesmo meio de cultura com incubação *overnight* a 37°C. O DNA genômico das leveduras isoladas foi extraído utilizando o kit Gentra® Puregene® Yeast and Gram positive Bacteria (Qiagen®, Maryland, USA) em conformidade com as instruções do fabricante e foi realizada a quantificação por espectrofotometria (NanoVue Plus™ GE Healthcare). A integridade do DNA foi verificada através da eletroforese em gel de agarose a 1% em tampão 1X TBE (0,1 M Tris-HCl pH 8,4; 0,09 M de ácido bórico; 0,001 M EDTA) por aproximadamente 1 hora a 90 V. Logo após, o gel foi submerso numa solução de brometo de etídio (Invitrogen™, Carlsbad, CA USA) com concentração final de 0,5 µg/mL durante 30 minutos onde as bandas foram observadas sob luz ultravioleta (UV) através de um

transiluminador (HOEFER®, MacroVue UV-20), garantindo a qualidade da amostra para realização do sequenciamento dos isolados (MOREIRA, 2019).

### 3.4.2 Sequenciamento

A confirmação da espécie das leveduras foi realizada pelo sequenciamento parcial da região intergênica (ITS1-5.8S-ITS2) de DNA ribossomal (rDNA) por meio das seguintes sequências iniciadoras *Senso* ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') e *Anti-senso* ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3'). As condições de PCR utilizadas foram iguais as previamente descritas para amplificação da região intergênica (ITS1-5.8S-ITS2). O sequenciamento foi realizado nas direções 5' e 3' por meio do sequenciador ABI-3730 (Applied Biosystems) e kit comercial *Big Dye Terminator Sequencing* (Applied Biosystems) na plataforma de sequenciamento da Fiocruz, o alinhamento e as análises filogenéticas foram realizado através do software Mega X, logo após as sequências foram comparadas com as depositadas no banco de dados do NCBI/GenBank sob supervisão do Prof. Dr. Manoel Marques Evangelista Oliveira.

## 3.5 Susceptibilidade aos desinfetantes e detergentes utilizados na higienização dos ambientes hospitalares

### 3.5.1 Desinfetantes e detergentes

Composição química dos reagentes testados, cloreto de alquil dimetil benzil amônio (cloreto de benzalcônio) e polihexametileno biguanida (PHMB) (Marca SURFIC®), quaternário de amônio e biguanida polimérica (Marca MIRAX BG), ácido alquilbenzeno sulfônico (Marca-MAX detergente - AudaxCo), hipoclorito de sódio (2%) (Marca LEUCO -CLOREX), peróxido de hidrogênio (4,5%), cocoamida propil betaína etoxilada, álcool graxo carboxipropixado, gluconato de sódio, hipoclorito de sódio (Marca NIPPO-LAT 3000 K), diluídos em água destilada conforme instruções de cada fabricante. Nomenclatura e classificação dos composto testados, desinfetantes, MIRAX (MX), NIPPOBAC (NP), MAX CARINHO (DFM), PRODIGY (PD), SURFIC4% (SFC4%), SURFIC1% (SFC1%), Detergentes MAX (DTM), 3000K (3000k), DASH3 (DASH3), e CLORO LEUCO-CLOREX 133 (CLX). Os mesmos

foram utilizados para os testes nas concentrações utilizadas pelos hospitais participantes da pesquisa.

### 3.5.2 *Teste de susceptibilidade in vitro*

A atividade dos desinfetantes sobre o crescimento leveduriforme foi determinada por meio do método da microdiluição em placa adaptado (DONOFRIO *et al.*, 2014). Aos orifícios das microplacas com (96 orifícios com fundo chato) foram adicionados 200 µL de suspensão de leveduras isoladas que foram preparadas diretamente em cada composto dos reagentes utilizados pelos hospitais para rotina de desinfecção e higienização dos ambientes e superfícies, os compostos químicos analisados que compõem os reagentes utilizados para as limpezas foram o PHMB, ácido alquil benzeno sulfônico, hipoclorito de sódio (2%), peróxido de hidrogênio (4,5%), cocoamida propil betaína etoxilada + álcool graxo carboxipropixado+hipoclorito de sódio, clorexidina. Cada suspensão preparada continha, entre  $10^2$  a  $10^3$  de quantidade de leveduras isoladas/mL suspensão preparada diretamente em cada composto testado, sendo confirmada por meio de contagem em câmara de Neubauer.

Como controle positivo, para controle de crescimento de cada isolado, foi utilizado 200 µL de suspensão da levedura na ausência do desinfetante. Para controle negativo foi utilizado 200 µL de cada desinfetante/detergente para confirmar a esterilidade dos mesmos. Todos os testes foram realizados em triplicata em três experimentos independentes.

A inibição do crescimento foi determinada por meio da diferença de absorbância em 620 nm (espectrofotômetro multicanal) obtida antes e após incubação por 48 horas a 37 °C. Para confirmação da inibição do crescimento, foi realizada a cultura por meio da semeadura de 1µL de cada reação em ágar SDA.

### 3.5.3 *Teste de susceptibilidade por disco-difusão*

A determinação da inibição do crescimento das leveduras isoladas frente aos detergentes/desinfetantes utilizados para desinfecção dos ambientes hospitalares foi realizada por meio do método de disco-difusão por Bauer *et al.* (1966) adaptado por Rabanal *et al.* (2002) e Karaman *et al.* (2003). Inicialmente, foram preparados discos de filtro de papel com 6 mm de diâmetro estéreis, e foram emergidos em cada solução desinfetante utilizada na rotina hospitalar. Em seguida, foi realizada a semeadura em diferentes sentidos, de forma uniforme,

de  $10^6$  UFC (Unidade Formadora de Colônia)/ mL à DO de 0,1 na escala de McFarland de cada levedura isolada em ágar infusão cérebro coração. Após secagem, os discos foram adicionados sobre a semeadura e, as placas foram incubadas à 37 °C por 48 horas. Foram realizados testes com cepas padrões, sendo *Candida krusei* ATCC 6258 e *Candida albicans* ATCC 90028.

A leitura do teste foi realizada por meio da medição do halo de inibição, sendo considerados como resistentes quando houve crescimento leveduriforme, e para inibição quando houve formação de halo de inibição. Até o momento, não existem estudos padronizados para desinfetantes e detergentes, sendo este teste realizado para triagem da susceptibilidade das leveduras frente aos desinfetantes e detergentes.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas 278 coletas de superfícies de diferentes setores como isolamentos e leitos de UTIs, apartamentos/enfermarias e centros cirúrgicos de 3 hospitais, 1 da rede pública (hospital A) e 2 da rede privada (hospital B e hospital C), no período de abril de 2022 a maio de 2023. Desse total, 245 (88,12%) foram positivas para bactérias, fungos filamentosos e leveduras, sendo isolados 406 micro-organismos, e 33 (21,88%) foram negativas. Dos 406 micro-organismos isolados, 28 leveduras foram isoladas das superfícies das UTIs e 11 das enfermarias e centro cirúrgico, conforme demonstrado na Tabela 1 abaixo.

**Tabela 1** – Número de micro-organismos isolados de acordo com os setores hospitalares no Norte de Mato Grosso

Hospitais	Setor	Bactérias / Fungos filamentosos	Leveduras
A	Centro Cirúrgico	0	0
	UTI	129	12
	Enfermaria	37	2
B	Centro Cirúrgico	79	1 *
	UTI	135	16
	Enfermaria	16	4
C	Enfermaria	10	4
Total		406	39

\* Após desinfecção total.

Diversos estudos demonstram que a redução do risco decorrente da disseminação de micro-organismos patogênicos presentes em superfícies de ambientes hospitalares é um desafio considerável para o bom funcionamento do setor de serviços de assistência à saúde, e que o tipo e a quantidade destes depende diretamente das características do ambiente, da circulação de profissionais da saúde, pacientes e visitantes, das condições climáticas (a sobrevivência de muitos micro-organismos é fortemente influenciada pelo grau de umidade), da presença de superfícies e equipamentos constituídos por materiais que promovem o crescimento microbiano

e sobrevivência, da rapidez com que são removidos do ar e da implementação correta de todos os padrões de higiene esperados (PROTANO *et al.*, 2019; LEMIECH-MIROWSKA *et al.*, 2021). As bactérias Gram-positivas sobrevivem mais facilmente em ambientes e superfícies que são secos, ao contrário das Gram-negativas, fungos filamentosos e leveduras, que sobrevivem principalmente em ambientes sujos e úmido (SULEYMAN; ALANGADEN; BARDOSSY, 2018).

Das 39 leveduras isoladas nas superfícies dos ambientes hospitalares, as UTIs apresentaram maior incidência nos teclados dos computadores com 10,26%, seguido por bancadas com 7,70%, mesas auxiliares, equipamentos, controle do ar condicionado, tampa da lixeira, maçaneta interna e pegador do banheiro com 5,14% cada, armário de aço, piso do quarto, pia, colchão, cortina, escada auxiliar, interruptor, leito, parede e vaso sanitário com 2,56% cada. No setor do centro cirúrgico, após desinfecção total, foi isolado 1 (2,56%) levedura no armário de medicamentos. Na enfermaria foram isoladas 4 leveduras (10,26%) no piso dos banheiros, 2 (5,14%) na pia, 1 (2,56%) na parede do quarto, 1 (2,56%) na torneira e 1 (2,56%) no travesseiro, conforme demonstrado na Tabela 2.

As leveduras isoladas foram identificadas presuntivamente em meio cromógeno CHROMagar *Candida*, sendo 14 (35,90%) sugestivas para *C. albicans*, 14 (35,90%) para *C. krusei*, 8 (20,51%) para outras espécies de *Candida* spp., 2 (5,13%) para *C. tropicalis* e 1 (2,56%) para *Rhodotorulla* spp. (Figura 1).

**Tabela 2** – Relação de superfícies e setores em que foram isoladas leveduras em três hospitais do Norte de MT

SETOR	SUPERFÍCIES	Leveduras isoladas N (%)	Identificação presuntiva (ID)
UTI	Armário de aço	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (30)
	Bancada auxiliar L1	1 (2,56)	<i>C. albicans</i> (102)
	Bancada de medicamentos	2 (5,14)	<i>C. albicans</i> (179/180)
	Colchão isolamento	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (37)
	Teclado do computador enfermagem	3 (7,70)	<i>C. albicans</i> (11/13/14)
	Teclado do computador médico	1 (2,56)	<i>C. albicans</i> (22RA)
	Controle do ar condicionado	2 (5,14)	<i>C. tropicalis</i> (154) <i>Rhodotorulla</i> spp. (90)
	Cortina do quarto de isolamento	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (17)
	Equipamento de dieta	1 (2,56)	<i>C. albicans</i> (120)

	<b>Equipamento sinais vitais isolamento</b>	1 (2,56)	<i>C. albicans</i> (32)
	<b>Escada auxiliar</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (103)
	<b>Interruptor</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (135)
	<b>Leito</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (178)
	<b>Tampa lixeira</b>	2 (5,14)	<i>C. albicans</i> (67) Outras espécies de <i>Candida</i> (71)
	<b>Maçaneta interna</b>	2 (5,14)	Outras espécies de <i>Candida</i> (124) <i>C. albicans</i> (125)
	<b>Mesa auxiliar isolamento</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (22D)
	<b>Mesa auxiliar I2</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (82)
	<b>Parede quarto isolamento</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (36)
	<b>Pegador do banheiro isolamento</b>	2 (5,14)	<i>C. albicans</i> (21D2; 21D5)
	<b>Pia banheiro isolamento</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (39)
	<b>Vaso sanitário isolamento</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (26)
<b>Centro Cirúrgico</b>	<b>Armário de medicamentos</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (68)
	<b>Piso banheiro quarto</b>	4 (10,26)	Outras espécies de <i>Candida</i> (6HSA/8HSA) <i>C. albicans</i> (7HSA) <i>C. tropicalis</i> (9HSA)
	<b>Parede quarto</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (15)
	<b>Piso do quarto de isolamento</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (19)
	<b>Pia fora do apartamento</b>	2 (5,14)	Outras espécies de <i>Candida</i> (1DA/1DB)
	<b>Torneira fora do apartamento</b>	1 (2,56)	Outras espécies de <i>Candida</i> (3)
	<b>Travesseiro apartamento</b>	1 (2,56)	Outras espécies de <i>Candida</i> (6D)
	<b>TOTAL</b>	<b>39</b>	

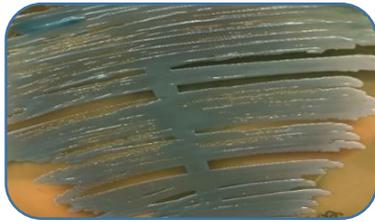
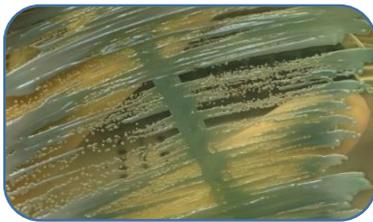
ID: Número de identificação interno.

