

## **Candida spp. EM SUPERFÍCIE DE EQUIPAMENTOS HOSPITALARES DE SUPORTE VENTILATÓRIO AO PACIENTE CRÍTICO**

LURDETI BASTOS DA SILVA<sup>\*</sup>  
PATRÍCIA DA SILVA NASCENTE<sup>\*\*</sup>  
MELISSA ORZECOWSKI XAVIER<sup>\*\*\*</sup>

### **RESUMO**

A colonização do trato respiratório por leveduras do gênero *Candida* é apontada, atualmente, como um fator de risco potencial para o desenvolvimento da pneumonia associada a ventilação mecânica em pacientes imunossuprimidos. Este estudo teve como objetivo investigar a presença de *Candida* spp. em equipamentos de suporte ventilatório de pacientes internados na unidade de terapia intensiva do HU-FURG. As amostras foram coletadas semanalmente, no período de março a junho de 2011, por fricção de swab estéril na superfície interna dos conectores do circuito de ventilação mecânica, na conexão imediata ao traqueotubo (TET). Os swabs foram acondicionados em meio de transporte e o processamento laboratorial ocorreu em, no máximo, duas horas. No laboratório foi realizado o cultivo em ágar de Sabouraud dextrose e após a incubação (sete dias a 25°C) as colônias foram identificadas e quantificadas. Foram obtidas 59 amostras, das quais 31 (54,3%) apresentaram cultivo positivo para *Candida* spp., com média de 69,09 UFC (unidades formadoras de colônias) por amostra ( $\pm 108,88$ ). Provas fenotípicas e bioquímicas foram realizadas em 24 dos 31 isolados (75%), permitindo identificar 19 (79,2%) como *C. albicans* e cinco isolados (20,8%) como *C. tropicalis*. A média de UFC isolada diferiu entre as espécies, sendo de 188,2 UFC( $\pm 153,3$ ) nas amostras com resultado positivo para *C. tropicalis* e de 40,7 UFC( $\pm 75,9$ ) para *C. albicans* ( $p=0,09$ ). Uma amostra apresentou crescimento leveduriforme misto com colônias fúngicas de *C. albicans* coexistentes com *C. tropicalis*. Em relação aos pacientes referentes aos TET incluídos no estudo, 30 eram idosos (>60 anos), 22 eram infectados pelo HIV e 12 diabéticos. O tempo médio de permanência em ventilação mecânica foi de 12,6 dias ( $\pm 14,7$ ), com máximo de 67 dias. Não foi encontrada diferença significativa no isolamento de *Candida* spp. das amostras quanto a estas variáveis estudadas, todas resultando em valores de  $p>0,05$ . O estudo evidenciou a presença de fungos leveduriformes oportunistas e produtores de biofilme do gênero *Candida* na superfície interna dos conectores de circuitos de ventilação mecânica, sugerindo possível colonização traqueobrônquica dos pacientes internados na UTI submetidos a ventilação mecânica.

**PALAVRAS-CHAVE:** colonização; tubo endotraqueal; pneumonia associada a ventilação mecânica

### **ABSTRACT**

#### ***Candida* spp. IN SURFACE OF HOSPITAL EQUIPMENT OF VENTILATORY SUPPORT TO CRITICAL PATIENT**

The colonization of the respiratory tract by *Candida* species is identified as a potential risk factor for the development of Ventilator Associated Pneumonia in immunocompromised patients. Thus, this study aims to investigate the presence of *Candida* spp. in equipment of ventilatory support to patients admitted to the intensive care unit of the HU-FURG. Samples were collected weekly from March to June 2011, by rubbing a sterile swab on the inner surface of the circuit connectors for mechanical ventilation in immediate connection to endotracheal tube. The swabs were placed in a transport and laboratory processing occurred within two hours at most. In the laboratory the culture was performed on Sabouraud dextrose agar, and after incubation (seven days at 25° C) the colonies were identified and quantified. A total of 59 samples were obtained, of which 31 (54.3%) had positive culture for *Candida* spp., with an average of 69.09 CFU (colony forming units) per sample ( $\pm 108.88$ ). Phenotypic and biochemical evidence were performed in 24 of 31 isolates (75%), identifying 19 isolates (79.2%) as *C. albicans* and five isolates (20.8%) as *C. tropicalis*. The average CFU isolated differed significantly between species: 188.2 CFU ( $\pm 153.3$ ) in the samples with positive result for *C. tropicalis* and 40.7 CFU ( $\pm 75.9$ ) for *C. albicans* ( $p=0.09$ ). One sample presented co-culture of *C. albicans* with *C. tropicalis*. Regarding the patient intubated and mechanically ventilated, there were 30 elderly (>60years old), 22 HIV-positive and 12 diabetic patients. The average time spent on mechanical ventilation was of 12.6 days ( $\pm 14.7$ ), with a maximum of 67 days.

