

BRUNO SOUZA WALTER

**LEVEDURAS ISOLADAS DE NEONATOS DA UNIDADE NEONATAL
INTERNA DO INSTITUTO MATERNO INFANTIL DE
PERNAMBUCO (IMIP), RECIFE - PE.**

RECIFE – PE
2005

BRUNO SOUZA WALTER

**LEVEDURAS ISOLADAS DE NEONATOS DA UNIDADE NEONATAL
INTERNA DO INSTITUTO MATERNO INFANTIL DE
PERNAMBUCO (IMIP), RECIFE - PE.**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Biologia
de Fungos do Centro de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Pernambuco, como parte
dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em
Biologia de Fungos.

ORIENTADORA:

Profª Drª Lusinete Aciole de Queiroz

RECIFE – PE
2005

Walter, Bruno Souza

**Leveduras isoladas de neonatos da Unidade Neonatal
Interna do Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP),
Recife - PE/ Bruno Souza Walter. – Recife: O Autor, 2005.**

45 folhas : il., fig., tabs.

**Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de
Pernambuco. CCB. Biologia de Fungos, 2005.**

Inclui bibliografia.

**1. Micologia médica 2. Leveduras - Neonato 3. Microbiota
4. Sangue I. Título.**

**616.992
616.969
078**

**CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)**

**UFPE
CCB – 2006-**

**LEVEDURAS ISOLADAS DE NEONATOS DA UNIDADE NEONATAL
INTERNA DO INSTITUTO MATERNO INFANTIL DE
PERNAMBUCO (IMIP), RECIFE - PE.**

BRUNO SOUZA WALTER

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora:

Orientadora:

Prof^ª. Dr^ª. Lusinete Aciole de Queiroz

Examinadores:

Prof^º. Dr^º. Armando Marsden

Prof^ª. Dr^ª. Rejane Pereira Neves

RECIFE – PE
2005

“Se nela achares algum lucro, desconta o mau em satisfação do bom; e se tudo te parecer inútil, fazes outra melhor, e dá louvores a Deus, que repartiu contigo tanto, dando aos outros tão pouco. Ele te guarde”.

Luiz Gomes Ferreyra, em seu livro *Erário Mineral* -1538.

DEDICO

Aos meus pais, **Newton** e **Laura** pelo amor, dedicação, apoio em mais uma vitória que é tão minha quanto deles. Sem vocês eu não seria nada.

Aos meus irmãos **Leonardo** e **Bárbara** pela amizade, que eles ultrapassem sem dificuldades. todas estas barreiras que estou ultrapassando.

A minha noiva **Sara** pela companhia, amizade, apoio, paciência, estímulo e por ser aquela que sempre esteve pronta a me ajudar mesmo nos momentos mais difíceis. Esse título deveria ser seu também.

OFEREÇO

A meu avô **Newton Walter** (*in memorian*) que me fez chegar até aqui e continua sendo minha fonte de inspiração. Sei que estás por perto.

Às minhas avós **Laura e Ester** e minhas tias **Luisa Carolina, Bernadette, Marilene, Marly, Marlene** pelo apoio e pela confiança depositada em mim.

A **Handara** que é uma das mulheres que mais amo no mundo e compreendeu sem dificuldade, a minha ausência durante a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus por mais uma vitória na escalada de minha curta vida.

À Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), pela oportunidade oferecida na realização do Curso de Mestrado em Biologia de Fungos.

Ao Departamento de Micologia, CCB, UFPE, nas pessoas de Profa. Dra. Elza Luna Alves Lima e Profa. Dra. Cristina Maria Souza Motta, respectivamente chefe e subchefe.

À Coordenação do Mestrado em Biologia de Fungos, na pessoa da Profª Dra. Neiva Tintin de Oliveira, pelo desempenho e apoio.

À coordenação do Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro e técnico-científico.

Aos professores do Mestrado em Biologia de Fungos, pelos ensinamentos que a mim possibilitaram maior conhecimento.

Aos Professores Armando Marsden Lacerda Filho, Severina Torres de Barros, Sidney Tuyasse Gomes Bastos Silva, e Maria Auxiliadora de Queiroz Cavalcanti, pelo livre acesso aos seus respectivos laboratórios e pela amizade.

Ao Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP), por ter permitido a realização deste trabalho em sua instituição sem restrições.

A Dra. Suzana – IMIP que contribuiu para o desenvolvimento deste trabalho.

À minha orientadora, Profª. Dra. Lusinete Acirole de Queiroz, pelo apoio, cooperação, incentivo, dedicação, valiosas sugestões, cuidados e amizade demonstrada.

À minha família, pela compreensão e momentos difíceis que sempre ultrapassamos juntos.

Aos colegas da universidade, Alexandre, Natacha, André, Nertan, Valter, Cintiazinha, Cinthia, Keyla, Lylianny, Polyana, Júnior, Eliane, Micheline, Lili, Felipe e Euvira, Etiene, Ursula, Edvaldo, Juliana, Paloma, Jorge, Luis Rodrigo, Rodrigo, Reginaldo, enfim todos que de alguma forma me apoiaram durante a execução deste trabalho.

Em especial as Profas. Oliane Magalhães e Rejane Neves pela paciência, colaboração, companheirismo e amizade demonstrada em todas as fases deste trabalho.

A todos os colegas de Mestrado, Adriana Nunes, Bruno Severo, Idalina Cambuim, Girlene, Lívio, Felipe Wartson, Francinete Carla, Marcos, Mariluce e Luciana pelo companheirismo.

A Dona Edna pela compreensão durante a realização deste trabalho deixando Sara disponível para me ajudar sempre que necessário.