**Figura - 1** Variantes de pigmentação das leveduras isoladas de superfícies de 3 hospitais do município do Norte de Mato Grosso em meio cromógeno.

Pigmentação das colônias	Identificação presuntiva em meio cromógeno	Leveduras isoladas
	Outras espécies de <i>Candida</i> spp.	1DA 1DB 3D 6D 71HDPL 124HDPL 6GSA 8GSA

*Rhodotorula* spp.

90HDPL

*C. tropicalis*154RL  
9GSA*C. albicans*11RA  
13RA  
14RA  
21D2  
21D5  
22RA  
32D2  
67RA  
102RA  
120RA  
179HRL  
180HRL  
125HDPL  
7GSA*C. krusei*15R  
17D  
19R  
22D1  
26D  
30RA  
36D  
37HDP  
39D  
68HDP  
178HRL  
82HDPL  
103 HDPL  
135HDPL

---

Fonte: Arquivo pessoal.

Para a confirmação das espécies, foram realizadas a identificação molecular de 16 isolados pela amplificação e posterior sequenciamento da região ITS1-5.8S-ITS2 do DNA ribossomal, sendo 1 (6,25%) como *C. haemulonii*, 6 (37,5%) como *C. parapsilosis*, 1 (6,25)

como *C. duobudhaemuloni*, 6 (37,5%) como *Trichosporon asteroides*, 1 (6,25%) como *C. lusitanea* e 1 (6,25%) como *C. guilliermondii*, conforme demonstrado na Tabela 3 abaixo.

Os resultados sugeridos para as espécies obtidos pelo meio cromógeno demonstraram divergência nos resultados para as amostras que já foram sequenciadas, reafirmando a necessidade da realização de métodos complementares para a definição das espécies (BAYONA *et al.*, 2022; ROCHA, 2019). O meio cromógeno CHROMagar *Candida* é um meio seletivo amplamente utilizado para a identificação presuntiva de algumas espécies de *Candida*, de forma simultânea e mais rápida, incluindo *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei*, possibilitando a orientação da terapêutica correta (GASCHET *et al.*, 2008; TAMURA; ALSHAHNI; MAKIMURA, 2022). Entretanto, diversos autores relatam pigmentações semelhantes a verde, rosa e azul para outras espécies como *C. kefyr*, *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii*, *C. auris*, entre outras, diminuindo assim a sensibilidade e especificidade do meio (WILLINGER *et al.*, 2001; GASCHET *et al.*, 2008; TAMURA; ALSHAHNI; MAKIMURA, 2022). Portanto, para evitar possíveis erros de identificação de algumas espécies são necessários testes moleculares para a confirmação (DU *et al.*, 2020).

**Tabela 3 – Características cromógenas em Chromagar *Candida* e sequenciamento**

<b>ID</b>	<b>Chromoagar <i>Candida</i></b>	<b>Sequenciamento</b>
1 DB	<i>Candida</i> spp.	<i>C. haemulonii</i>
6 D	<i>Candida</i> spp.	<i>C. parapsilosis</i>
17 D	<i>C. krusei</i>	<i>T. asteroides</i>
21 - 2D	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>
22 - 1D	<i>C. krusei</i>	<i>C. parapsilosis</i>
26 D	<i>C. krusei</i>	<i>C. duobushaemulonii</i>
36 D	<i>C. krusei</i>	<i>C. guilliermondii</i>
39 D	<i>C. krusei</i>	<i>C. lusitaniae</i>
68 D	<i>C. krusei</i>	<i>C. parapsilosis</i>
15 R	<i>C. krusei</i>	<i>C. parapsilosis</i>
19 R	<i>C. krusei</i>	<i>C. parapsilosis</i>
13 RA	<i>C. albicans</i>	<i>T. asteroides</i>
14 RA	<i>C. albicans</i>	<i>T. asteroides</i>
102 RA	<i>C. albicans</i>	<i>T. asteroides</i>
120 RA	<i>C. albicans</i>	<i>T. asteroides</i>

Nossos resultados assemelham-se com os obtidos por Martins-Diniz *et al.* (2005), isolaram em maçanetas e no ar do ambiente interno das UTIs em um hospital em Araraquara - SP, *C. lusitaniae* (5,0%), *C. parapsilosis* (3,0%), *Candida sp.* (10%) e *Trichosporon sp.* (30%). Estudos realizados por Kim *et al* (2022), indicam aumento significativo de casos de infecção por *C. parapsilosis* em candidemias relacionadas ao ambiente hospitalar, fato que pode ser explicado por essa espécie apresentar maior capacidade de sobreviver nas superfícies em relação a outras.

Quanto aos testes de susceptibilidade pelo método de disco-difusão, foram realizados com as 39 leveduras isoladas com os produtos utilizados na desinfecção e higienização dos ambientes hospitalares. Em relação a mensuração dos halos de inibição, foi considerado acima de 7 mm de inibição como sensível para todas as leveduras isoladas e as cepas padrão.

Das 39 leveduras testadas, todas apresentaram resistência aos produtos NIPPOBAC (NP) e LEUCO-CLOREX 133 (CLX) e Detergente MAX (DTM). Em contrapartida, todos os isolados apresentaram halos de inibição frente ao desinfetante MIRAX (MX), demonstrando alto grau de atividade sobre todas as espécies de leveduras isoladas nas superfícies dos ambientes hospitalares. As cepas padrões CP1: *Candida krusei* 6258 e CP2 *Candida albicans* 90028 apresentaram resultados similares aos das leveduras isoladas de superfícies dos ambientes hospitalares. Para os demais produtos testados, 3 leveduras apresentaram halo de inibição para MAX CARRINHO (DFM), 7 para PRODIGY (PD), 24 para o detergente 3000K (3000K), 27 para o detergente DSH3 (DHS3), 6 para SURFIC 4% (SFC4%), e 7 para SURFIC 1% (SFC1%), conforme demonstrado na Tabela 4 abaixo.

**Tabela 4** – Resultados do testes de susceptibilidade aos desinfetantes utilizados nos ambientes hospitalares pelo método de disco-difusão

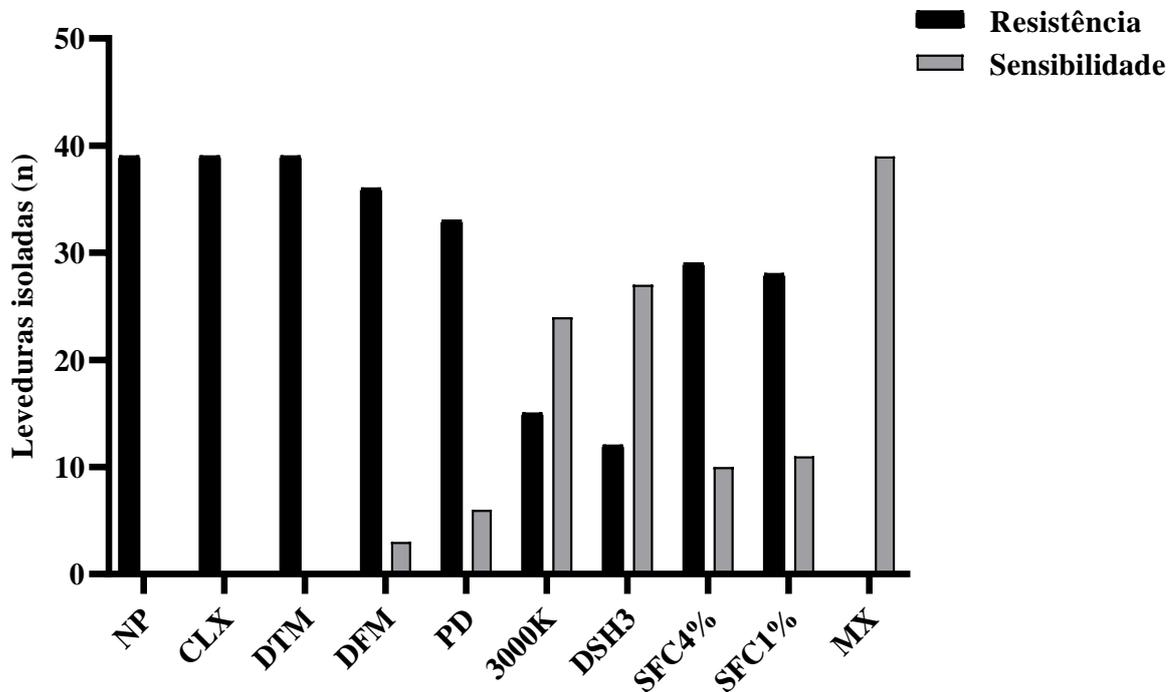
ISOLADOS	Disco-difusão (mm)										
	ID	NP	DFM	PD	3000K	DSH3	CLX	SFC 4%	SFC 1%	DTM	MX
1 DA	R	R	R	7	R	R	R	R	R	R	8
1 DB	R	R	R	7	R	R	R	R	R	R	9
3	R	R	R	R	9	R	R	7	R	R	8
6	R	R	R	8	7	R	R	R	R	R	10
11	R	R	R	7	R	R	R	R	R	R	9
13	R	R	11	7	8	R	R	R	R	R	8
14	R	7	8	7	8	R	R	8	R	R	8

15	R	R	R	7	9	R	R	R	R	11
17	R	R	R	R	R	R	7	R	R	7
19	R	R	R	7	8	R	R	R	R	10
21 D <sup>2</sup>	R	R	R	7	7	R	R	R	R	8
21 D <sup>5</sup>	R	R	R	8	8	R	R	R	R	9
22 D	R	R	R	7	7	R	7	7	R	10
22 RA	R	R	R	8	R	R	R	R	R	8
26	R	R	R	7	R	R	R	R	R	7
30	R	R	R	7	8	R	R	R	R	8
32 D <sup>5</sup>	R	R	R	R	9	R	R	7	R	14
36 D	R	R	R	R	9	R	7	7	R	13
37	R	R	R	R	R	R	R	R	R	9
39	R	R	R	7	8	R	7	R	R	9
67	R	7	9	7	7	R	R	R	R	8
68	R	R	8	7	R	R	R	R	R	9
71	R	R	R	7	R	R	R	R	R	8
82	R	R	R	R	R	R	R	R	R	8
90	R	R	R	R	7	R	R	R	R	10
102	R	7	10	R	10	R	R	8	R	10
103	R	R	R	R	R	R	R	R	R	7
120	R	R	R	R	7	R	R	R	R	9
124	R	R	R	7	7	R	7	R	R	9
125	R	R	R	8	7	R	R	R	R	8
135	R	R	R	7	R	R	R	R	R	11
154	R	R	R	7	7	R	R	R	R	8
178	R	R	R	R	9	R	11	R	R	13
179	R	R	10	9	10	R	R	8	R	7
180	R	R	9	9	10	R	R	8	R	8
6 GSA	R	R	R	R	12	R	R	R	R	17
7 GSA	R	R	R	R	10	R	R	R	R	13
8 GSA	R	R	R	R	10	R	R	R	R	16
9 GSA	R	R	R	R	7	R	R	R	R	12
CP1	R	R	R	7	6	R	11	10	R	12
CP2	R	11	11	9	6	R	7	8	R	10

**Legenda:** (NP) NIPPOBAC; (DFM) MAX CARRINHO; (PD) PRODIGY; (3000k) Detergente 3000K, (DSH3) Detergente DSH3; (CLX) LEUCO-CLOREX 133; (SFC 4%) SURFIC 4%; (SFC 1 %) SURFIC 1% (DTM) Detergente MAX; (MX) Desinfetante MIRAX. CP1: *Candida krusei* 6258 e CP2 *Candida albicans* 90028.

Portanto, os desinfetantes que apresentaram maior eficácia fungicida foram o MX (100%), seguido do DSH3 (69,23 %), 3000K (61,53%), SFC1% (17,94%), SFC4% (15,38%), PD (17,94%), e DFM (7,69%), respectivamente conforme ilustrado na (Figura 2).