<sup>\*</sup> Mestre em Ciências da Saúde pela Universidade Federal do Rio Grande – FURG. E-mail: [enferlu01@yahoo.com.br](mailto:enferlu01@yahoo.com.br)

<sup>\*\*</sup> Doutorado em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS. E-mail: [patsn@bol.com.br](mailto:patsn@bol.com.br)

<sup>\*\*\*</sup> Doutora em Ciências Pneumológicas pela Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul UFRGS. E-mail: [melissaxavier@ig.com.br](mailto:melissaxavier@ig.com.br)

These variables did not show significant difference in the isolation of *Candida* spp. with results of  $p > 0.05$ . The study revealed the presence of opportunistic yeasts and biofilm producers of the genus *Candida* on the inner surface of the circuit connectors for mechanical ventilation, suggesting a possible tracheobronchial colonization of the intensive care unit patients undergoing mechanical ventilation.

**KEYWORDS:** colonization, endotracheal tube, ventilator associated pneumonia

#### RESUMEN

#### *Candida* spp. EN LA SUPERFICIE DE EQUIPAMIENTO HOSPITALARIO DE SOPORTE VENTILATÓRIO A PACIENTES EN ESTADO CRÍTICO

La colonización del tracto respiratorio por especies de *Candida* se identifica como un factor de riesgo potencial para el desarrollo de neumonía asociada a ventilación mecánica en pacientes inmunocomprometidos. El estudio tuvo como objetivo investigar la presencia de *Candida* spp. en los equipos de soporte ventilatorio de pacientes ingresados en la unidad de cuidados intensivos del HU-FURG. Las muestras fueron colectadas semanalmente de marzo a junio de 2011, por el roce de un hisopo estéril en la superficie interna de los conectores del circuito de ventilación mecánica, conectada directamente con el tubo endotraqueal (TET). Los hisopos fueron colocados en un medio de transporte y el procesamiento de laboratorio se produjo en un máximo de 2 horas. En el laboratorio de Micología se realizó cultivo en agar Sabouraud dextrosa y después de la incubación (siete días a 25° C) las colonias fueron identificadas y cuantificadas. Un total de 59 muestras se obtuvieron, de los cuales 31 (54,3%) tuvieron cultivo positivo para *Candida* spp., con la media de 69,09 FC por muestra ( $\pm 108,88$ ). Las pruebas fenotípicas y bioquímicas se realizaron en 24 de los 31 aislamientos (75%), para identificar a 19 (79,2%) como *C. albicans* y cinco aislamientos (20,8%) como *C. tropicalis*. La media de UFC aislado difería entre especies, siendo 188,2 UFC ( $\pm 153,3$ ) en las muestras con resultado positivo para *C. tropicalis* y 40,7 UFC ( $\pm 75,9$ ) para *C. albicans* ( $p = 0,09$ ). Una de las muestras presentó el co-cultivo de *C. albicans* con *C. tropicalis*. Teniendo en cuenta los pacientes con respecto a la TET incluidos en el estudio, 30 eran personas de edad avanzada ( $>60$  años), 22 eran IHV-positivos y 12 diabéticos. La duración media de la ventilación mecánica fue de 12,6 días ( $\pm 14,7$ ), con un máximo de 67 días. No hubo diferencia significativa en el aislamiento de *Candida* spp. sobre estas variables, con el resultado de los valores de  $p > 0,05$ . El estudio reveló la presencia de levaduras oportunistas y productoras de la biopelícula género *Candida* en la superficie interna de los conectores de circuito para la ventilación mecánica, lo que sugiere una posible colonización traqueobronquial de los pacientes de la UCI sometidos a ventilación mecánica.