LISTA DE TABELAS

<i>TABELA</i>		Páginas
1	Unidades formadoras de colônias de espécies de leveduras isoladas de áreas do corpo de neonatos internos no Alojamento Conjunto, IMIP, Recife – PE.	26
2	Unidades formadoras de colônias de espécies de leveduras isoladas de áreas do corpo de neonatos internos no Alojamento Mãe-Canguru, IMIP, Recife – PE.	30
3	Unidades formadoras de colônias de espécies de leveduras isoladas de áreas do corpo e sangue de neonatos internos no Berçário de Alto Risco IMIP, Recife – PE.	35

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Páginas
1	Isolamento de leveduras de neonatos em relação à unidade de internação, IMIP, Recife – PE.	21
2	Ocorrência de leveduras em neonatos internos no Alojamento Conjunto, IMIP, Recife – PE.	22
3	Leveduras isoladas dos neonatos internos no Alojamento Conjunto, IMIP, Recife – PE.	23
4	Leveduras isoladas de áreas do corpo de neonatos internos no Alojamento Conjunto, IMIP, Recife – PE.	24
5	Unidades formadoras de colônias (UFC) das espécies isoladas dos neonatos internos no Alojamento Conjunto, IMIP, Recife – PE em relação às áreas do corpo.	26
6	Ocorrência de leveduras em neonatos internos no Alojamento Mãe-Canguru, IMIP, Recife – PE.	27
7	Leveduras isoladas dos neonatos internos no Alojamento Mãe-Canguru, IMIP, Recife – PE.	27
8	Leveduras isoladas de áreas do corpo de neonatos internos no Alojamento Mãe-Canguru, IMIP, Recife – PE.	28
9	Unidades formadoras de colônias (UFC) das espécies isoladas de neonatos internos no Alojamento Mãe-Canguru, IMIP, Recife – PE em relação às áreas do corpo.	30
10	Ocorrência de leveduras em neonatos internos no Berçário de Alto Risco, IMIP, Recife – PE.	31
11	Leveduras isoladas dos neonatos internos no Berçário de Alto Risco, IMIP, Recife – PE.	32
12	Leveduras isoladas de áreas do corpo e sangue de neonatos internos no Berçário de alto Risco, IMIP, Recife – PE.	33
13	Unidades formadoras de colônias (UFC) das espécies de leveduras isoladas do Berçário de Alto Risco, IMIP, Recife – PE em relação às áreas do corpo e sangue.	36
14	Ocorrência de leveduras em sangue de neonatos internos no Berçário de Alto Risco, IMIP, Recife – PE, em relação ao exame direto e cultura.	36
15	Leveduras isoladas dos neonatos das unidades de internação do IMIP, Recife – PE.	37
16	Unidades formadoras de colônias de espécies comuns aos neonatos das três unidades de internação do IMIP, Recife – PE.	38

RESUMO

Ao nascer o neonato entra em contato com fungos e outros microrganismos provenientes da microbiota materna e de outras fontes. A pele é o primeiro órgão a entrar em contato com esses microrganismos atuando como uma interface entre o meio interno e o meio ambiente, oferecendo funções especiais para sobrevivência do ser humano. Uma vez integrantes da microbiota do homem, os fungos, podem passar oportunamente de sapróbios a patogênicos, provocando quadros clínicos variáveis. Com o objetivo de detectar leveduras em neonatos internos na Unidade Neonatal do Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP), foram coletadas de 93 neonatos, escamas epidérmicas através de fricção na pele com “swab” e 37 amostras de sangue através de punção. Todas as amostras de sangue foram provenientes do Berçário de Alto Risco. Foi realizado o exame direto das amostras de sangue e todos os espécimes foram semeados na superfície de ágar Sabouraud adicionado de cloranfenicol. Das amostras clínicas foram obtidas 131 culturas de leveduras sendo 35 (26,7%) internos no alojamento conjunto 23 (17,6%) internos no alojamento mãe-canguru e 73 (55,7%) internos no Berçário de Alto Risco. Foram identificadas 13 espécies pertencentes a três gêneros *Candida*, *Rhodotorula* e *Trichosporon*. No alojamento conjunto 30 (85,7%) foram de *Candida* spp destacando-se *C. parapsilosis* 15 (42,9%), 1 (2,9%) de *R. mucilaginosa* e 4 (11,4%) *Trichosporon*, sendo 2 (5,7%) *T. cutaneum* e 2 (5,7%) *T. variabile*. No alojamento mãe-canguru 20 (87%) foram de *Candida* spp. prevalecendo *C. parapsilosis* 10 (43,5%), 1 (4,3%) de *R. mucilaginosa* e 2 (8,7%) de *T. cutaneum*. No Berçário de Alto Risco 66 (90,4%) foram de *Candida* spp. destacando-se *C. albicans* 28 (38,4%), 6 (8,2%) de *R. mucilaginosa* e 1 (1,4%) de *T. cutaneum*. De 09 amostras de sangue foram isoladas leveduras prevalecendo 5 (55,5%) de *C. pelliculosa*.

Palavras Chaves: Levedura, Neonato, Microbiota e Sangue.