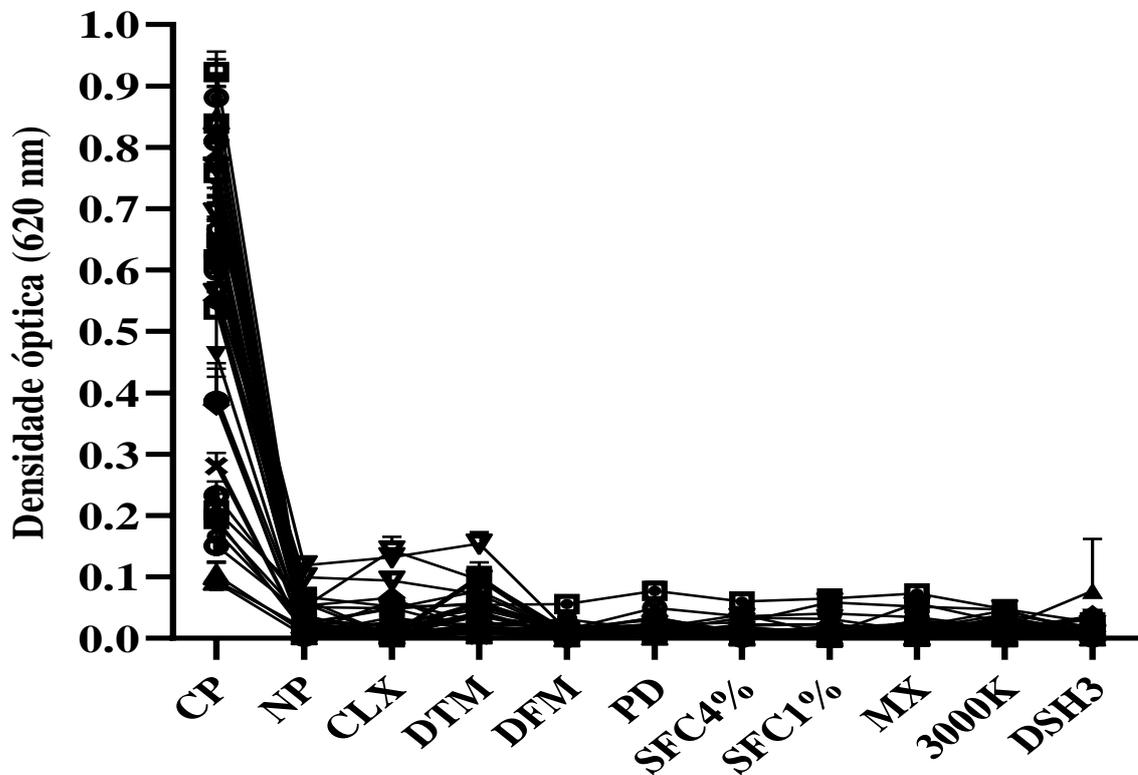
**Figura - 2** Perfil de suscetibilidade das leveduras isoladas em ambientes hospitalares frente aos desinfetantes utilizados nos hospitais pelo método de disco-difusão.



**Legenda:** (NP) NIPPOBAC; (DFM) MAX CARRINHO; (PD) PRODIGY; (3000K) Detergente 3000K, (DSH3) Detergente DSH3; (CLX) LEUCO-CLOREX 133; (SFC 4%) SURFIC 4%; (SFC 1 %) SURFIC 1% (DTM) Detergente MAX; (MX) Desinfetante MIRAX.

Os fenótipos de resistência apresentado por algumas leveduras frente aos desinfetantes obtidos no método de disco-difusão, não foram confirmados pelo teste de eficiência adaptado da microdiluição em caldo. Pois das 39 leveduras testadas, 100% apresentaram sensibilidade frente aos desinfetantes MAX CARRINHO (DFM), detergente 3000K (3000K), detergente DSH3 (DSH3), SURFIC 4% (SFC 4%), SURFIC 1% (SFC 1%) e desinfetante MIRAX (MX), resultados que não foram obtidos no teste de triagem para sensibilidade, já em relação aos compostos PRODIGY (PD), 35 (89,74%) leveduras apresentaram sensibilidade, NIPPOBAC (NP), 19 (48,71%) leveduras apresentaram sensibilidade e para o LEUCO-CLOREX 133 (CLX), 20 (51,28%) leveduras apresentaram sensibilidade, resultados divergentes aos obtidos pelo método disco-difusão. Para o detergente MAX (DTM), 35 (89,74%) leveduras foram resistentes, dados similares aos obtidos nos testes pelo método do disco-difusão. (Figura 3, Tabela 5).

**Figura 3** – Resultados dos testes de suscetibilidades das leveduras frente aos desinfetantes utilizados nos ambientes hospitalares no Norte de Mato Grosso.



**Legenda:** (NP) NIPPOBAC; (DFM) MAX CARRINHO; (PD) PRODIGY; (3000k) Detergente 3000K, (DSH3) Detergente DSH3; (CLX) LEUCO-CLOREX 133; (SFC 4%) SURFIC 4%; (SFC 1 %) SURFIC 1% (DTM) Detergente MAX; (MX) Desinfetante MIRAX. CP: controle positivo.

**Tabela 5** – Avaliação da inibição do crescimento das leveduras frente aos desinfetantes dos testes de microdiluição em caldo

ID	NP	DFM	PD	3000K	DSH3	CLX	SFC4%	SFC1%	DTM	MX
1 DA	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C
1 DB	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C
3	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C
6	C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C
11	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C
13	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C
14	C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C
15	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C
17	C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C
19	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C
21 D <sup>2</sup>	C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C
21 D <sup>5</sup>	C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C

22 D <sup>1</sup>	C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C
22 RA	C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C
26	S/C									
30	C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C
32 D <sup>5</sup>	C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C
36 D	C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C
37	S/C									
39	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C
67	C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C
68	C	S/C	C	S/C						
71	C	S/C	C	S/C						
82	C	S/C	C	S/C						
90	S/C	C	S/C							
102	C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C
103	C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C
120	C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C
124	S/C	C	S/C							
125	S/C	C	S/C							
135	S/C	C	S/C							
154	S/C	C	S/C							
178	S/C									
179	C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C
180	S/C	C	S/C							
6 GSA	C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C
7 GSA	S/C	C	S/C							
8 GSA	C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C
9 GSA	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C

**Reagentes:** (NP) NIPPOBAC; (DFM) MAX CARINHO; (PD) PRODIGY; (3000k) Detergente 3000K, (DSH3); Detergente DASH3; (CLX) LEUCO-CLOREX 133; (SFC 4%) SURFIC 4%; (SFC 1 %) SURFIC 1% (DTM) Detergente MAX; (MX) Desinfetante MIRAX. S/C (Ausência Crescimento); C (Crescimento).

Os produtos à base de cloro, hipoclorito e dicloroisocianurato de sódio em diferentes concentrações são utilizados para o controle microbiológico de corredores, áreas comuns, enfermarias, banheiros, salas de cirurgia, entre outros. Entretanto, os derivados de cloro podem danificar diferentes tipos de materiais (OTTER; YEZLI; FRENCH, 2011). O cloro por apresentar carga neutra, se difunde rapidamente juntamente com a água para o interior do micro-organismo, exercendo ação microbicida por oxidação de moléculas vitais do micro-organismo (GONZÁLEZ, 2011; MENEZES, 2019).

## 5. CONCLUSÃO

Nossos resultados demonstraram que foram isolados 406 micro-organismos em diferentes superfícies nos 3 hospitais, antes e após a desinfecção sendo destes, 39 (9,60%) leveduras, isoladas em setores críticos como UTI (71,80%), enfermarias (25,64%) e centro cirúrgico (2,56%), respectivamente, sendo as espécies de maior ocorrência *C. albicans* (35,90%) e *C. krusei* (35,90%) identificadas presuntivamente em meio de cultura cromógeno. Das espécies confirmadas por sequenciamento, a maior ocorrência foi de *C. parapsilosis* (37,50%) e *Trichosporon asteroides* (37,50%).

Das 39 leveduras testadas, por meio do método de disco-difusão todas, 100% apresentaram resistência aos produtos NIPPOBAC (NP) e LEUCO-CLOREX 133 (CLX) e Detergente MAX (DTM). Para os demais produtos testados, 36 (92,30%) das leveduras apresentaram resistência para MAX CARRINHO (DFM), 31 (79,48%) para PRODIGY (PD), 15 (38,46%) para o detergente 3000K (3000K), 12 (30,76%) para o detergente DSH3 (DHS3), 33 (84,61%) para SURFIC 4% (SFC4%), e 32 (82,05%) para SURFIC 1% (SFC1%), Em contrapartida, todos os isolados 100% apresentaram sensibilidade frente ao desinfetante MIRAX (MX).

Das 39 leveduras testadas, 100% apresentaram sensibilidade frente aos desinfetantes MAX CARRINHO (DFM), detergente 3000K (3000K), detergente DSH3 (DSH3), SURFIC 4% (SFC 4%), SURFIC 1% (SFC 1%) e desinfetante MIRAX (MX), para os compostos PRODIGY (PD), 35 (89,74%) leveduras apresentaram sensibilidade, NIPPOBAC (NP), 19 (48,71%) leveduras apresentaram sensibilidade e para o LEUCO-CLOREX 133 (CLX), 20 (51,28%). 35 (89,74%) das leveduras apresentaram resistência ao detergente MAX (DTM) por meio do método de microdiluição em caldo adaptado.

Portanto, nossos resultados demonstram a necessidade do aprimoramento nos protocolos de limpeza empregados nos setores das unidades hospitalares, visto que várias espécies de leveduras foram isoladas em diversas superfícies de diferentes setores, podendo proporcionar transmissão cruzada por meio dos profissionais de saúde e/ou fômites, favorecendo a disseminação das IRAS.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, J. M. A. **Pesquisa-ação para otimização da qualidade da higienização de leito crítico hospitalar**. 75 f. Dissertação (Mestrado Profissional de Gestão da Qualidade em Serviços de Saúde. Obtenção do título de mestre em Gestão da Qualidade), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2023.

AHMAD, S.; ALFOUZAN, W. *Candida auris*: Epidemiology, Diagnosis, Pathogenesis, Antifungal Susceptibility, and Infection Control Measures to Combat the Spread of Infections in Healthcare Facilities. **Rev. Microorganisms**, v. 9, n. 807, 2021.

ALMEIDA, D. N.; SOUZA, I. L.; PONTES, S. A. *et al.* **Limpeza terminal em unidade de terapia intensiva**. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso de Técnico em Enfermagem, Etec Carlos de Campos, 2022.

ANDRADE, D.; ANGERAMI, E. L. S.; PADOVANI, C. R. Condição microbiológica dos leitos hospitalares antes e depois da sua limpeza. **Rev. de Saúde Pública**, v. 34, n. 2, p. 163-169, 2000.

ARANTES, R. B.; CARREIRO, M. A.; SILVA, T. A. S. M. *et al.* Métodos aplicados em Unidades Hospitalares para diminuir a contaminação/densidade microbiana de cortinas de privacidade. **Rev. Pró-Univer SUS**, v. 12, n. 2, p. 21-26, 2021.

BAPTISTA, K. C. C.; NASCIMENTO, K. F.; SOUZA, S. J. P. *et al.* Infecções hospitalares por *Candida sp.* em pacientes internados em UTI. **Rev. Gest. Saúde**, v. 2, n. 22, p. 66-81, 2020.

BASSANI, J. **Eficácia de sanitizantes e susceptibilidade antimicrobiana de *salmonella heidelberg* isoladas de fontes avícolas em 2006 e 2016**. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias. Área de concentração: Sanidade Avícola), Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, 2017.

BAUER, A.W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C. *et al.* Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Am. Jour. Clin. Microbiol.**, v. 45, n. 4, p. 493-496, 1966.

BAYONA, J. V. M.; GARCÍA, C. S.; PALOP, N. T. *et al.* Novel chromogenic medium CHROMagar™ *Candida* plus for detection of *Candida auris* and other *Candida* species from surveillance and environmental samples: a multicenter study. **Jour. Fungi**, v. 8, n. 281, p. 1-10, 2022.

BORGIO, J. F.; RASDAN, A. S.; SONBOL, B. *et al.* Emerging status of multidrug-resistant bacteria and fungi in the arabian peninsula. **Biology.**, v. 10, n. 1144, 2021.

CARVALHO, R. R. **Biofilmes e suspensões celulares de *Candida* spp. isoladas de ambiente hospitalar: efeitos de antifúngicos sintéticos e bioativos vegetais.** 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Obtenção e Avaliação da Atividade Biológica de Insumos Farmacêuticos), Universidade Federal de Alfenas, 2013.

CHAGAS, T. P. G. **Detecção de bactérias multirresistentes aos antimicrobianos em esgoto hospitalar no Rio de Janeiro.** 147 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical), Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2011.

CHAOUI, L.; MHAND, R.; MELLOUKI, F. *et al.* Contamination of the surfaces of a health care environment by multidrug-resistant (MDR) bacteria. **Intern. Jour. Microb.**, v. 2019, p. 1-7, 2019.

CIUREA, C. N.; KOSOVSKI, I. B.; MARE, A. D. *et al.* *Candida* and candidiasis – oportunismo versus pathogenicity: a review of the virulence traits. **Micoorganisms.**, v. 8, n. 857, p. 1-17, 2020.

CLEVELAND, A. A.; FARLEY, M. M.; HARRISON, L. H. *et al.* Changes in Incidence and Antifungal Drug Resistance in Candidemia: Results From Population-Based Laboratory Surveillance in Atlanta and Baltimore, 2008–2011. **Clin. Infec. Disea.**, v. 55, p. 1352-1361, 2012.

COSTA, A. C. B. P. **Estudo de genes de *Candida albicans* com função desconhecida quanto à formação de biofilme, características biológicas e interação patógeno-hospedeiro.** 171 f.

Tese (Doutorado em Biopatologia Bucal) - Pós-graduação em Biopatologia Bucal - Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, UNESP - Univ Estadual Paulista, 2015.