**PALABRAS CLAVE:** colonización, tubos endotraqueales, neumonía asociada a ventilación mecánica

## 1 INTRODUÇÃO

Leveduras do gênero *Candida* estão entre os patógenos oportunistas mais frequentemente encontrados nas unidades de terapia intensiva, causando infecções graves e potencialmente fatais<sup>1,2,3</sup>. Como comensal esta levedura compõe a microbiota oral e intestinal de indivíduos saudáveis, podendo desenvolver infecções oportunistas invasivas em pacientes imunocomprometidos que tendem a evoluir como infecções sistêmicas com alto índice de morbimortalidade<sup>4,5</sup>.

A transformação dessa levedura de comensal em patógeno está diretamente relacionada com a imunidade do hospedeiro e com a capacidade de adesão da cepa à mucosa do hospedeiro, produção de enzimas líticas, produção de filamentos e habilidade de formar biofilme em superfícies abióticas, como o polímero do tubo endotraqueal (TET), cateteres, sondas, dispositivos intrauterinos, válvulas

de implante cardíaco, próteses acrílicas, entre outras<sup>5,6,7,8,9</sup>.

O biofilme se caracteriza como um aglomerado de microrganismos aderidos a uma superfície inerte, protegidos por uma matriz extracelular cuja complexidade é determinada pela produção de metabólitos na interação entre os microrganismos dessa comunidade. Apresenta padrões físico-químicos, estruturais e nutricionais particulares, que promovem um padrão de resistência aumentado contra a barreira imunológica do hospedeiro, bem como quanto à ação de antimicrobianos e antifúngicos, formando um ecossistema independente capaz de se dispersar e disseminar patógenos<sup>4,6,9,10,11</sup>.

Estudos recentes apontam a colonização do trato respiratório por *Candida* spp. como um fator de risco potencial para o desenvolvimento da pneumonia associada a ventilação mecânica, relacionando ainda como fatores de relevância clínica a imunossupressão do hospedeiro, a alta

concentração traqueobrônquica dessas leveduras, o potencial de broncoaspiração de patógenos e a capacidade que a *Candida* spp. tem de formar biofilme e interagir com outros patógenos, potencializando ou predispondo ao desenvolvimento de infecções oportunistas<sup>4,10,11,12</sup>.

Nesse sentido, este estudo teve como objetivo investigar a presença de leveduras do gênero *Candida* na superfície interna de uma porção do circuito de ventilação mecânica em pacientes submetidos a intubação endotraqueal ou endocânula de cricotireoidectomia.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi desenvolvido no laboratório de Micologia da Faculdade de

Medicina – FAMED-FURG. As amostras foram coletadas na Unidade de Terapia Intensiva do Hospital Universitário Dr. Miguel Riet Correa Jr., da Universidade Federal do Rio Grande. Essa unidade de internação dispõe de seis leitos, sendo um de isolamento, e atende pelo SUS, em média, 140 usuários por ano.

Durante um período de três meses, foram coletadas amostras da superfície interna dos conectores de circuito dos aparelhos de ventilação mecânica na porção de conexão imediata ao tubo endotraqueal ou endocânula de cricotireoidectomia (Figura 1), semanalmente, por meio da fricção de *swab* estéril. Os *swabs* foram acondicionados em meio de transporte até o processamento laboratorial, para evitar ressecamento e perda da amostra.