ABSTRACT

When the neonate is born, it enters in contact with fungus and others microorganisms proceeding from maternal microbiota and others sources. The skin is the first organ which enters in contact with those microorganisms. It acts like an interface between the internal and external environments, offers specials functions to human survival. When the fungus begin to integrate the human microbiota, they could pass opportunely from saprobios to pathogenics, which promote in variable clinical results. The objective of this work is detect species of yeasts in internals newborns at Neonatal Unit from Institute Materno Infantil de Pernambuco (IMIP). Epidemic flakes were collected from 93 newborns by friction under the skin with “swab” and 37 blood samples were collected by puncture. All blood samples were proceeded from High Risk Nursery. It was made direct examination in blood samples and all microorganisms species were cultivated in agár Sabouraud surface added cloranfenicol. From clinical samples, 131 yeast cultures were obtained : 35 (26,7%) internal newborn from Joint Accommodation, 23 (17,6%) internal ones from Kangaroo Mother Care Accommodation and 73 (55,7%) internal ones from Nursery High Risk. Thirteen species belonging to those three genres, *Candida*, *Rhodotorula* and *Trichosporon* were identified. At Joint Accommodation 30 (85,7%) were *Candida* spp. In this case, 15 of *C. parapsilosis* (42,9%), 1 (2,9%) of *R. mucilaginosa* and 4 (11,4%) *Trichosporon* (2 *T. cutaneum* (5,7%) and 2 *T. variabile* (5,7%)) were predominated species. At Kagaroo Mother Care Accommodation, 20 (87%) were *Candida* spp, prevailed species were 10 of *C. parapsilosis* (43,5%), 1 (4,3%) of *R. mucilaginosa* and 2 (8,7%) of *T. cutaneum* . At High Risk Nursery 66 (90,4%) were *Candida* spp, 28 of *C. albicans* (38,4%), 6 (8,2%) of *R. mucilaginosa* e 1 (1,4%) of *T. cutaneum*. From 09 blood samples, species of yeasts were isolated, prevailing 5 (55,5%) of *C. pelliculosa*.

KEYWORDS: Yeast, Neonate, Microbiota and Blood.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	14
2.1 Geral	14
2.2 Específicos	14
3. REVISÃO DA LITERATURA	15
4. CASUÍSTICA E MÉTODOS	17
4.1 Local de Desenvolvimento da Pesquisa	17
4.2 Unidades de Internamento e Grupos de Neonatos Analisados	17
4.3 Áreas do Corpo Analisadas dos Neonatos quanto a Ocorrência de Leveduras	18
4.4 Sangue	18
4.5 Inspeção de Leveduras em Áreas do Corpo de Neonatos	18
4.6 Procedimentos Laboratoriais	18
4.6.1 Exame direto	18
4.6.2 Obtenção de Culturas	19
4.6.3 Identificação e Classificação	19
4.7 Meios de Cultura	19
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
6. CONCLUSÕES	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

1. INTRODUÇÃO

A vida pré-natal desenvolve-se em ambiente protegido através da membrana amniótica, embora durante a gestação o feto possa ser acometido por doenças infecciosas transmitidas por via transplacentária. Após a ruptura da bolsa amniótica, no parto vaginal, o neonato entra em contato com a microbiota materna, vaginal e cutânea e no parto cesariano as fontes de contato são pertinentes ao meio ambiente, portanto qualquer tipo de parto, após essa exposição evoluirá para um processo de colonização, conhecida como microbiota transitória, que inicialmente se dá de forma caótica e desordenada, sucedido pelo estabelecimento de uma microbiota característica (Leyden et al., 1982; Walker; Claqué, 1986; Farah et al. 1993; Osato, 1995).

Após o parto, outras fontes pertinentes ao meio ambiente expõem o neonato ao contato com microrganismos, como fungos, bactérias, protozoários e vírus os quais podem ser transmitidos através das pessoas que entram em contato direto com o neonato, com a transferência do recém nascido para outro berçário, através da contaminação de alimentos e medicamentos, por disseminação aérea e contaminação através da complexa tecnologia invasiva, como cateteres, sistemas de hidratação e alimentação parenteral, equipamentos de terapia inaladora, aparelhos de pressurização e aspiração (Mackowiak, 1982; Farah et al. 1993).

Os neonatos prematuros possuem pele imatura incapaz de exercer o papel de barreira, resultando na absorção de toxinas do meio ambiente e comprometendo a defesa antimicrobiana. Além disso, dispositivos de apoio à vida, como coleta de sangue e aplicação de substâncias tópicas, proporcionam injúrias à pele, permitindo que parte significativa da morbidade e mortalidade desses neonatos esteja ligada a práticas inadequadas que provocam traumas ou alterações na função normal da pele (Harpin, V. A., Rutter, N., 1983).

Considerando a importância deste tegumento como uma barreira contra infecção e sua contribuição no controle hídrico e de temperatura, a proteção e a preservação da pele dos recém nascidos são decisivas na sua boa evolução, assim a pele atua como uma interface entre o meio interno e o meio ambiente oferecendo funções especiais para sobrevivência do ser humano (Darmstadt; Dinulos, 2000).

O pH da pele torna-se ácido a partir do 4º dia de nascimento do neonato de termo, formando uma camada na sua superfície, que tem propriedade bactericida. Os prematuros com 24 semanas de gestação ou menos não possuem essa camada ácida protetora, ficando mais susceptíveis a infecções (Harpin; Rutter, 1983).

No meio ambiente ou integrantes da microbiota do homem, os fungos podem passar oportunamente de sapróbios a patogênicos, provocando quadros clínicos variáveis, desde processos superficiais benignos a quadros generalizados, algumas vezes fatais, se não forem diagnosticados e tratados imediatamente de maneira correta (Zaitz et al., 1998; Lacaz et al., 2002).

Embora vários fungos possam estar envolvidos nas infecções graves de crianças, as leveduras ainda assumem um papel de destaque, como *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* e outras espécies, as quais são importantes patógenos nosocomiais (Fowler et al., 1998; Gupta et al., 2001; Dorko et al., 2002; Chapman, 2003; Roilides et al., 2003).