DANCER, S. J. How do we assess hospital cleaning? A proposal for microbiological standards for surface hygiene in hospitals. **Jour. Hosp Infect.**, v. 56, n. 1, p. 5-10, 2004.

DAHIYA, S; CHHILLAR, A. K; SHARMA, N. *et al.* **Candida auris and nosocomial infecti Curr Drug Targets.**, v. 21, n. 4, p. 365-373, 2020.

DATTA, R.; PLATT, R; YOKOE, D. S. *et al.* Environmental cleaning intervention and risk of acquiring multidrug-resistant organisms from prior room occupants. **Arch. Intern. Med.**, v. 171, n. 6, p. 491-494, 2011.

DIH – Divisão de infecção hospitalar. Governo do Estado de São Paulo. **Melhores Práticas para Higiene e Limpeza em Ambiente Hospitalar.** São Paulo, Brasil. Disponível em: <[http://www.saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/infeccao-hospitalar/2019/ih19\\_manual\\_higiene.pdf](http://www.saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/infeccao-hospitalar/2019/ih19_manual_higiene.pdf)>. Acesso em: 27 Mar. 2022.

DONOFRIO, F. C.; RADDI, M. S. G.; CARLOS, I. Z. *et al.* Impact of sub-inhibitory concentrations of amoxicillin on *Helicobacter pylori* virulence factors. **World Jour. Pharm. Res.**, v. 3, p. 30-46, 2014.

DU, H.; BING, J.; HU, T. *et al.* **Candida auris: epidemiology, biology, antifungal resistance, and virulence. Rev.Plos Pathogens**, v. 16, n. 10, p. 555-623, 2020.

EGRES, C. C. **Isolamento ambiental de *Cryptococcus* spp em hospital de Porto Alegre-RS.** 81 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular), Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.

FACCÍOLA, A.; PELLICANÓ, G. F.; VISALLI, G. O papel do ambiente hospitalar nas infecções relacionadas à assistência à saúde: uma revisão geral da literatura. **Rev. Eur. de Ciê. Méd. e Farmac.**, v. 23, p. 1266-1278, 2019.

FU, C.; WANG, S. Nosocomial infection control in healthcare settings: Protection against emerging infectious diseases. **Infec. Dis. of Pov.**, v. 5, n. 30, 2016.

GASCHET A.; L'OLLIVIER, C.; LAPLANCHE, A. *et al.* Evaluation of CandiSelect4, a new chromogenic medium for isolation and presumptive identification of *Candida* species from clinical specimens. **J Mycol Med.**, v. 18, p. 89-95, 2008.

GENÁRIO, L. R.; MACHADO, M. DE. A.; SCHEID, S. S. *et al.* Resistência antimicrobiana na Infecção Urinária em Unidade de Terapia Intensiva. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**. Umuarama, v. 26, n. 3, p. 1325-1342, 2022.

GIL, A.C. **Métodos e técnicas de pesquisa social**. 6. ed. São Paulo: Editora Atlas, 2008, 200 p.

GODDARD, P. A.; MCCUE, K. A. Phenolic compounds. In: BLOCK, S. S. **Disinfection, Sterilization, and Preservation**. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. p. 255–281.

GONÇALVES, C. L.; FREITAS, C. H.; SANTO, P. R. *et al.* Avaliação antifúngica de uma solução à base de glucoprotamina e do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* em leveduras de ambiente hospitalar. **Rev. Inst. Adolfo Lutz.**, v. 78, n. 1780, 2019.

GONZÁLEZ, N. H. **Capacidade de inativação de desinfetantes sobre micro-organismos isolados de superfícies fixas em áreas críticas de um hospital veterinário de ensino**. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias. Área de concentração: Epidemiologia, Saneamento e Profilaxia), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2011.

HUSLAGE, K.; RUTALA, W. A.; SICKBERT-BENNETT, E. *et al.* A quantitative approach to defining “high-touch” surfaces in hospitals. **Infec. Cont. Hosp. Epid.**, v. 31, n. 8, p. 850-853, 2010.

JEFFERY-SMITH, A.; TAORI, S. K.; SCHELENZ, S. *et al.* *Candida auris*: a review of the literature. **Clin. Micro. Rev.**, v. 31, n. 1, 2018.

KARAMAN, İ.; SAHIN, F.; GÜLLÜCE, M. *et al.* Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. **Jour. Ethnopharmacol.**, v. 85, p. 231-235, 2003.

KHAN, H. A.; BAIG, F. K.; MEHBOOB, R. Nosocomial infections: epidemiology, prevention, control and surveillance. **Asian Pac. Jour. Trop. Biom.**, v. 7, n. 5, p. 478-482, 2017.

KIM, T. Y.; HUH, H. J.; LEE, G. Y. *et al.* Evolution of fluconazole resistance mechanisms and clonal types of *Candida parapsilosis* isolates from a tertiary care hospital in South Korea. **Antimic. Agents Chemot.**, v. 66, n. 11, p. 1-12, 2022.

KOSLOWSKI, N. B.; BRIXNER, B.; BIERHALS, N. D. *et al.* Uso de celulares no ambiente hospitalar e o risco de contaminação bacteriana. **Rev. Saúde e Pesq.**, v. 14, n. 3, p. 635-642, 2021.

LIMA, F. L. C. **Diversidade e análise de risco da presença de fungos filamentosos isolados e identificados em objetos de um hospital público localizado no norte do estado do Tocantins.** 63 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos), Universidade Federal do Tocantins, 2021.

LEMIECH-MIROWSKA, E.; KIERSNOWSKA, Z. M.; MICHALKIEWICZ, M. *et al.* Nosocomial infections as one of the most important problems of healthcare system, **rev. Publicun**, v. 28, n. 28, p. 361-366, 2021.

MARTINS-DINIZ, J. N.; SILVA, R. A. M.; MIRANDA, E. T. *et al.* Monitoramento de fungos anemófilos e de leveduras em unidade hospitalar. **Rev. Saúde Pública**, v. 3, n. 39, p. 398-405, 2005.

MENEZES, I. V. S. **Acompanhamento do controle de qualidade de produtos saneantes.** 45 f. Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Química, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2019.

MOREIRA, L. M. *Candida tropicalis*: **Epidemiologia Molecular de isolados clínicos em Hospital Universitário de Minas Gerais**. 118 f. Dissertação (Mestrado em pesquisa clínica em Doenças infecciosas. Área de concentração: Infectologia), FIOCRUZ - Fundação Oswaldo Cruz, 2019.

NIMER, N. A. Nosocomial infection and antibiotic-resistant threat in the middle east. **Infec. Drug Resi.**, v. 15, p. 631-639, 2022.

OHNISHI, O. Y.; PANTOJA, A. S. L.; ABRAÃO, L. S. O. *et al.* Doenças fúngicas sistêmicas em pacientes internados em um hospital público de referência em Belém, estado do Pará, Amazônia brasileira. **Rev. Pan. Amaz. Saude**, v. 13, p. 1-10, 2022.

OLIVEIRA, A. C.; DAMASCENO, Q. S. Superfícies do ambiente hospitalar como possíveis reservatórios de bactérias resistentes: uma revisão. **Rev. Esc. Enferm. USP.**, v. 44, n. 4, p. 1118-1123, 2010.

OTTER, J. A.; YEZLI, S.; FRENCH, G. L. The role played by contaminated surfaces in the transmission of nosocomial pathogens. **Infec. Cont. Hosp. Epid.**, v. 32, n. 7, p. 687-699, 2011.

PAPPAS, P. G.; LIONAKIS, M. S.; ARENDRUP, M. C. *et al.* Invasive candidiasis. **Nat. Rev. Dise. Prim.**, v. 4, n. 18026, p. 1-20, 2018.

PEMÁN, J; ZARAGOZA, R; SALAVERT, M. Control y prevención de las infecciones nosocomiales y asociadas a cuidados sanitarios causadas por especies de *Candida* y otras levaduras. **Rev Esp Quimioter.** v. 26, n 4. p. 298-311, 2013.

PEREIRA, R.; FONTENELLE, R. O. S.; BRITO, E. H. S. *et al.* Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance. **Jour. Of App. Microb.**, v. 131, p. 11-22, 2020.

PROTANO, C.; CAMMALLERI, V.; ROMANO-SPICA, V. *et al.* Hospital environment as a reservoir for cross transmission: cleaning and disinfection procedures. **Rev. Univer. Di Roma La Sapienza.** v. 31 p. 436-448, 2019.

RABANAL, R. M.; ARIAS, A.; PRADO, B. *et al.* Antimicrobial studies on three species of *Hypericum* from the Canary Islands. **Jour. Ethnopharmacol.** v. 81, p. 287-292, 2002.

RAJA, A.; PARK, J. Disseminated *Candida lusitanae*: nosocomial acquisition secondary to an indwelling urinary catheter. **Case Rep. Inf. Dise.**, v. 2021, 2021.

ROCHA, A. P. S. **Infecções fúngicas sistêmicas em unidade de terapia intensiva: diagnóstico e aplicação da hemopexina em modelos biológicos *in vitro***. 93 f. Tese (Doutorado em Biologia de Fungos. Área de concentração: Micologia Médica) Universidade Federal de Pernambuco, 2019.

ROCHA, C. O.; MENDES, M. S.; GOMES, J. R. A. A. *et al.* Comparação da efetividade do álcool e do quaternário de amônia com e uso de técnica de desinfecção de superfícies horizontais. **Heal. Resid. Jour.**, v. 3, n. 14, p. 20-54, 2022.

RODRIGUES, D. S. **Efeito *In Vitro* da sertralina isolada e associada a antifúngicos e sua ação sobre biofilme em cepas de *Candida spp.*** 110 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Médica. Área de concentração: Microbiologia Humana e Animal), Universidade Federal do Ceará, 2023.

SAHA, D.; SHARMA, A.; BORAH, N. *et al.* The spectrum of pathogenic yeast infection in a tertiary care hospital in Assam, India. **Cureu**, v. 14, n. 11, p. 1-5, 2022.

SCHABRUN, S.; CHIPCHASE, L. Healthcare equipment as a source of nosocomial infections: a systematic review. **Jour. Hosp Infect.**, v. 63. p. 239-245, 2006.

SILVA, B. C. A. C. M. Ações de Prevenção e Controle de Infecção na Corrente Sanguínea: um estudo de revisão. **Rev. Pró-Univer SUS.** v. 11, n. 1, p. 55-61, 2020.

SOUZA, B. R.; RIBEIRO, A. C. A.; PEREIRA, L. R. *et al.* Experiências do serviço do controle de infecções hospitalares voltados ao incentivo à higienização das mãos: um relato de experiência. **Ciências da saúde: estudos e pesquisas avançadas.**, v. 1, p. 547-560, 2023.

SPETTEL, K.; BUMBERGER, D.; CAMP, I. *et al.* Efficacy of octenidine against emerging echinocandin-, azole- and multidrug-resistant *Candida albicans* and *Candida glabrata*. **Jour. Glob. Anti. Resi.**, v. 29, p. 23-28, 2022.

SPIVAK, E. S.; HANSONA, K. E. *Candida auris*: an emerging fungal pathogen. **Jour. Clin. Micro.**, v. 56, n. 2, 2018.

SULEYMAN, G.; ALANGADEN, G.; BARDOSSY, A. C. The Role of Environmental Contamination in the Transmission of Nosocomial Pathogens and Healthcare-Associated Infections. **Rev. Springer Science**, v. 20, n. 12, p. 1-11, 2018.

TAMURA, T.; ALSHAHNI, M. M.; MAKIMURA, K. Evaluation of CHROMagar™ *Candida Plus* chromogenic agar for the presumptive identification of *Candida auris*. **Rev. Microb. And Immun.**, v. 66, n. 6, p. 292-298, 2022.

WEBER, D. J.; RUTALA, W. A.; MILLER, M. B. *et al.* Role of hospital surfaces in the transmission of emerging health care-associated pathogens: Norovirus, *Clostridium difficile*, and *Acinetobacter* species. **Amer. Jour. Infec. Cont.**, v. 38, n. 5, p. 25-33, 2010.

WIEDERHOLD, N. P. Emerging fungal infections: new species, new names, and antifungal resistance. **Clinic. Chem.**, v. 68, n. 1, p. 83-90, 2022.

WILLINGER, B.; HILLOWOTH, C.; SELITSCH, B. *et al.* Performance of *Candida* ID, a New Chromogenic Medium for Presumptive Identification of *Candida* Species, in Comparison to CHROMagar *Candida*. **Jour. Clin. Microb.**, v. 39, n. 10, p. 1-3, 2001.