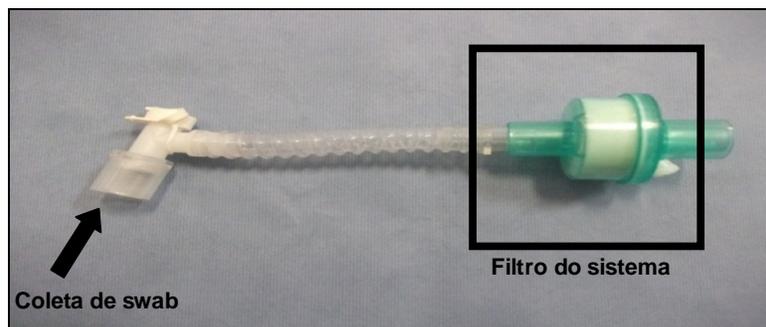


FIGURA 1 – Porção do circuito de ventilação mecânica, demonstrando o local selecionado para a coleta das amostras: conexão do circuito ao traqueotubo, anterior ao filtro do sistema.

No Laboratório de Micologia da FAMED-FURG, as amostras foram semeadas por espalhamento, por meio de fricção do *swab* em toda a superfície do ágar de Sabouraud acrescido de cloranfenicol, disposto em placas de Petri. Após sete dias de incubação a 25°C e monitoramento diário do cultivo, foi realizada identificação dos agentes isolados e contagem das unidades formadoras de colônias (UFC). As colônias fúngicas foram fenotipicamente identificadas quanto ao gênero. Na análise macromorfológica foram observadas as características de cor, textura, superfície e tempo de crescimento das colônias, e na micromorfologia foram consideradas as características dos blastoconídios, como

formato, tamanho e gemulação e a presença de pseudo-hifas.

Para identificação da espécie de *Candida* isolada, as colônias foram purificadas e submetidas a provas de microcultivo em Agar fubá e tubo germinativo. O subcultivo em Chromagar a 37°C, por 24 a 48 horas, além de auxiliar na identificação da espécie, foi utilizado para identificar culturas com crescimento misto de mais de uma espécie de *Candida*. A confirmação da identificação dos isolados pelos testes fenotípicos descritos acima foi realizada por provas bioquímicas de método comercialmente disponível (Vitek2®).

Dados referentes a idade, comorbidades e tempo de permanência em ventilação mecânica dos pacientes

foram coletados a partir do livro de registros de enfermagem. Para avaliação dos resultados foram utilizadas análises descritivas, teste de qui-quadrado para variáveis categóricas e teste de t para variáveis quantitativas. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Área da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande – CEPAS/FURG, por meio do parecer nº07/2011, CEPAS 652010.

### 3 RESULTADOS

Ao final do período de três meses foram obtidas 59 amostras da superfície interna dos conectores das traquéias dos aparelhos de ventilação mecânica, das quais 31 (54,3%) apresentaram cultivo positivo para *Candida* spp., caracterizadas por crescimento fúngico leveduriforme, colônias de coloração branca ou creme com superfície lisa e textura cremosa,

apresentando blastoconídios arredondados ou ovais de tamanho médio e com gemulação única. As provas fenotípicas e bioquímicas foram realizadas em 24 dos 31 isolados (75%), permitindo identificar 19 (79,2%) como *C. albicans* e cinco isolados (20,8%) como *C. tropicalis*. Os isolados restantes permaneceram identificados somente em gênero, sendo caracterizados como *Candida* spp. Uma amostra apresentou crescimento leveduriforme misto com colônias fúngicas de *C. albicans* coexistentes com *C. tropicalis*.

A média de unidades formadoras de colônias fúngicas leveduriformes encontrada foi de 69,09 ( $\pm 108,88$ ), variando de 1UFC a >300UFC por amostra coletada. Cerca de 50% das amostras resultaram em isolamento de mais de 100UFC de *Candida* spp. (Figura 2).