Neonatos que necessitam de cuidados em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) são susceptíveis às infecções fúngicas. Quanto maior o número de fatores de risco maior a gravidade clínica, e maiores as chances das infecções fúngicas se disseminarem através da corrente sanguínea caracterizando uma fungemia, sendo nesses casos candidemia a mais frequentemente diagnosticada, tornando-se indiscutível a relevância desses agentes entre os causadores de infecções hospitalares (Jehn, 2000).

A semelhança na apresentação clínica entre a sepse bacteriana e fúngica dificulta o diagnóstico e a decisão de escolha do tratamento, levando, algumas vezes, ao uso de esquemas com múltiplas drogas e conseqüentemente aumento do tempo de permanência, dos efeitos colaterais e custos hospitalares. Como a eficácia terapêutica depende da precocidade do diagnóstico, a identificação de fatores de risco poderá auxiliar na abordagem mais racional para estes pacientes (Krebs et al., 1994).

Os cuidados preventivos nos vários níveis de atenção à saúde, principalmente em locais de terapia pediátrica, são fundamentais, permitindo melhor desempenho e qualidade na prestação da assistência integral à saúde da criança (Aragão, 1998).

2 - OBJETIVOS

2.1 Geral

Detectar leveduras em neonatos internos na Unidade Neonatal Interna do Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP), Recife - PE.

2.2 Específicos

- Detectar leveduras em diferentes áreas do corpo de neonatos internos no Alojamento Conjunto e no Alojamento Mãe-Canguru do IMIP;
- Detectar leveduras em diferentes áreas do corpo e no sangue de neonatos internos no Berçário de Alto Risco do IMIP;
- Verificar se ocorre mais de uma espécie de levedura por área do corpo;
- Verificar qual espécie que prevalece em cada área do corpo;
- Verificar em quais áreas do corpo prevalecem leveduras;
- Verificar quais espécies ocorrem nos três grupos de pacientes e qual a espécie prevalente em cada grupo;
- Comparar os resultados obtidos entre as três unidades estudadas.

3. REVISÃO DA LITERATURA

A colonização de leveduras na criança é afetada por uma variedade de práticas comuns em unidades de cuidados intensivos neonatais. Fatores microbianos aumentam a colonização, inclusive a habilidade da capacidade de aderência ao epitélio humano (Bendel, 2003).

Infecções fúngicas disseminadas, antes consideradas raras, têm sido descritas com maior frequência em unidades de terapia intensiva neonatal (Johnson et al., 1984). A elevada incidência correlaciona-se com o aumento da sobrevivência dos neonatos de baixo peso, inferior a 1500 g, procedimentos invasivos e a utilização de antibioticoterapia de amplo espectro, predispõem a infecções fúngicas sistêmicas. Mesmo com os avanços na terapêutica e cuidados de terapia intensiva, a incidência de sepse neonatal permanece elevada (Krebs et al., 1994).

Espécies de *Candida* colonizam a pele e membrana mucosa rapidamente e em cerca de 60% dos neonatos extremamente doentes a infecção invasiva pode progredir. Infecção fúngica responde por 9% de casos de sepse tardia em crianças que pesam menos de 1500 g e estão associadas a uma taxa de mortalidade de 28%, quando comparada com 7% entre crianças nas quais não houve desenvolvimento de infecção. (Baley et al., 1986; Baley, 1991; Stoll, et al., 1996; Stoll, et al., 1999; Kicklighter, et al., 2001).

Gagneur et al., (2001) em uma Unidade de Cuidado Intensivo Neonatal de um hospital universitário desenvolveram um trabalho com neonatos prematuros, a fim de verificar a relação entre colonização e infecção sistêmica por fungos. Em 61 (79.6%) desses neonatos foi detectada colonização por fungos através dos espécimes do reto, boca e pele retro-auricular.

Espécies de leveduras têm sido isoladas de infecções nosocomiais, destacando-se as espécies de *Candida*, principalmente de ambientes de alto risco em unidades de cuidados intensivos, além de outros locais do hospital, constituindo-se em um problema epidemiológico envolvendo vários fatores de risco (Lacaz et al, 2002).

Os neonatos e os prematuros possuem sistema imune imaturo e consequentemente estão mais expostos a riscos de infecções, sobretudo nos casos em que há necessidade de equipamentos de suporte e/ou procedimentos (Gillio, 1994).

Hostetter, (1994) da Faculdade de Medicina da Universidade de Yale, New Haven, Connecticut, revisando a epidemiologia e o tratamento das infecções fúngicas, constatou que os neonatos prematuros apresentam alto risco para prognóstico desfavorável diante das infecções fúngicas, devido à imaturidade do timo apresentando, em consequência, defeitos funcionais nas células T, as quais apresentam ao lado dos neutrófilos, um papel crítico para a prevenção destas infecções.

De acordo com Cetta et al. 1991 em 80% dos neonatos que nascem prematuramente ocorre alguma injúria na pele até o primeiro mês de vida.

Stoll et al., (1996) informam que aproximadamente 25% de todos os prematuros de baixo peso, terão ao menos um episódio de sepse até o 3º dia de vida, sendo a pele, devido a sua imaturidade, a principal porta de entrada.

Nos países em desenvolvimento a prevalência de sepse em neonatos prematuros é de 30 – 60% com uma mortalidade de 40 – 70%, sendo a sepse a principal causa de mortalidade (Barllett et al, 1991).

No mundo aproximadamente 350 mil prematuros morrem em função de sepse e meningite, sendo 50% dos óbitos na primeira semana de vida, quando a função de barreira da epiderme está mais comprometida (Bocchetti et al., 1997).