## 7. ARTIGO

### **IDENTIFICAÇÃO E PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE DE LEVEDURAS ISOLADAS EM SUPERFÍCIES DE AMBIENTES HOSPITALARES NO NORTE DE MATO GROSSO FRENTE A DESINFETANTES E DETERGENTES**

Francielle Rodrigues Dourado Massaia\*<sup>1</sup>

\*Programa de Pós-graduação em Ciências em Saúde – PPGCS – Universidade Federal de Mato Grosso, Campus de Sinop – Av. Alexandre Ferronato, 1200, Sinop-MT, Brasil. Correspondências: franrdourado@gmail.com

#### **Abstract**

Hospital environments constitute an important source of infections, as they are capable of harboring a diversity of microorganisms capable of surviving on surfaces for hours, days and months, increasing the risk of cross-transmission. Among fungi, the genera *Aspergillus* spp. and *Candida* spp. are among those responsible for the majority of nosocomial infections. This study aimed to identify yeasts on surfaces in hospital environments in the North of MT and possible sources of contamination, which could contribute to the improvement of more effective control measures for hygiene in the hospital environment. Sample collection was carried out in critical sectors, ICU, surgical center, ICU isolation and ward in public and private hospitals in the North of MT using sterile swabs. The material was sown on Sabouraud agar dextrosed with 0.05% chloramphenicol, incubated at 37°C for 48 hours. The colonies were evaluated based on their macro and micromorphological characteristics. The yeasts were isolated and cultivated in CHROMagar *Candida*, identifying the species of *Candida* spp. suggestively through the pigmentation of the colony. Confirmation of the species was carried out through genetic sequencing. Yeast susceptibility tests to disinfectants and detergents were carried out using disk diffusion methodology and adaptation of microdilution in broth. Our results demonstrated the isolation of 406 microorganisms on different surfaces in the 3 hospitals evaluated, before and after disinfection, and, of these, 39 yeasts in critical sectors such as the ICU, various surfaces in the wards and the surgical center, respectively, being the most common species. occurrence of *C. albicans* and *C. krusei*, presumptively identified by chromogenic means. Of the species confirmed by sequencing, the highest occurrence was *C. parapsilosis* and *Trichosporon asteroides*. Of the 39 yeasts tested, 100% were sensitive to the disinfectants MAX CARRINHO (DFM), detergent 3000K (3000K), detergent DSH3 (DSH3), SURFIC 4% (SFC 4%), SURFIC 1% (SFC 1%) and MIRAX disinfectant (MX), using the adapted broth microdilution method.

**Keywords:** yeasts, surfaces, hospital, disinfectants.

## Resumo

Ambientes hospitalares constituem uma importante fonte de infecções, pois são capazes de albergar uma diversidade de micro-organismos capazes de sobreviver em superfícies por horas, dias e meses, aumentando o risco de transmissão cruzada. Dentre os fungos, os gêneros *Aspergillus* spp. e *Candida* spp. estão entre as responsáveis pela maioria das infecções nosocomiais. Este estudo visou identificar leveduras em superfícies de ambientes hospitalares no Norte de MT e as possíveis fontes de contaminação, podendo contribuir para o aprimoramento de medidas de controle mais eficazes de higienização no ambiente hospitalar. As coletas das amostras foram realizadas nos setores críticos, UTI, centro cirúrgico, isolamento de UTI e enfermaria em hospitais públicos e privados no Norte de MT por meio de *swab* estéril. O material foi semeado em ágar Sabouraud dextrosado com cloranfenicol 0,05%, incubado a 37°C por 48 horas. As colônias foram avaliadas em suas características macro e micromorfológicas. As leveduras foram isoladas e cultivadas em CHROMagar *Candida*, identificando as espécies de *Candida* spp. de forma sugestiva por meio da pigmentação da colônia. A confirmação das espécies foi realizada por meio do sequenciamento genético. Os testes de susceptibilidade das leveduras frente aos desinfetantes e detergentes foram realizados pela metodologia de disco-difusão e adaptação da microdiluição em caldo. Nossos resultados demonstraram o isolamento de 406 micro-organismos em diferentes superfícies nos 3 hospitais avaliados, antes e após a desinfecção e, destes, 39 leveduras em setores críticos como UTI, diversas superfícies das enfermarias e centro cirúrgico, respectivamente, sendo as espécies de maior ocorrência *C. albicans* e *C. krusei*, identificadas presuntivamente por meio cromógeno. Das espécies confirmadas por sequenciamento, a maior ocorrência foi de *C. parapsilosis* e *Trichosporon asteroides*. Das 39 leveduras testadas, 100% apresentaram sensibilidade frente aos desinfetantes MAX CARRINHO (DFM), detergente 3000K (3000K), detergente DSH3 (DSH3), SURFIC 4% (SFC 4%), SURFIC 1% (SFC 1%) e desinfetante MIRAX (MX), por meio do método de microdiluição em caldo adaptado.

**Palavras-chave:** leveduras, superfícies, hospital, desinfetantes.

## INTRODUÇÃO

Ambientes hospitalares albergam uma diversidade de micro-organismos em áreas críticas, especialmente as que apresentam proximidade com indivíduos hospitalizados em enfermarias, berçários, centro cirúrgico, isolamento e unidades de terapia intensiva (UTI), e são capazes de sobreviver em superfícies por várias horas, dias, meses e até anos, o que aumenta de forma expressiva o risco de transmissão cruzada (OTTER; YEZLI; FRENCH, 2011; CARVALHO, 2013).

Diversas superfícies dos ambientes hospitalares podem ser classificadas como contaminadas, dentre elas a mesa de cabeceira, as barras, a cabeceira e grades de cama, o colchão, o telefone, as maçanetas e as torneiras das enfermarias, e outros locais não clássicos como computadores, jalecos, telefones pessoais dos profissionais, bem como roupas protetoras de chumbo, umidificadores de oxigênio utilizados nos centros cirúrgicos (FACCÍOLA; PELLICANÓ; VISALLI, 2019).

As bactérias e os fungos mais comumente isolados nos ambientes hospitalares e que tem a capacidade de sobreviver na superfície seca por vários meses e anos, tornando-se assim uma importante fonte de transmissão são *Clostridium difficile*, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina (VRE), *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Norovírus*, *Aspergillus* spp. e *Candida* spp. (CLEVELAND *et al.*, 2012; OTTER; YEZLI; FRENCH, 2011; COSTA, 2015; KHAN; BAIG; MEHBOOB, 2017).

Muitas das infecções adquiridas por via exógena nos ambientes hospitalares são decorrentes das atividades e práticas realizadas pelas mãos dos profissionais da área da saúde, infusos, equipamentos, biomateriais e fontes inanimadas ambientais contaminadas (EGRES, 2010), apresentando grande importância devido ao aumento progressivo e elevadas taxas de morbidade e mortalidade (WEBER *et al.*, 2010; OTTER; YEZLI; FRENCH, 2011; FU; WANG, 2016; KHAN; BAIG; MEHBOOB, 2017).

A contaminação do ambiente hospitalar pode ser explicada por vários fatores, incluindo a culturabilidade do microrganismo, o grau de colonização/infecção do indivíduo hospitalizado, a facilidade de contaminação ou dificuldade de limpeza do ambiente e desinfecção de equipamentos tais como bombas de infusão, monitores, aparelhos de pressão, suportes de soro, comadres, bacias, cubas, cadeiras de banho, e se há um surto em curso no momento da amostragem, entre outros (HUSLAGE *et al.*, 2010). Dentre os fungos adquiridos em ambiente

hospitalar, as leveduras do gênero *Candida* spp. são consideradas patógenos oportunistas, causando desde infecções superficiais de pele e mucosa até infecções invasivas (KHAN; BAIG; MEHBOOB, 2017; JEFFERY-SMITH *et al.*, 2018).

*Candida albicans* é a espécie mais frequente no ambiente hospitalar, porém, outras espécies de *Candida* não-*Candida albicans* (CNCA) como *C. auris*, *C. glabrata*, membros do complexo *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. lusitanae*, *C. lipolytica*, *C. rugosa*, *C. kefyr* e membros do complexo *C. haemulonii* estão sendo comumente isoladas. Estas leveduras apresentam patogenicidade e perfil de sensibilidade frente aos antifúngicos, desinfetantes, detergentes e antissépticos variáveis (JEFFERY-SMITH *et al.*, 2018; SPIVAK; HANSONA, 2018; PEREIRA *et al.*, 2020; RAJA; PARK, 2021).

Diversos estudos demonstram um número crescente de infecções invasivas por CNCA potencialmente multirresistente, estando *C. auris* associada a grandes surtos em instalações de saúde em todo o mundo (AHMAD; ALFOUZAN, 2021; BORGIO *et al.*, 2021; NIMER, 2022; SPETTEL *et al.*, 2022). Nos últimos anos, estudos demonstram a importância da transmissão de micro-organismos por meio de ambientes hospitalares e destacam a necessidade da implantação de estratégias múltiplas de controle da disseminação de patógenos, principalmente em ambientes como UTIs, devido à gravidade e instabilidade do quadro clínico dos indivíduos hospitalizados, somados a fatores como desinfecção, estrutura física, quantidades de equipamentos e superfícies em determinadas unidades (OLIVEIRA; DAMASCENO, 2010; OTTER; YEZLI; FRENCH, 2011; DATTA *et al.*, 2011).

Os processos de desinfecção ambiental são indispensáveis e devem ser rigorosamente seguidos, visando reduzir o índice dos patógenos (DIH, (2019)). Novas tecnologias estão sendo desenvolvidas para alcançar a desinfecção de alto nível por meio de produtos químicos tais como peróxido de hidrogênio acelerado, glucoprotamina, álcool etílico 70% e monopersulfato de potássio 1%, e/ou por métodos de descontaminação *no-touch* (sem toque) utilizando aerolização de peróxido de hidrogênio, ozônio ou luz ultravioleta, visando reduzir etapas de reprocessamento, diminuindo a exposição do pessoal a germicidas, proporcionando redução microbiana significativa e retardando a geração de biofilme pelos micro-organismos (DIH, 2019; GONÇALVES *et al.*, 2019; ROCHA *et al.*, 2022).

## MATERIAL E MÉTODOS

### **Tipo de estudo e local da pesquisa**

O instrumento utilizado no projeto de pesquisa foi caracterizado como descritivo e experimental (GIL, 2008). O estudo foi aprovado pela Pró-Reitoria de pesquisa nº 170/2022, e as coletas das amostras ambientais foram autorizadas pelos hospitais privados e públicos. As amostras de superfícies de ambientes hospitalares (mesas de atendimento, cirurgia, camas, pisos, azulejos, pias, torneiras, bebedouros, travesseiros, fechaduras, mesas de preparo de medicamentos, equipamentos de administração de medicamentos, ventilador mecânico, oxímetro, esfigmomanômetro, termômetro, grades de contenção, macas, cadeiras de roda, entre outros) foram coletadas em áreas críticas como centro cirúrgico, UTI adulta e pediátrica, enfermarias, quartos de isolamento e banheiros, sendo definidas de acordo com as possíveis fontes de contaminação, nos hospitais públicos e privados no município de Sinop – MT, no período de abril de 2022 a maio de 2023. As coletas foram realizadas em dois momentos, antes da limpeza e após a limpeza, conforme a disponibilidade e necessidade da rotina hospitalar.

### **Coleta das amostras**

As amostras das superfícies de ambientes hospitalares foram coletadas com auxílio de *swabs* estéreis, onde os mesmos foram friccionados contra as superfícies e acondicionados em tubos contendo 1 mL de salina estéril, devidamente identificados, posteriormente o material foi transportado em caixas de isopor ao Laboratório de Análises Microbiológicas e Parasitológicas da UFMT, Campus Sinop para serem processados.

### **Processamento das amostras**

Os tubos contendo as amostras foram centrifugados por 5 minutos a 5000 rpm e, em seguida, 100 µL do *pellet* foi semeado em meio Ágar Sabouraud Dextrosado (SDA) a 2% acrescido de cloranfenicol a 0,05%, incubado a 25°C por um período de 5 a 7 dias. Após o crescimento fúngico, as colônias isoladas foram analisadas quanto às suas características macroscópicas: coloração (superfície e reverso), textura (cotonosa, velutínea, algodonosa, cremosa) e tempo de crescimento. Essas características foram de suma importância, pois auxiliaram na identificação do provável agente etiológico. A análise microscópica da cultura foi realizada utilizando corante lactofenol azul algodão e observada ao microscópio óptico nas objetivas de (10X e

40X). As colônias com características leveduriformes foram reisoladas em tubos contendo SDA a 4% e submetidas às mesmas condições de incubação e temperatura para a obtenção de colônias únicas. Em seguida, foi realizada pesquisa de leveduras capsuladas do gênero *Cryptococcus* sp por meio do corante tinta nanquim e cultura em CHROMagar *Candida* (Kasvi) para realizar a identificação presuntiva de leveduras do gênero *Candida* por meio da coloração expressada pela colônia isolada. Seguindo as orientações do fabricante para o CHROMagar® *Candida* (Kasvi), as colônias que expressaram coloração de verde-claro a verde médio, sugere-se *C. albicans*; colônias azuis acinzentadas, cinzentas-azuladas a azuis esverdeadas ou azuis metalizadas com ou sem halos violetas no meio circundante, *C. tropicalis*; colônias planas de grande dimensão, cor-de-rosa claro a vermelho claro com um rebordo esbranquiçado, *C. krusei*; colônias malva-marrom *C. glabrata*, colônias branco a lilás *C. complexo de parapsilosis*, demais colônias para as cores inespecíficas, sugestivas para as demais espécies (BAYONA *et al.*, 2022).