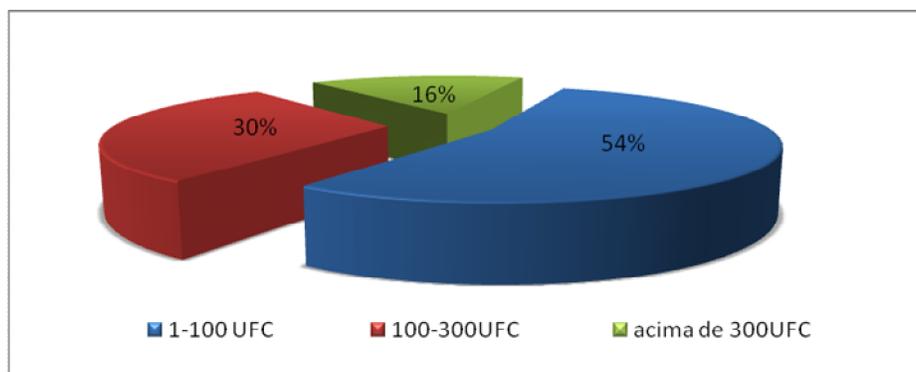


FIGURA 2 – Percentagem de unidades formadoras de colônias de *Candida* spp. isoladas de superfície interna de equipamentos de suporte ventilatório.

Considerando a quantidade de UFC por espécie isolada, das cinco amostras positivas para *C. tropicalis*, três (60%) apresentaram mais de 300 UFC, enquanto somente uma amostra positiva para *C. albicans* (5,3%) resultou neste

isolamento massivo de UFC (Figura 3). A média de UFC isolada diferiu entre as espécies, sendo de 188,2UFC ( $\pm 153,3$ ) nas amostras com resultado positivo para *C. tropicalis* e de 40,7UFC ( $\pm 75,9$ ) para *C. albicans* ( $p=0,09$ ).

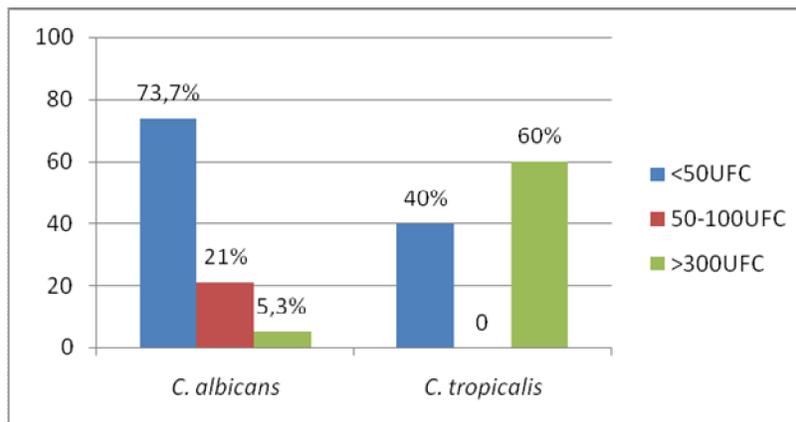


FIGURA 3 – Percentagem de amostras com distintas quantidades de unidades formadoras de colônias leveduriformes de acordo com a espécie de *Candida*.

As 59 amostras obtidas foram provenientes do TET de 33 pacientes, sendo alguns deles submetidos a mais de uma coleta. Resultado positivo para isolamento leveduriforme do conector do TET foi encontrado em 63% dos pacientes incluídos no estudo. Em relação a esses pacientes, 15 eram idosos (cinco portadores de diabetes) e 13 eram infectados pelo HIV. O tempo médio de permanência em ventilação mecânica foi de 12,6 dias (DP: 14,7), com máximo de 67 dias. Não foi encontrada diferença significativa no isolamento de *Candida* spp. das amostras quanto a essas variáveis estudadas, todas resultando em valores de  $p > 0,05$ .

#### 4 DISCUSSÃO

Este estudo avaliou a presença de *Candida* spp. em uma porção (conector do TET) do circuito de ventilação mecânica, demonstrando positividade em mais da metade das amostras coletadas. Observando que a superfície analisada permanece em contato constante com as secreções oriundas do trato traqueobrônquico, pode-se presumir que a taxa de positividade de cerca de 50% seja correspondente aos níveis de colonização traqueobrônquica dos pacientes, apontando para o caráter endógeno da contaminação. Esses valores estão de

acordo com o estudo desenvolvido por Ader et al. (2008), que encontrou resultado positivo para colonização traqueobrônquica por *Candida* spp. em 69% de 214 pacientes submetidos a ventilação mecânica<sup>4</sup>.