Alves et al., (1990) afirmam que uma das principais causas de hospitalização e de óbito em crianças é a sepse, apesar dos avanços na terapêutica, continua elevada a morbidade e mortalidade.

4 - CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 Local de Desenvolvimento da Pesquisa

Este trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Micologia, Laboratório da Pós-graduação em Biologia de Fungos e no Instituto Materno Infantil de Pernambuco, na Unidade Neonatal Interna, que atende aos neonatos procedentes da maternidade e são encaminhados para o Alojamento Conjunto, Alojamento Mãe-Canguru e Berçário de Alto Risco de acordo com a clínica de cada paciente.

4.2 Unidades de Internamento e Grupos de Neonatos Analisados

O Alojamento Conjunto, com 35 leitos e uma média mensal de 250 atendimentos, é a unidade onde ocorre à permanência contínua do neonato sadio junto à mãe, permitindo cuidados a ambos no mesmo local e instruções a ela, que sob vigilância, participa ativamente do atendimento a seu filho. Destina-se a receber neonatos com peso ao nascimento maior que 2500g, sadios ou com patologias de baixo risco.

O Alojamento Mãe-Canguru, com 18 leitos e uma média mensal de 10,7 admissões tem como objetivo favorecer o contato precoce entre mães e filhos, reduzir o tempo de permanência dos prematuros no Berçário de Alto Risco e estimular o aleitamento materno. São atendidos nessa unidade neonatos prematuros, com peso ao nascimento entre 1000 e 2500g, que apresentam estabilidade clínica e adequado controle térmico.

O Berçário de Alto Risco, com 45 leitos e uma média mensal de 160,5 admissões mensais, destina-se a neonatos com grande diversidade de patologias, desde problemas não infecciosos, àqueles que saíram da fase aguda da doença, mas ainda necessitam de cuidados específicos de enfermagem, aos de alto risco, que precisam de recursos físicos e humanos especializados para prestação de cuidados médicos hospitalares constantes.

4.3 Áreas do Corpo Analisadas dos Neonatos quanto a Ocorrência de Leveduras

- Couro cabeludo;
- Pálpebras;
- Vestíbulos nasais;
- Orelhas;
- Interlábios;
- Pescoço;
- Axilas;
- Interdígito das mãos;
- Dobra dos braços;
- Cicatriz umbilical;
- Virilhas;
- Dobra das pernas;
- Interdígito dos pés;

4.4 Sangue

Atendendo às solicitações de médicos foram analisadas amostras de sangue de neonatos do Berçário de Alto Risco, essas amostras foram coletadas por profissionais habilitados para atender a esse grupo de pacientes, conforme protocolo do serviço.

4.5 Inspeção de Leveduras em Áreas do Corpo de Neonatos

Para inspeção de leveduras em áreas clinicamente sãs do corpo dos neonatos, foi utilizado o método de fricção com “swab” umedecido em solução fisiológica, ambos esterilizados. Após a fricção, o swab era acondicionado em tubos contendo solução fisiológica esterilizada.

A fricção com swab umedecido teve como finalidade coletar células de leveduras presentes em cada área analisada do corpo do neonato.

4.6 Procedimentos Laboratoriais

4.6.1 Exame direto

Das amostras de suspensão em solução fisiológica, não foi realizado o exame direto.

Das amostras de sangue o exame direto foi realizado clarificado com solução aquosa a 20% de hidróxido de potássio (KOH), e quando necessário contrastada com Nanquim.

4.6.2 Obtenção de Culturas

O semeio das amostras de soluções fisiológicas foi realizado com “swab”, usado na fricção das áreas analisadas do corpo, na superfície de ágar Sabouraud adicionado de extrato de levedura e cloranfenicol contido em placas de Petri que foram mantidas a temperatura ambiente (T.A.) ($28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$).

Das amostras de sangue foram semeados 0,5ml na superfície do meio BHI contido em placas de Petri e incubadas a $36,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Os semeios das amostras foram acompanhados por até 15 dias. À medida que surgiam as colônias, era determinada as unidades formadoras de colônias (UFC), repicadas e purificadas para posterior identificação.

4.6.3 Identificação e Classificação

Para identificação e classificação foram adotadas as características macroscópicas, microscópicas e fisiológicas das leveduras, segundo os critérios preconizados por Lodder (1970), Kreger-van Rij (1984) e Barnnet et al. (1990).

4.7 Meios de Cultura

Isolamento

- Ágar Sabouraud + Extrato de Levedura (YE) + Cloranfenicol;
- Ágar BHI.

Crescimento e Manutenção

- Ágar Sabouraud + YE.

Identificação

- Ágar Sabouraud + YE;
- Extrato de Malte;
- Água Bile de Boi;
- Ágar Christsen;
- Ágar CaCO_3 ;
- Meio de Gorodkova.

Prova de Assimilação de Hidratos de Carbono e Fontes de Nitrogênio

Auxograma

- Meio Básico C;
- Meio Básico N.

Prova de Fermentação de Açúcares

Zimograma

- Água Peptonada;
- Solução de Açúcar.

Os meios de cultura foram preparados segundo LACAZ *et al.* (2002) e mantidos à temperatura ambiente durante 72 horas para controle de esterilização.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisados um total de 95 neonatos, perfazendo 632 amostras coletadas, sendo 595 de áreas externas do corpo e 37 de sangue.

Dos neonatos analisados foram obtidas 131 amostras de leveduras, sendo 35 (26,7%) dos neonatos internos no Alojamento Conjunto, 23 (17,6%) dos internos no Alojamento Mãe-Canguru e 73 (55,7%) dos internos no Berçário de Alto Risco (Figura 1).