## **Identificação Molecular**

### **Extração do DNA genômico**

Para a extração do ácido desoxirribonucleico (DNA), os isolados foram semeados em placas de Petri (90 mm) com meio SDA, após crescimento a 37°C por 48 horas apenas a colônia única (pura) foi selecionada para realizar a obtenção de massa celular. A colônia selecionada foi semeada no mesmo meio de cultura com incubação overnight a 37°C. O DNA genômico das leveduras isoladas foi extraído utilizando o kit Gentra® Puregene® Yeast and Gram positive Bacteria (Qiagen®, Maryland, USA) em conformidade com as instruções do fabricante e foi realizada a quantificação por espectrofotometria (NanoVue Plus™ GE Healthcare). A integridade do DNA foi verificada através da eletroforese em gel de agarose a 1% em tampão 1X TBE (0,1 M Tris-HCl pH 8,4; 0,09 M de ácido bórico; 0,001 M EDTA) por aproximadamente 1 hora a 90 V. Logo após, o gel foi submerso numa solução de brometo de etídio (Invitrogen™, Carlsbad, CA USA) com concentração final de 0,5 µg/mL durante 30 minutos onde as bandas foram observadas sob luz ultravioleta (UV) através de um transiluminador (HOEFER®, MacroVue UV-20), garantindo a qualidade da amostra para realização do sequenciamento dos isolados (MOREIRA, 2019).

### **Sequenciamento**

A confirmação da espécie das leveduras foi realizada pelo sequenciamento parcial da região intergênica (ITS1-5.8S-ITS2) de DNA ribossomal (rDNA) por meio das seguintes sequências iniciadoras *Senso* ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') e *Anti-senso* ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3'). As condições de PCR utilizadas foram iguais as previamente descritas para amplificação da região intergênica (ITS1-5.8S-ITS2). O sequenciamento foi realizado nas direções 5' e 3' por meio do sequenciador ABI-3730 (Applied Biosystems) e kit comercial *Big Dye Terminator Sequencing* (Applied Biosystems) na plataforma de sequenciamento da Fiocruz, o alinhamento e as análises filogenéticas foram realizado através do software Mega X, logo após as sequências foram comparadas com as depositadas no banco de dados do NCBI/GenBank sob supervisão do Prof. Dr. Manoel Marques Evangelista Oliveira.

### **Susceptibilidade aos desinfetantes e detergentes utilizados na higienização dos ambientes hospitalares**

#### **Desinfetantes e detergentes**

Composição química dos reagentes testados, cloreto de alquil dimetil benzil amônio (cloreto de benzalcônio) e polihexametileno biguanida (PHMB) (Marca SURFIC®), quaternário de amônio e biguanida polimérica (Marca MIRAX BG), ácido alquilbenzeno sulfônico (Marca- MAX detergente - AudaxCo), hipoclorito de sódio (2%) (Marca LEUCO -CLOREX), peróxido de hidrogênio (4,5%), cocoamida propil betaína etoxilada, álcool graxo carboxipropixado, gluconato de sódio, hipoclorito de sódio (Marca NIPPO-LAT 3000 K), diluídos em água destilada conforme instruções de cada fabricante. Nomenclatura e classificação dos compostos testados, desinfetantes, MIRAX (MX), NIPPOBAC (NP), MAX CARINHO (DFM), PRODIGY (PD), SURFIC4% (SFC4%), SURFIC1% (SFC1%), Detergentes MAX (DTM), 3000K (3000k), DASH3 (DASH3), e CLORO LEUCO-CLOREX 133 (CLX).

#### **Teste de susceptibilidade *in vitro***

A atividade dos desinfetantes sobre o crescimento leveduriforme foi determinada por meio do método da microdiluição em placa adaptado (DONOFRIO *et al.*, 2014). Aos orifícios das microplacas com (96 orifícios com fundo chato) foram adicionados 200 µL de suspensão de leveduras preparadas diretamente em cada composto dos reagentes utilizados pelos hospitais

para rotina de desinfecção e higienização dos ambientes e superfícies, os compostos químicos analisados que compõem os reagentes utilizados para as limpezas foram o PHMB, ácido alquil benzeno sulfônico, hipoclorito de sódio (2%), peróxido de hidrogênio (4,5%), cocoamida propil betaína etoxilada + álcool graxo carboxipropixado+hipoclorito de sódio, clorexidina. Cada suspensão preparada continha, entre  $10^2$  a  $10^3$  de quantidade de leveduras/mL suspensão preparada diretamente em cada composto testado, sendo confirmada por meio de contagem em câmara de Neubauer. Como controle positivo, para controle de crescimento de cada isolado, foi utilizado 200  $\mu$ L de suspensão da levedura na ausência do desinfetante. Para controle negativo foi utilizado 200  $\mu$ L de cada desinfetante/detergente para confirmar a esterilidade dos mesmos. Todos os testes foram realizados em triplicata em três experimentos independentes.

A inibição do crescimento foi determinada por meio da diferença de absorbância em 620 nm (espectrofotômetro multicanal) obtida antes e após incubação por 48 horas a 37 °C. Para confirmação da inibição do crescimento, foi realizada a cultura por meio da semeadura de 1  $\mu$ L de cada reação em ágar SDA.

#### **Teste de susceptibilidade por disco-difusão**

A determinação da inibição do crescimento das leveduras isoladas frente aos detergentes/desinfetantes utilizados para desinfecção dos ambientes hospitalares foi realizada por meio do método de disco-difusão por Bauer *et al.* (1966) adaptado por Rabanal *et al.* (2002) e Karaman *et al.* (2003). Inicialmente, foram preparados discos de filtro de papel com 6 mm de diâmetro estéreis, e foram emergidos em cada solução desinfetante utilizada na rotina hospitalar. Em seguida, foi realizada a semeadura em diferentes sentidos, de forma uniforme, de  $10^6$  UFC (Unidade Formadora de Colônia)/ mL à DO de 0,1 na escala de McFarland de cada levedura isolada em ágar infusão cérebro coração. Após secagem, os discos foram adicionados sobre a semeadura e, as placas foram incubadas à 37 °C por 48 horas.

A leitura do teste foi realizada por meio da medição do halo de inibição, sendo considerados como resistentes quando houve crescimento leveduriforme, e para inibição quando houve formação de halo de inibição, Até o momento, não existem estudos padronizados para desinfetantes e detergentes, sendo este teste realizado para triagem da susceptibilidade das leveduras frente aos desinfetantes e detergentes.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas 278 coletas de superfícies de diferentes setores como isolamentos e leitos de UTIs, apartamentos/enfermarias e centros cirúrgicos de 3 hospitais, 1 da rede pública (hospital A) e 2 da rede privada (hospital B e hospital C), no período de abril de 2022 a maio de 2023. Desse total, 245 (88,12%) foram positivas para bactérias, fungos filamentosos e leveduras, sendo isolados 406 micro-organismos, e 33 (21,88%) foram negativas. Dos 406 micro-organismos isolados, 28 leveduras foram isoladas das superfícies das UTIs e 11 das enfermarias e centro cirúrgico, conforme demonstrado na Tabela 1 abaixo.

**Tabela 1** – Número de micro-organismos isolados de acordo com os setores hospitalares no Norte de Mato Grosso

Hospitais	Setor	Bactérias / Fungos filamentosos	Leveduras
	<b>Centro Cirúrgico</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>A</b>	<b>UTI</b>	<b>129</b>	<b>12</b>
	<b>Enfermaria</b>	<b>37</b>	<b>2</b>
	<b>Centro Cirúrgico</b>	<b>79</b>	<b>1</b>
<b>B</b>	<b>UTI</b>	<b>135</b>	<b>16</b>
	<b>Enfermaria</b>	<b>16</b>	<b>4</b>
<b>C</b>	<b>Enfermaria</b>	<b>10</b>	<b>4</b>
	<b>Total</b>	<b>406</b>	<b>39</b>

Diversos estudos demonstram que a redução do risco decorrente da disseminação de micro-organismos patogênicos presentes em superfícies de ambientes hospitalares é um desafio considerável para o bom funcionamento do setor de serviços de assistência à saúde, e que o tipo e a quantidade destes depende diretamente das características do ambiente, da circulação de profissionais da saúde, pacientes e visitantes, das condições climáticas (a sobrevivência de muitos micro-organismos é fortemente influenciada pelo grau de umidade), da presença de superfícies e equipamentos constituídos por materiais que promovem o crescimento microbiano

e sobrevivência, da rapidez com que são removidos do ar e da implementação correta de todos os padrões de higiene esperados (PROTANO *et al.*, 2019; LEMIECH-MIROWSKA *et al.*, 2021).

As bactérias Gram-positivas sobrevivem mais facilmente em ambientes e superfícies que são secos, ao contrário das Gram-negativas, fungos filamentosos e leveduras, que sobrevivem principalmente em ambientes sujos e úmido (SULEYMAN; ALANGADEN; BARDOSSY, 2018). Das 39 leveduras isoladas nas superfícies dos ambientes hospitalares, as UTIs apresentaram maior incidência nos teclados dos computadores com 10,26%, seguido por bancadas com 7,70%, mesas auxiliares, equipamentos, controle do ar condicionado, tampa da lixeira, maçaneta interna e pegador do banheiro com 5,14% cada, armário de aço, piso do quarto, pia, colchão, cortina, escada auxiliar, interruptor, leito, parede e vaso sanitário com 2,56% cada. No setor do centro cirúrgico, após desinfecção total, foi isolado 1 (2,56%) levedura no armário de medicamentos. Na enfermaria foram isoladas 4 leveduras (10,26%) no piso dos banheiros, 2 (5,14%) na pia, 1 (2,56%) na parede do quarto, 1 (2,56%) na torneira e 1 (2,56%) no travesseiro, conforme demonstrado na Tabela 2.

As leveduras isoladas foram identificadas presuntivamente em meio cromógeno Chromágar *Candida*, sendo 14 (35,90%) sugestivas para *C. albicans*, 14 (35,90%) para *C. krusei*, 8 (20,51%) para outras espécies de *Candida* spp., 2 (5,13%) para *C. tropicalis* e 1 (2,56%) para *Rhodotorulla* spp. (Figura 1).

**Tabela 2** – Relação de superfícies e setores em que foram isoladas leveduras em três hospitais do Norte de MT

SETOR	SUPERFÍCIES	Leveduras isoladas N (%)	Identificação presuntiva (ID)
UTI	Armário de aço	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (30)
	Bancada auxiliar L1	1 (2,56)	<i>C. albicans</i> (102)
	Bancada de medicamentos	2 (5,14)	<i>C. albicans</i> (179/180)
	Colchão isolamento	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (37)
	Teclado do computador enfermagem	3 (7,70)	<i>C. albicans</i> (11/13/14)
	Teclado do computador médico	1 (2,56)	<i>C. albicans</i> (22RA)
	Controle do ar condicionado	2 (5,14)	<i>C. tropicalis</i> (154) <i>Rhodotorulla</i> spp. (90)
	Cortina do quarto de isolamento	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (17)

	<b>Equipamento de dieta</b>	1 (2,56)	<i>C. albicans</i> (120)
	<b>Equipamento sinais vitais isolamento</b>	1 (2,56)	<i>C. albicans</i> (32)
	<b>Escada auxiliar</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (103)
	<b>Interruptor</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (135)
	<b>Leito</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (178)
	<b>Tampa lixeira</b>	2 (5,14)	<i>C. albicans</i> (67) Outras espécies de <i>Candida</i> (71)
	<b>Maçaneta interna</b>	2 (5,14)	Outras espécies de <i>Candida</i> (124) <i>C. albicans</i> (125)
	<b>Mesa auxiliar isolamento</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (22D)
	<b>Mesa auxiliar l2</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (82)
	<b>Parede quarto isolamento</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (36)
	<b>Pegador do banheiro isolamento</b>	2 (5,14)	<i>C. albicans</i> (21D2; 21D5)
	<b>Pia banheiro isolamento</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (39)
	<b>Vaso sanitário isolamento</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (26)
<b>Centro Cirúrgico</b>	<b>Armário de medicamentos</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (68)
<b>Enfermaria</b>	<b>Piso banheiro quarto</b>	4 (10,26)	Outras espécies de <i>Candida</i> (6HSA/8HSA) <i>C. albicans</i> (7HSA) <i>C. tropicalis</i> (9HSA)
	<b>Parede quarto</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (15)
	<b>Piso do quarto de isolamento</b>	1 (2,56)	<i>C. krusei</i> (19)
	<b>Pia fora do apartamento</b>	2 (5,14)	Outras espécies de <i>Candida</i> (1DA/1DB)
	<b>Torneira fora do apartamento</b>	1 (2,56)	Outras espécies de <i>Candida</i> (3)
	<b>Travesseiro apartamento</b>	1 (2,56)	Outras espécies de <i>Candida</i> (6D)
	<b>TOTAL</b>	<b>39</b>	

ID: Número de identificação interno.