Segundo Ader et al. (2008), as taxas de colonização traqueobrônquica aumentam em 31% após 15 dias de ventilação mecânica e em 34% após 30 dias, o que torna o maior tempo de exposição à ventilação mecânica um fator de risco para pneumonia associada a ventilação mecânica, determinada pela elevação das taxas de concentração de patógenos na via traqueobrônquica, associada ao fenômeno de contiguidade e imunossupressão do hospedeiro<sup>4</sup>. No entanto, no presente estudo, o tempo de permanência dos pacientes em ventilação mecânica não teve influência no isolamento de *Candida* spp. das amostras. Provavelmente esse fato está relacionado à rotina de troca dos conectores dos quais foram colhidas as amostras – a cada 24 horas, o que minimiza a proliferação microbiana no local e impede a colonização massiva por *Candida* spp. e, conseqüentemente, a formação do biofilme.

As amostras apresentaram em média 69,9UFC de *Candida* spp., e cerca de 30% atingiram taxas superiores a 100UFC. Estudo desenvolvido por Rello et

al. (1998), demonstrou que 24 dos 28 pacientes estudados submetidos a ventilação mecânica por mais de 48h apresentaram taxas acima de  $10^3$  UFC/ml de *Candida* spp. por amostra de aspirado traqueal<sup>10</sup>. Essa diferença na quantificação de leveduras isoladas está associada ao tipo de amostra estudada, superfície do conector versus secreção respiratória do paciente, bem como ao método de coleta utilizado, swab versus aspirado, sendo os últimos mais fidedignos da determinação de colonização microbiana e, portanto, determinantes de valores mais altos de isolamento em cultivo.

A espécie predominante nas amostras de superfície foi *C. albicans*, seguida de *C. tropicalis*, sendo a média de UFC maior nas amostras com isolamento de *C. tropicalis* do que de *C. albicans*. Resultados similares foram descritos por Gasparetto et al. (2005), que encontraram no estudo da mucosa oral de 220 pacientes 42% de fungos leveduriformes, sendo 70% do total de leveduras isoladas identificados como *C. albicans* e 12% como *C. tropicalis*<sup>13</sup>. Experimentos *in vitro* apresentados por Douglas (2003) afirmam que *C. albicans* é a maior produtora de biofilme entre as espécies de *Candida*, o que explica a prevalência da *C. albicans* nos isolados da superfície interna dos equipamentos de ventilação mecânica<sup>11</sup>. Quanto a *C. tropicalis*, Douglas (2003) relata a habilidade aumentada desta espécie para produção de biofilme quando dispõe de um meio rico em glicose, apontando como risco a condição terapêutica a que o paciente é submetido na Unidade de Tratamento Intensivo, como, por exemplo, o uso da nutrição parenteral total por acesso venoso de inserção central<sup>11</sup>. Outro fator importante a ressaltar em relação a *C. tropicalis* foi descrito por Pfaller et al. (2011) e se refere à resistência aos antifúngicos fluconazol e equinocandinas, citando uma taxa de 3,3% das cepas de *C. tropicalis* de origem nosocomial com resistência intrínseca ao fluconazol<sup>14</sup>.

Crescimento misto de *C. albicans* e *C. tropicalis* foi detectado em uma amostra proveniente de um paciente com diagnóstico prévio de SIDA (síndrome da

imunodeficiência adquirida), o que está de acordo com Smith-Westhausen et al. (2004), que, investigando a microbiota oral de 121 indivíduos infectados pelo HIV, encontraram três casos de cultivo misto associando *C. albicans* a *C. glabrata*, a *C. tropicalis* e a *C. krusei*<sup>15</sup>. Similarmente, Sanitá (2011), em estudo da microbiota oral de pacientes diabéticos, encontrou 40% das amostras com crescimento de *C. albicans* e *C. glabrata*; 36,5% de *C. albicans* e *C. tropicalis*, e 19,2% de *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*, associando esse isolamento misto ao mau prognóstico do paciente ( $p < 0,01$ )<sup>16</sup>.