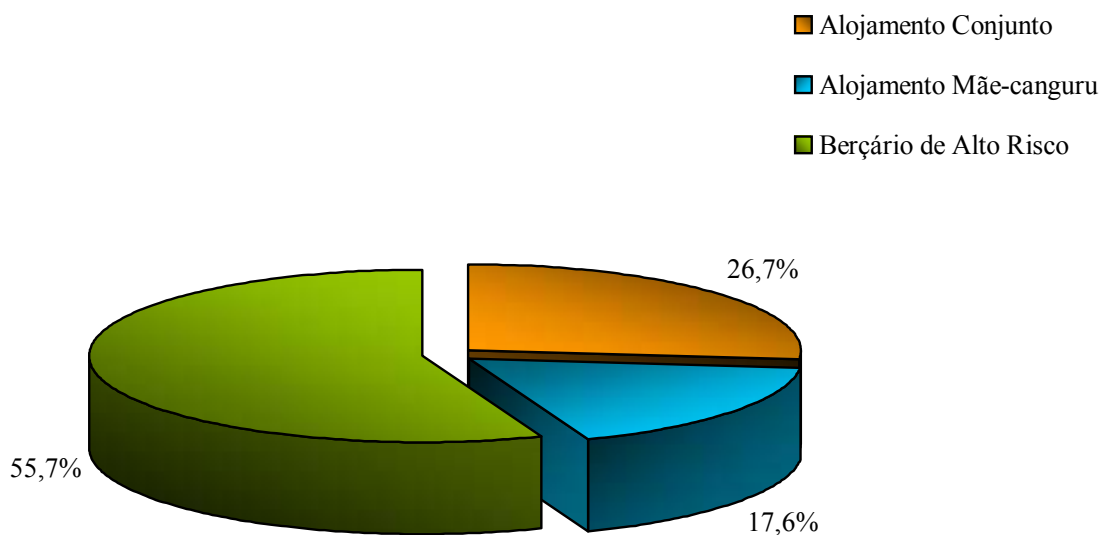


Figura 1. Isolamento de leveduras de neonatos em relação à unidade de internação, IMIP, Recife - PE.

Foram isoladas as espécies:

- *Candida albicans* (Robin) Berkhout (1923);
- *C. colliculosa* (Hartmann) Meyer & Yarrow (1978);
- *C. guilliermondii* (Castellani) Langeron & Guerra (1938);
- *C. haemulonii* (van Uden & Kolipinski) Meyer & Yarrow (Yarrow & Meyer 1978);
- *C. lusitaniae* van Uden & do Carmo-Sousa (1959);
- *C. maritima* (Siepmann) van Uden & Buckley (Meyer & Ahearn 1983);
- *C. membranaefasciens* (Lodder & Kreger-van Rij) Wickerham & Burton (1954);
- *C. parapsilosis* (Ashford) Langeron & Talice (1932);
- *C. pelliculosa* Redaelli (1925);
- *C. tropicalis* (Castellani) Berkhout (1923);
- *Rhodotorula mucilaginosa* (Jørgensen) Harrison (1928);
- *Trichosporon cutaneum* (de Beurmann et al.) Ota (1926);
- *T. variable* (Lindner) Delitsch (Lembke, 1943).

Alojamento Conjunto

Foram analisados nove neonatos internos no Alojamento Conjunto, de 7 (77,8%) foram isoladas leveduras (Figura 2).

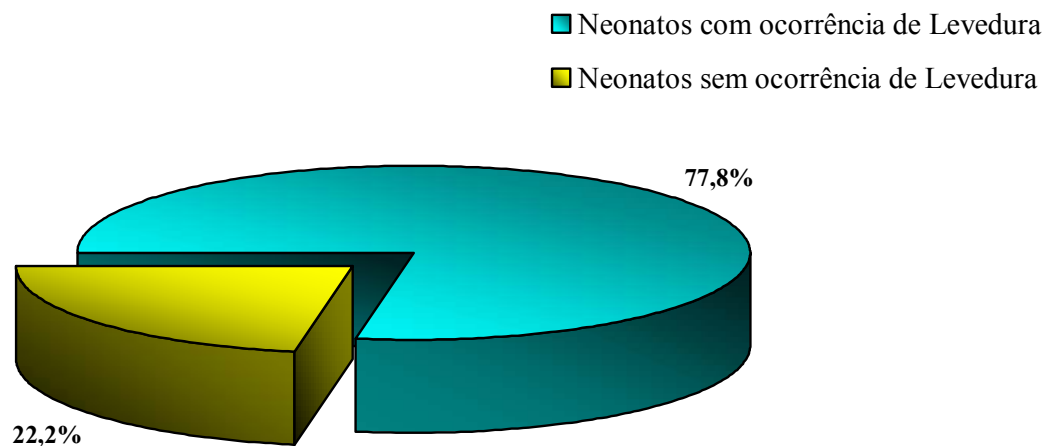


Figura 2. Ocorrência de leveduras em neonatos internos no Alojamento Conjunto, IMIP, Recife – PE.

Foram isoladas dos neonatos do Alojamento Conjunto, *C. albicans* 6 (17%), *C. haemulonii* 1 (2,9%), *C. lusitaniae* 5 (14,3%), *C. maritima* 2 (5,7%), *C. membranaefasciens* 1 (2,9%), *C. parapsilosis* 15 (42,9%); *R. mucilaginosa* 1 (2,9%); *T. cutaneum* 2 (5,7%) e *T. variable* 2 (5,7%) de (Figura 3).