Para a confirmação das espécies, foram realizadas a identificação molecular de 16 isolados pela amplificação e posterior sequenciamento da região ITS1-5.8S-ITS2 do DNA ribossomal, sendo 1 (6,25%) como *C. haemulonii*, 6 (37,5%) como *C. parapsilosis*, 1 (6,25) como *C. duobudhaemuloni*, 6 (37,5%) como *Trichosporon asteroides*, 1 (6,25%) como *C. lusitanea* e 1 (6,25%) como *C. guilliermondii*, conforme demonstrado na Tabela 3 abaixo.

Os resultados sugeridos para as espécies obtidos pelo meio cromógeno demonstraram divergência nos resultados para as amostras que já foram sequenciadas, reafirmando a

necessidade da realização de métodos complementares para a definição das espécies (BAYONA *et al.*, 2022; ROCHA, 2019).

O meio cromógeno CHROMagar *Candida* é um meio seletivo amplamente utilizado para a identificação presuntiva de algumas espécies de *Candida*, de forma simultânea e mais rápida, incluindo *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei*, possibilitando a orientação da terapêutica correta (GASCHET *et al.*, 2008; TAMURA; ALSHAHNI; MAKIMURA, 2022). Entretanto, diversos autores relatam pigmentações semelhantes a verde, rosa e azul para outras espécies como *C. kefyr*, *C. lusitanae*, *C. guilliermondii*, *C. auris*, entre outras, diminuindo assim a sensibilidade e especificidade do meio (WILLINGER *et al.*, 2001; GASCHET *et al.*, 2008; TAMURA; ALSHAHNI; MAKIMURA, 2022).

Portanto, para evitar possíveis erros de identificação de algumas espécies são necessários testes moleculares para a confirmação (DU *et al.*, 2020).

**Tabela 3 – Características cromógenas em Chromagar *Candida* e sequenciamento**

<b>ID</b>	<b><i>Chromoagar Candida</i></b>	<b>Sequenciamento</b>
1 DB	<i>Candida</i> spp.	<i>C. haemulonii</i>
6 D	<i>Candida</i> spp.	<i>C. parapsilosis</i>
17 D	<i>C. krusei</i>	<i>T. asteroides</i>
21 - 2D	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>
22 - 1D	<i>C. krusei</i>	<i>C. parapsilosis</i>
26 D	<i>C. krusei</i>	<i>C. duobushaemulonii</i>
36 D	<i>C. krusei</i>	<i>C. guilliermondii</i>
39 D	<i>C. krusei</i>	<i>C. lusitanea</i>
68 D	<i>C. krusei</i>	<i>C. parapsilosis</i>
15 R	<i>C. krusei</i>	<i>C. parapsilosis</i>
19 R	<i>C. krusei</i>	<i>C. parapsilosis</i>
13 RA	<i>C. albicans</i>	<i>T. asteroides</i>
14 RA	<i>C. albicans</i>	<i>T. asteroides</i>
102 RA	<i>C. albicans</i>	<i>T. asteroides</i>
120 RA	<i>C. albicans</i>	<i>T. asteroides</i>
22 RA	<i>C. albicans</i>	<i>T. asteroides</i>

Nossos resultados assemelham-se com os obtidos por Martins-Diniz *et al.* (2005), isolaram em maçanetas e no ar do ambiente interno das UTIs em um hospital em Araraquara - SP, *C. lusitaniae* (5,0%), *C. parapsilosis* (3,0%), *Candida sp.* (10%) e *Trichosporon sp.* (30%). Estudos realizados por Kim *et al* (2022), indicam aumento significativo de casos de infecção por *C. parapsilosis* em candidemias relacionadas ao ambiente hospitalar, fato que pode ser explicado por essa espécie apresentar maior capacidade de sobreviver nas superfícies em relação a outras.

Quanto aos testes de susceptibilidade pelo método de disco-difusão, foram realizados com as 39 leveduras isoladas com os produtos utilizados na desinfecção e higienização dos ambientes hospitalares. Em relação a mensuração dos halos de inibição, foi considerado acima de 7 mm de inibição como sensível para todas as leveduras isoladas e as cepas padrão. Das 39 leveduras testadas, todas apresentaram resistência aos produtos NIPPOBAC (NP) e LEUCO-CLOREX 133 (CLX) e Detergente MAX (DTM). Em contrapartida, todos os isolados apresentaram halos de inibição frente ao desinfetante MIRAX (MX), demonstrando alto grau de atividade sobre todas as espécies de leveduras isoladas nas superfícies dos ambientes hospitalares. As cepas padrões CP1: *Candida krusei* 6258 e CP2 *Candida albicans* 90028 apresentaram resultados similares aos das leveduras isoladas de superfícies dos ambientes hospitalares. Para os demais produtos testados, 3 leveduras apresentaram halo de inibição para MAX CARRINHO (DFM), 7 para PRODIGY (PD), 24 para o detergente 3000K (3000K), 27 para o detergente DSH3 (DHS3), 6 para SURFIC 4% (SFC4%), e 7 para SURFIC 1% (SFC1%), conforme demonstrado na Tabela 4 abaixo.

**Tabela 4** - Testes de susceptibilidade aos desinfetantes utilizados nos ambientes hospitalares pelo método de disco-difusão

ISOLADOS	Disco-difusão (mm)										
	ID	NP	DFM	PD	3000K	DSH3	CLX	SFC 4%	SFC 1%	DTM	MX
1 DA	R	R	R	7	R	R	R	R	R	R	8
1 DB	R	R	R	7	R	R	R	R	R	R	9
3	R	R	R	R	9	R	R	7	R	R	8
6	R	R	R	8	7	R	R	R	R	R	10
11	R	R	R	7	R	R	R	R	R	R	9
13	R	R	11	7	8	R	R	R	R	R	8
14	R	7	8	7	8	R	R	8	R	R	8
15	R	R	R	7	9	R	R	R	R	R	11
17	R	R	R	R	R	R	7	R	R	R	7

19	R	R	R	7	8	R	R	R	R	10
21 D <sup>2</sup>	R	R	R	7	7	R	R	R	R	8
21 D <sup>5</sup>	R	R	R	8	8	R	R	R	R	9
22 D	R	R	R	7	7	R	7	7	R	10
22 RA	R	R	R	8	R	R	R	R	R	8
26	R	R	R	7	R	R	R	R	R	7
30	R	R	R	7	8	R	R	R	R	8
32 D <sup>5</sup>	R	R	R	R	9	R	R	7	R	14
36 D	R	R	R	R	9	R	7	7	R	13
37	R	R	R	R	R	R	R	R	R	9
39	R	R	R	7	8	R	7	R	R	9
67	R	7	9	7	7	R	R	R	R	8
68	R	R	8	7	R	R	R	R	R	9
71	R	R	R	7	R	R	R	R	R	8
82	R	R	R	R	R	R	R	R	R	8
90	R	R	R	R	7	R	R	R	R	10
102	R	7	10	R	10	R	R	8	R	10
103	R	R	R	R	R	R	R	R	R	7
120	R	R	R	R	7	R	R	R	R	9
124	R	R	R	7	7	R	7	R	R	9
125	R	R	R	8	7	R	R	R	R	8
135	R	R	R	7	R	R	R	R	R	11
154	R	R	R	7	7	R	R	R	R	8
178	R	R	R	R	9	R	11	R	R	13
179	R	R	10	9	10	R	R	8	R	7
180	R	R	9	9	10	R	R	8	R	8
6 GSA	R	R	R	R	12	R	R	R	R	17
7 GSA	R	R	R	R	10	R	R	R	R	13
8 GSA	R	R	R	R	10	R	R	R	R	16
9 GSA	R	R	R	R	7	R	R	R	R	12
CP1	R	R	R	7	6	R	11	10	R	12
CP2	R	11	11	9	6	R	7	8	R	10

**Legenda:** (NP) NIPPOBAC; (DFM) MAX CARRINHO; (PD) PRODIGY; (3000k) Detergente 3000K, (DSH3) Detergente DSH3; (CLX) LEUCO-CLOREX 133; (SFC 4%) SURFIC 4%; (SFC 1 %) SURFIC 1% (DTM) Detergente MAX; (MX) Desinfetante MIRAX. CP1: *Candida krusei* 6258 e CP2 *Candida albicans* 90028.

Portanto, os desinfetantes que apresentaram maior eficácia fungicida foram o MX (100%), seguido do DSH3 (69,23 %), 3000K (61,53%), SFC1% (17,94%), SFC4% (15,38%), PD (17,94%), e DFM (7,69%), respectivamente.

Os fenótipos de resistência apresentado por algumas leveduras frente aos desinfetantes obtidos no método de disco-difusão, não foram confirmados pelo teste de eficiência adaptado da microdiluição em caldo. Pois das 39 leveduras testadas, 100% apresentaram sensibilidade frente aos desinfetantes MAX CARRINHO (DFM), detergente 3000K (3000K), detergente DSH3



<b>179</b>	C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C
<b>180</b>	S/C	C	S/C							
<b>6 GSA</b>	C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C
<b>7 GSA</b>	S/C	C	S/C							
<b>8 GSA</b>	C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C
<b>9 GSA</b>	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	C	S/C	S/C	C	S/C

**Reagentes:** (NP) NIPPOBAC; (DFM) MAX CARINHO; (PD) PRODIGY; (3000k) Detergente 3000K, (DSH3); Detergente DASH3; (CLX) LEUCO-CLOREX 133; (SFC 4%) SURFIC 4%; (SFC 1 %) SURFIC 1% (DTM) Detergente MAX; (MX) Desinfetante MIRAX. S/C (Ausência Crescimento); C (Crescimento).

Diversos estudos demonstram que a desinfecção adequada de superfícies reduz a incidência de IRAS (WEBER *et al.*, 2010; (OTTER; YEZLI; FRENCH, 2011). Entre desinfetantes disponíveis, os produtos mais utilizados em ambientes hospitalares são à base de cloro e polifenóis (DANCER, 2004; GODDARD; MCCUE, 2001). Entretanto, os produtos à base de álcool não podem ser utilizados para grandes superfícies, devido à sua baixa eficiência na destruição dos micro-organismos (SCHABRUN; CHIPCHASE, 2006). Os produtos à base de cloro, hipoclorito e dicloroisocianurato de sódio em diferentes concentrações são utilizados para o controle microbiológico de corredores, áreas comuns, enfermarias, banheiros, salas de cirurgia, entre outros. Entretanto, os derivados de cloro podem danificar diferentes tipos de materiais (OTTER; YEZLI; FRENCH, 2011). O cloro por apresentar carga neutra, se difunde rapidamente juntamente com a água para o interior do micro-organismo, exercendo ação microbicida por oxidação de moléculas vitais do micro-organismo (GONZÁLEZ, 2011; MENEZES, 2019).

## CONCLUSÃO

Nossos resultados demonstraram que foram isolados 406 micro-organismos em diferentes superfícies nos 3 hospitais, antes e após a desinfecção sendo destes, 39 (9,60%) leveduras, isoladas em setores críticos como UTI (71,80%), enfermarias (25,64%) e centro cirúrgico (2,56%), respectivamente, sendo as espécies de maior ocorrência *C. albicans* (35,90%) e *C. krusei* (35,90%) identificadas presuntivamente em meio de cultura cromógeno. Das espécies confirmadas por sequenciamento, a maior ocorrência foi de *C. parapsilosis* (37,50%) e *Trichosporon asteroides* (37,50%).

Das 39 leveduras testadas, por meio do método de disco-difusão todas, 100% apresentaram resistência aos produtos NIPPOBAC (NP) e LEUCO-CLOREX 133 (CLX) e Detergente MAX (DTM). Para os demais produtos testados, 36 (92,30%) das leveduras apresentaram resistência

para MAX CARRINHO (DFM), 31 (79,48%) para PRODIGY (PD), 15 (38,46%) para o detergente 3000K (3000K), 12 (30,76%) para o detergente DSH3 (DSH3), 33 (84,61%) para SURFIC 4% (SFC4%), e 32 (82,05%) para SURFIC 1% (SFC1%), Em contrapartida, todos os isolados 100% apresentaram sensibilidade frente ao desinfetante MIRAX (MX).

Das 39 leveduras testadas, 100% apresentaram sensibilidade frente aos desinfetantes MAX CARRINHO (DFM), detergente 3000K (3000K), detergente DSH3 (DSH3), SURFIC 4% (SFC 4%), SURFIC 1% (SFC 1%) e desinfetante MIRAX (MX), para os compostos PRODIGY (PD), 35 (89,74%) leveduras apresentaram sensibilidade, NIPPOBAC (NP), 19 (48,71%) leveduras apresentaram sensibilidade e para o LEUCO-CLOREX 133 (CLX), 20 (51,28%). 35 (89,74%) das leveduras apresentaram resistência ao detergente MAX (DTM) por meio do método de microdiluição em caldo adaptado.