Estudo desenvolvido por Willis et al. (2000) demonstra taxa de colonização da microbiota oral por *Candida* spp. de 77% em pacientes insulino-dependentes<sup>17</sup>. Essa alta taxa é determinada pela adesão do fungo à mucosa oral promovida pelo aumento da concentração da glicose salivar, que, por sua vez, é determinada pelo desequilíbrio da glicemia e decorrente degeneração microvascular observada em pacientes diabéticos<sup>18</sup>. Segundo Moyes e Naglik (2011), 90% dos pacientes SIDA desenvolvem candidose oral, sendo essa infecção preditora de baixa imunidade<sup>2</sup>. A suscetibilidade a candidíase oral em idosos está relacionada à fragilidade da mucosa, determinada pela higiene oral precária, como consequência do comprometimento da capacidade funcional, perda dos dentes e xerostomia causada pela associação de fármacos de uso contínuo e supermedicação, além do desenvolvimento de doenças degenerativas e presença de patologias múltiplas que caracterizam depressão do sistema imune<sup>19,20</sup>. No entanto, no presente estudo, a investigação da superfície interna dos conectores do circuito de ventilação mecânica, que evidenciou 18,2% de amostras positivas associadas a casos de diabetes, 30,3% associadas a HIV e 48,5% associadas a idade igual ou superior a 60 anos, não encontrou diferença significativa entre grupos, provavelmente devido à limitação do pequeno número de pacientes incluídos, resultando em falta de poder estatístico.

Cabe ressaltar que a cavidade orofaríngea pode ser a fonte primária de colonização traqueobrônquica por patógenos oportunistas, e o procedimento de intubação endotraqueal é responsável por carrear patógenos e facilitar a produção do biofilme, predispondo ao desenvolvimento da pneumonia nosocomial associada a ventilação mecânica<sup>21,22</sup>. Nesse sentido, considera-se de suma relevância a adoção do Protocolo de Cuidados Oraís ao Paciente Crítico, incluindo a clorexidina na higiene oral como medida preventiva para o controle da pneumonia nosocomial associada a ventilação mecânica<sup>22</sup>. O uso de técnica asséptica para intubação endotraqueal e aspiração do TET também minimiza os riscos de contaminação<sup>23</sup>; assim como a lavagem e antisepsia das mãos permanece como ação prioritária para o controle das infecções nosocomiais<sup>24</sup>, e a assistência odontológica ao paciente crítico, executada por profissional especializado, configura estratégia de prevenção, proteção e promoção da saúde do paciente submetido a terapia de cuidados intensivos<sup>21</sup>.

## 5 CONCLUSÃO

O estudo evidenciou a presença de fungos leveduriformes oportunistas e produtores de biofilme do gênero *Candida* na superfície interna dos conectores de circuitos de ventilação mecânica, sugerindo possível colonização traqueobrônquica dos pacientes internados na UTI submetidos a ventilação mecânica.