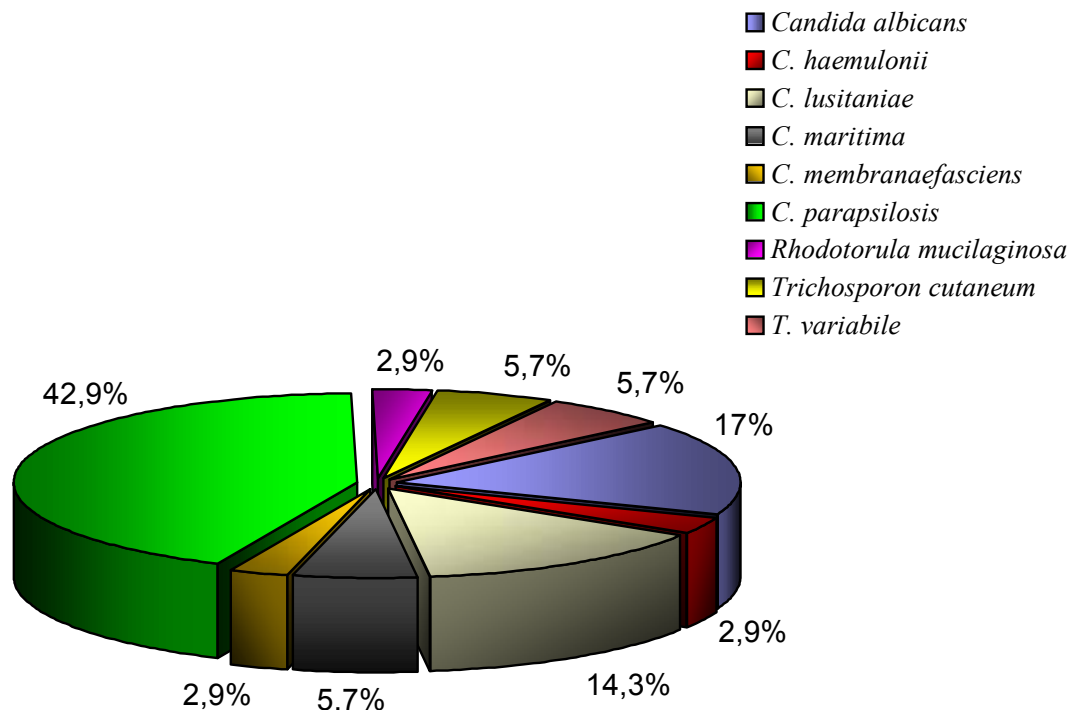


Figura 3. Leveduras isoladas dos neonatos internos no Alojamento Conjunto, IMIP, Recife - PE.

A figura 4 demonstra a ocorrência de leveduras em relação ao percentual das espécies e respectivas áreas do corpo.

A maior prevalência de leveduras em relação à área do corpo, ocorreu no pescoço tendo sido obtida 1 amostra (2,9%) de *C. albicans*, 1 (2,9%) *C. lusitaniae*, 1 (2,9%) *C. maritima*, 2 (5,7%) *C. parapsilosis* e 1 (2,9%) *T. variable*. Além do pescoço foi constatado que nos interlábios e interdígito das mãos foi destacado o mesmo percentual, entretanto nos interlábios foram obtidas as seguintes espécies: 1 (2,9%) *C. lusitaniae*, 2 (5,7%) de *C. parapsilosis* e 1 (2,9%) *T. variable*. Dos interdígito das mãos foram obtidas 1 (2,9%) de *C. haemulonii*, 1 (2,9%) de *C. maritima* e 2 (5,7%) de *C. parapsilosis*.

C. albicans foi isolada de orelhas, pescoço, dobra dos braços, virilhas e dobra das pernas, *C. haemulonii* foi isolada apenas de interdígito das mãos, *C. lusitaniae* foi isolada de vestibulo nasal, orelhas, interlábios, pescoço e dobra dos braços, *C. maritima* foi isolada apenas do pescoço e dos

interdígito das mãos, *C. membranaefasciens* foi isolada apenas das pálpebras, *C. parapsilosis* foi isolada de todas as áreas exceto nas orelhas; *R. mucilaginosa* foi isolada apenas do couro cabeludo; *T. cutaneum* foi isolado das axilas e dobra das pernas, *T. variabile* ocorreu nas áreas interlabiais e pescoço. Não foram detectadas leveduras dos interdígito dos pés.