Portanto, nossos resultados demonstram a necessidade do aprimoramento nos protocolos de limpeza empregados nos setores das unidades hospitalares, visto que várias espécies de leveduras foram isoladas em diversas superfícies de diferentes setores, podendo proporcionar transmissão cruzada por meio dos profissionais de saúde e/ou fômites, favorecendo a disseminação das IRAS.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, gostaria de agradecer à Deus pela vida por abençoar e iluminar cada um dos meus sonhos e objetivos. Obrigada meu Deus, por ser tão generoso comigo, por me cercar de pessoas maravilhosas e oportunidades incríveis, que me trouxeram até aqui.

Agradeço aos meus pais, Rosani e Milton, que sempre me apoiaram e incentivaram a seguir meus sonhos dando tudo de si para que eu pudesse chegar até aqui. Obrigada por tanto amor, e por sempre acreditarem junto comigo nos meus sonhos.

Ao meu irmão, Leonardo, por todo o companheirismo ao longo da vida. Obrigada por ser tão presente e por todo o incentivo.

Ao meu marido, Julio, por toda cumplicidade, paciência, empenho e ao seu companheirismo. Obrigada por ser tão compreensivo nos momentos de estresse, principalmente nos momentos de dificuldades, por não me deixar desistir e por estar sempre presente, obrigada pelo apoio e incentivo que sempre me deu.

Agradeço aos meus avós, Maria, Lourdes, José e Manoel (In memoriam), que me ensinaram os conceitos de caráter e humildade, vocês foram e são muito importantes na minha vida.

À minha orientadora, professora Dra. Fabiana Cristina Donofrio, sempre tão apaixonada pela pesquisa, seus ensinamentos foram muito além do nosso projeto, obrigada pelo empenho e carinho. Muito obrigada por todas as oportunidades e por acreditar na minha capacidade. Obrigada pelos ensinamentos e por compartilhar seu conhecimento em prol desta pesquisa.

À minha Coorientadora, professora Dra. Cibele Bonacorsi, por contribuir com seus conhecimentos, enriquecendo a nossa pesquisa.

À toda a equipe do Laboratório de Análises Microbiológicas e Parasitológicas (LAMP) UFMT que estiveram sempre comigo desde o início da minha pesquisa e que tanto me apoiaram, Principalmente Neocimar, Laryssa, Izamara, Geovana e Yasmin, Lembrarei de vocês sempre com muito carinho e admiração.

Gostaria de agradecer especialmente minha Coordenadora e amiga Neocimar, por me incentivar e nunca me deixar desistir da realização de mais esse objetivo, por sempre escutar meus desabafos, pelos conselhos que me deu por todo carinho e amizade, meu muito obrigada.

Agradeço aos hospitais participantes por aceitarem contribuir e participar da nossa pesquisa.

Quero agradecer a toda minha família, e a todos que direta ou indiretamente contribuíram para meu crescimento pessoal e acadêmico, minha imensa e eterna gratidão a todos vocês.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

AHMAD, S.; ALFOUZAN, W. *Candida auris*: Epidemiology, Diagnosis, Pathogenesis, Antifungal Susceptibility, and Infection Control Measures to Combat the Spread of Infections in Healthcare Facilities. *Rev. Microorganisms*, v. 9, n. 807, 2021.

BAUER, A.W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C. *et al.* Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. Jour. Clin. Microbiol.*, v. 45, n. 4, p. 493-496, 1966.

BAYONA, J. V. M.; GARCÍA, C. S.; PALOP, N. T. *et al.* Novel chromogenic medium CHROMagar™ *Candida* plus for detection of *Candida auris* and other *Candida* species from surveillance and environmental samples: a multicenter study. *Jour. Fungi*, v. 8, n. 281, p. 1-10, 2022.

BORGIO, J. F.; RASDAN, A. S.; SONBOL, B. *et al.* Emerging status of multidrug-resistant bacteria and fungi in the arabian peninsula. *Biology.*, v. 10, n. 1144, 2021.

CARVALHO, R. R. Biofilmes e suspensões celulares de *Candida* spp. isoladas de ambiente hospitalar: efeitos de antifúngicos sintéticos e bioativos vegetais. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Obtenção e Avaliação da Atividade Biológica de Insumos Farmacêuticos), Universidade Federal de Alfenas, 2013.

CLEVELAND, A. A.; FARLEY, M. M.; HARRISON, L. H. *et al.* Changes in Incidence and Antifungal Drug Resistance in Candidemia: Results From Population-Based Laboratory Surveillance in Atlanta and Baltimore, 2008–2011. *Clin. Infect. Disea.*, v. 55, p. 1352-1361, 2012.

COSTA, A. C. B. P. Estudo de genes de *Candida albicans* com função desconhecida quanto à formação de biofilme, características biológicas e interação patógeno-hospedeiro. 171 f. Tese (Doutorado em Biopatologia Bucal) - Pós-graduação em Biopatologia Bucal - Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, UNESP - Univ Estadual Paulista, 2015.

DANCER, S. J. How do we assess hospital cleaning? A proposal for microbiological standards for surface hygiene in hospitals. *Jour. Hosp Infect.*, v. 56, n. 1, p. 5-10, 2004.

DIH – Divisão de infecção hospitalar. Governo do Estado de São Paulo. Melhores Práticas para Higiene e Limpeza em Ambiente Hospitalar. São Paulo, Brasil. Disponível em: <[http://www.saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/infeccao-hospitalar/2019/ih19\\_manual\\_higiene.pdf](http://www.saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/infeccao-hospitalar/2019/ih19_manual_higiene.pdf)>. Acesso em: 27 Mar. 2022.

DONOFRIO, F. C.; RADDI, M. S. G.; CARLOS, I. Z. *et al.* Impact of sub-inhibitory concentrations of amoxicillin on *Helicobacter pylori* virulence factors. *World Jour. Pharm. Res.*, v. 3, p. 30-46, 2014.

DU, H.; BING, J.; HU, T. *et al.* *Candida auris*: epidemiology, biology, antifungal resistance, and virulence. *Rev.Plos Pathogens*, v. 16, n. 10, p. 555-623, 2020.

EGRES, C. C. Isolamento ambiental de *Cryptococcus* spp em hospital de Porto Alegre-RS. 81 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular), Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.

FACCÍOLA, A.; PELLICANÓ, G. F.; VISALLI, G. O papel do ambiente hospitalar nas infecções relacionadas à assistência à saúde: uma revisão geral da literatura. Rev. Eur. de Ciê. Méd. e Farmac., v. 23, p. 1266-1278, 2019.

FU, C.; WANG, S. Nosocomial infection control in healthcare settings: Protection against emerging infectious diseases. Infec. Dises. of Pov., v. 5, n. 30, 2016.

GASCHET A.; L'OLLIVIER, C.; LAPLANCHE, A. *et al.* Evaluation of CandiSelect4, a new chromogenic medium for isolation and presumptive identification of *Candida* species from clinical specimens. J Mycol Med., v. 18, p. 89-95, 2008.

GIL, A.C. Métodos e técnicas de pesquisa social. 6. ed. São Paulo: Editora Atlas, 2008, 200 p.

GODDARD, P. A.; MCCUE, K. A. Phenolic compounds. In: BLOCK, S. S. Disinfection, Sterilization, and Preservation. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. p. 255–281.

GONÇALVES, C. L.; FREITAS, C. H.; SANTO, P. R. *et al.* Avaliação antifúngica de uma solução à base de glucoprotamina e do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* em leveduras de ambiente hospitalar. Rev. Inst. Adolfo Lutz., v. 78, n. 1780, 2019.

GONZÁLEZ, N. H. Capacidade de inativação de desinfetantes sobre micro-organismos isolados de superfícies fixas em áreas críticas de um hospital veterinário de ensino. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias. Área de concentração: Epidemiologia, Saneamento e Profilaxia), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2011.

HUSLAGE, K.; RUTALA, W. A.; SICKBERT-BENNETT, E. *et al.* A quantitative approach to defining “high-touch” surfaces in hospitals. Infec. Cont. Hosp. Epid., v. 31, n. 8, p. 850-853, 2010.

JEFFERY-SMITH, A.; TAORI, S. K.; SCHELENZ, S. *et al.* *Candida auris*: a review of the literature. *Clin. Micro. Rev.*, v. 31, n. 1, 2018.

KARAMAN, İ.; SAHIN, F.; GÜLLÜCE, M. *et al.* Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *Jour. Ethnopharmacol.*, v. 85, p. 231-235, 2003.

KHAN, H. A.; BAIG, F. K.; MEHBOOB, R. Nosocomial infections: epidemiology, prevention, control and surveillance. *Asian Pac. Jour. Trop. Biom.*, v. 7, n. 5, p. 478-482, 2017.

LEMIECH-MIROWSKA, E.; KIERSNOWSKA, Z. M.; MICHALKIEWICZ, M. *et al.* Nosocomial infections as one of the most important problems of healthcare system, *rev. Publicun*, v. 28, n. 28, p. 361-366, 2021.

MARTINS-DINIZ, J. N.; SILVA, R. A. M.; MIRANDA, E. T. *et al.* Monitoramento de fungos anemófilos e de leveduras em unidade hospitalar. *Rev. Saúde Pública*, v. 3, n. 39, p. 398-405, 2005.

MENEZES, I. V. S. Acompanhamento do controle de qualidade de produtos saneantes. 45 f. Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Química, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2019.

NIMER, N. A. Nosocomial infection and antibiotic-resistant threat in the middle east. *Infec. Drug Resi.*, v. 15, p. 631-639, 2022.

OLIVEIRA, A. C.; DAMASCENO, Q. S. Superfícies do ambiente hospitalar como possíveis reservatórios de bactérias resistentes: uma revisão. *Rev. Esc. Enferm. USP.*, v. 44, n. 4, p. 1118-1123, 2010.

OTTER, J. A.; YEZLI, S.; FRENCH, G. L. The role played by contaminated surfaces in the transmission of nosocomial pathogens. *Infec. Cont. Hosp. Epid.*, v. 32, n. 7, p. 687-699, 2011.

PEREIRA, R.; FONTENELLE, R. O. S.; BRITO, E. H. S. *et al.* Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance. *Jour. Of App. Microb.*, v. 131, p. 11-22, 2020.

PROTANO, C.; CAMMALLERI, V.; ROMANO-SPICA, V. *et al.* Hospital environment as a reservoir for cross transmission: cleaning and disinfection procedures. *Rev. Univer. Di Roma La Sapienza.* v. 31 p. 436-448, 2019.

RABANAL, R. M.; ARIAS, A.; PRADO, B. *et al.* Antimicrobial studies on three species of *Hypericum* from the Canary Islands. *Jour. Ethnopharmacol.* v. 81, p. 287-292, 2002.

RAJA, A.; PARK, J. Disseminated *Candida lusitanae*: nosocomial acquisition secondary to an indwelling urinary catheter. *Case Rep. Inf. Dise.*, v. 2021, 2021.

ROCHA, A. P. S. Infecções fúngicas sistêmicas em unidade de terapia intensiva: diagnóstico e aplicação da hemopexina em modelos biológicos *in vitro*. 93 f. Tese (Doutorado em Biologia de Fungos. Área de concentração: Micologia Médica) Universidade Federal de Pernambuco, 2019.

SPETTEL, K.; BUMBERGER, D.; CAMP, I. *et al.* Efficacy of octenidine against emerging echinocandin-, azole- and multidrug-resistant *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Jour. Glob. Anti. Resi.*, v. 29, p. 23-28, 2022.

SPIVAK, E. S.; HANSONA, K. E. *Candida auris*: an emerging fungal pathogen. *Jour. Clin. Micro.*, v. 56, n. 2, 2018.

SULEYMAN, G.; ALANGADEN, G.; BARDOSSY, A. C. The Role of Environmental Contamination in the Transmission of Nosocomial Pathogens and Healthcare-Associated Infections. *Rev. Springer Science*, v. 20, n. 12, p. 1-11, 2018.

TAMURA, T.; ALSHAHNI, M. M.; MAKIMURA, K. Evaluation of CHROMagar™ *Candida Plus* chromogenic agar for the presumptive identification of *Candida auris*. *Rev. Microb. And Immun.*, v. 66, n. 6, p. 292-298, 2022.

WEBER, D. J.; RUTALA, W. A.; MILLER, M. B. *et al.* Role of hospital surfaces in the transmission of emerging health care-associated pathogens: Norovirus, *Clostridium difficile*, and *Acinetobacter* species. *Amer. Jour. Infec. Cont.*, v. 38, n. 5, p. 25-33, 2010.

WILLINGER, B.; HILLOWOTH, C.; SELITSCH, B. *et al.* Performance of *Candida* ID, a New Chromogenic Medium for Presumptive Identification of *Candida* Species, in Comparison to CHROMagar *Candida*. *Jour. Clin. Microb.*, v. 39, n. 10, p. 1-3, 2001.