## REFERÊNCIAS

- Dupont BF, Lortholary O, Ostrosky-Zeichner L, Stucker F, Yeldandi V. Treatment of candidemia and invasive candidiasis in the intensive care unit: post hoc analysis of a randomized, controlled trial comparing micafungin and liposomal amphotericin B. *Crit Care* 2009;13(5):1-10.
- Moyes DI, Naglik JR. Mucosal immunity and *Candida albicans* infection. *Rev. Clin. and Development. Immunology* 2011;1-9.
- Palabiykglu I, Oral M, Tulunay M. *Candida* colonization in mechanically ventilated patients. *J. Hospital Infections* 2001;(47):239-42.
- Ader F, Faure K, Guery B, Nseir S. Interaction de *Pseudomonas aeruginosa* avec *Candida albicans* dans les voies respiratoires: de la physiopathologie à une perspective thérapeutique. *Rev. Pat. Biologie* 2008;(56):164-9.
- Reviákina V, Panizo MM. Imunopatogênese de la candidosis sistêmica e imunomodulación. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* 2001;21(2):46-53, 2001.
- Baillie GS, Douglas J. Matrix polymers of *Candida* biofilms and their possible role in biofilm resistance to antifungal agents. *J. Antim. Chemotherapy* 2000;(46):397-403.
- Gómez J, Garcia-Vázquez E, Hernández A, Espinosa C, Ruiz J. Candidemias nosocomiales: nuevos retos de um problema emergente. *Rev. Esp. Quimioter.* 2010;23(4):158-68.
- Soustre J, Rodier MH, Imbert-Bouyer S, Daniault G, Imbert C. Caspofungin modulates in vitro adherence of *Candida albicans* to plastic coated with extracellular matrix proteins. *J. of Antim. Chemotherapy* 2004;(53):522-5.
- Tencate JM, Klis FM, Crielaard W, De Groot PWJ. Molecular and cellular mechanisms that lead to candida biofilm formation. *J. Dent. Res.* 2009;(88)2:105-15.
- Rello J., Esandi M. E., Díaz E., Mariscal D., Gallego M., Valles J. The role of *Candida* sp. isolated from bronchoscopic samples in nonneutropenic patients. *Am. Col. of Chest Physicians* 1998;(144):146-9.
- Douglas LJ. *Candida* biofilms and their role in infection. *Rev. Trends in Microbiol* 2003;11(1): 30-6.
- Durairaj L, Mohamad Z, Launspach JL, Ashare A, Choi JY, Rajagopal S, Doern G V, Zabner J. Patterns and density of early tracheal colonization in intensive care unit patients. *J. of Critical Care* 2009;24(1):114-21.
- Gasparetto A, Negri MFN, Paula CR, SvidzinskiT IE. Produção de biofilme por leveduras isoladas de cavidade bucal de usuários de prótese dentária. *Acta Sci. Health Sci.* 2005;27(1):37-40.
- Pfaller MA, Moet GJ, Messer, Jones RN, Castanheira M. *Candida* bloodstream infections: comparison of species distribution and resistance to echinocandin and azole antifungal agents in Intensive Care Unit (ICU) and non-ICU settings in the SENTRY Antimicrobial

- Surveillance Program (2008-2009). Rev. Antim. Quim. Agents 2011;55(2):561-6.
15. Schmidt-Westhausen AM, Bendick C, Reichart A, Samaranayake LP. Oral candidoses and associated *Candida* species in HIV-infected Cambodian exposed to antimycotics. Mycoses 2004;(47):435-41.
16. Sanitá PV, Giampaolo ET, Mima EGO, Vergani, CE. *Candida* spp. prevalence in well controlled type 2 diabetic patients with denture stomatitis. Rev. OOOOE 2011;11(6):726-33.
17. Willis AM, Coulter WA, Sullivan DJ, Coleman DC, Hayes JR, Bell PM, Lamey PJ. Isolation of *C. dubliniensis* from insulin-using diabetes mellitus patients. J. Oral Pathol. Med. 2000;29(2):86-90.
18. Manfredi M, Al-Karaawi Z, McCullough MJ, Hurel S, Porter SR. The isolation, identification and molecular analysis of *Candida* spp. isolated from the oral cavities of patients with diabetes mellitus. M. Rev. Oral Microbiol and Immunol. 2002;(17):181-5.
19. Rosa LB, Zuccolotto MCC, Bataglion C, Coronatto EAS. Odontogeriatrics: a saúde bucal na terceira idade. RFO 2008;13(2):82-6.
20. Saintrain MVL, Silva AL. Interferência do perfil epidemiológico dos idosos na atenção odontológica. Rev. Bras. Epidemiol. 2006;9(2):242-50.
21. Amaral SM, Cortês AQ, Pires FR. Pneumonia nosocomial: importância do microambiente oral. J. Bras. Pneumol. 2009;35(11): 1116-24.
22. Felder LL, Mitchell P, Bridges E. Oral care practices for orally intubated critically ill adults. Am. J. Crit. Care. 2010;(19):175-83.
23. Zeitoun SS, Barros ALBL, Diccina S, Juliano Y. Incidência de pneumonia associada a ventilação mecânica em pacientes submetidos a aspiração endotraqueal pelos sistemas aberto e fechado: estudo prospectivo – dados preliminares. Rev. Latino-Am. Enferm. 2001;9(1):46-52.
24. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Higienização das mãos em serviços de saúde. 2007.