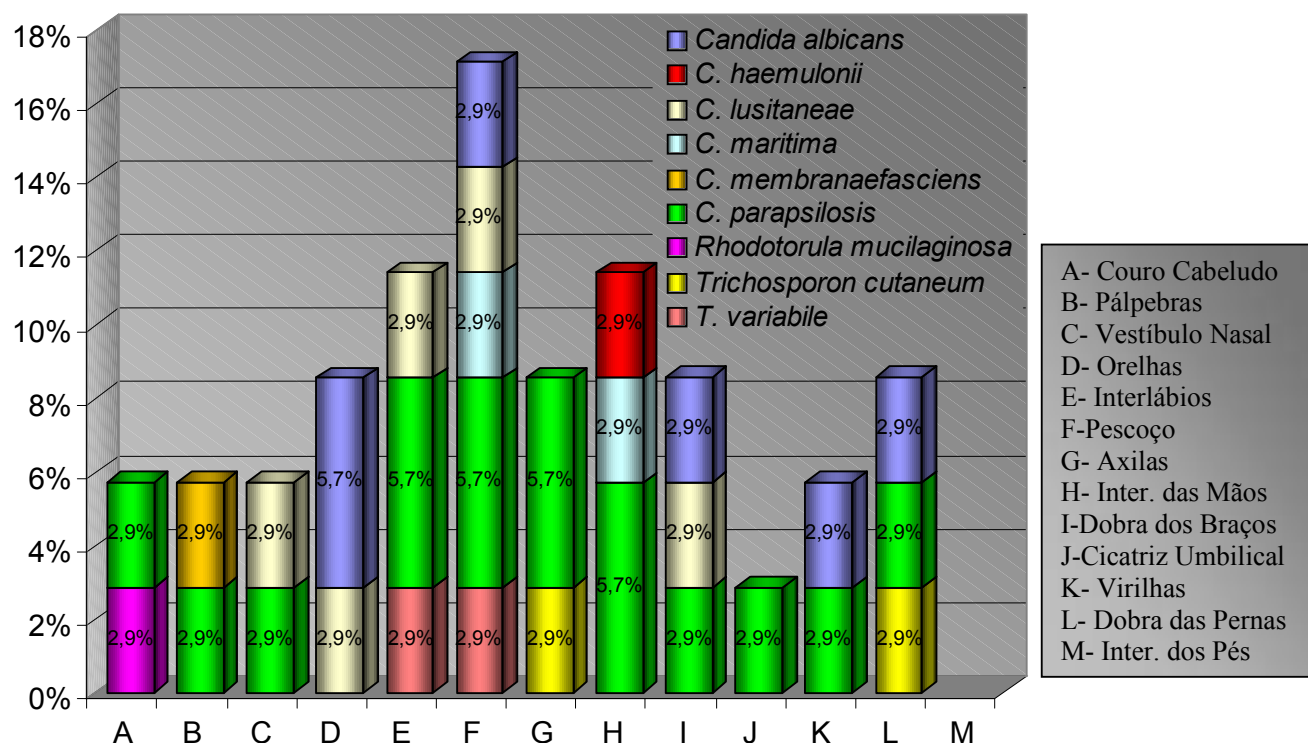


Figura 4. Leveduras isoladas de áreas do corpo de neonatos internos no Alojamento Conjunto, IMIP, Recife – PE.

Das áreas do corpo dos neonatos internos no Alojamento Conjunto foram obtidas 1231 UFC, sendo 2 (0,16%) de couro cabeludo, 4 (0,32%) de pálpebras, 3 (0,24%) de vestíbulo nasal, 126 (10,2%) de orelhas, 16 (1,3%) interlábios, 258 (21%) de pescoço, 38 (3,1%) das axilas, 53 (4,3%) dos interdígito das mãos, 705 (57,3%) das dobras dos braços, 1 (0,08%) da cicatriz umbilical, 17 (1,4%) das virilhas e 8 (0,6%) da dobra das pernas (Tabela 1).

Tabela 1. Unidades formadoras de colônias de espécie de leveduras isoladas de áreas do corpo de neonatos internos no Alojamento Conjunto, IMIP, Recife – PE.

Neonato	Áreas do Corpo													
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	Total
1	0	0	0	3	0	2	0	0	660	1	0	0	0	666
2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
3	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	4
4	1	0	0	116	0	241	26	36	12	0	16	0	0	448
5	0	2	2;1	0	5;7; 2	9;2	11;1	6	33	0	1	0	0	82
6	1	2	0	0	0	2	0	10	0	0	0	6;1	0	22
7	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	1	0	8
Total	2	4	3	125	16	258	38	53	705	1	17	8	0	1231

Candida albicans; *C. haemulonii*; *C. lusitaniae*; *C. maritima*; *C. membranaefasciens*; *C. parapsilosis*; *Rhodotorula mucilaginosa*; *Trichosporon cutaneum*; *T. variable*; A= couro cabeludo; B = pálpebras; C = vestibulo nasal; D = orelhas; E = interlabiais; F = pescoço; G = axilas; H = inter. das mãos; I = dobra dos braços; J = cicatriz umbilical; K = virilhas; L = dobra das pernas; M = inter. dos pés

As áreas com maiores números de UFC foram obtidos de: dobra dos braços 705 UFC, 660 (93,6%) de *C. albicans*, 12 (1,7%) de *C. parapsilosis* e 33 (4,7%) de *C. lusitaniae*; do pescoço com 258 UFC, sendo 2 (0,8%) *C. albicans*, 2 (0,8%) de *C. maritima*, 250 (96,8%) de *C. parapsilosis*, 2 (0,8%) de *C. lusitaniae* e 2 (0,8%) de *T. variable*; das orelhas com 126 UFC, sendo 119 (94,3%) de *C. albicans* e 7 (5,7%) de *C. lusitaniae*, provavelmente devido às referidas áreas apresentarem grande umidade facilitando o desenvolvimento desses organismos.

Menores números de UFC foram obtidos de cicatriz umbilical com 1 (0,08%) de *C. parapsilosis*; couro cabeludo com 2 (0,16%), sendo 1 (0,08%) de *C. parapsilosis* e 1 (0,08%) de *R. mucilaginosa*.

De um neonato foi isolada uma única espécie de levedura, dos demais, duas ou mais espécies diferentes.

Em dois neonatos foram detectadas leveduras em mais de seis áreas do corpo e em um foi detectada levedura apenas nos vestibulos nasais. Podemos inferir através desse dado, que possivelmente a higiene do neonato não foi adequada.

Apenas nos interdígitos dos pés não foi detectada levedura, provavelmente devido ao uso constante de meias as quais minimizavam o contato com leveduras do ambiente e daqueles que lidavam com os neonatos.

A figura 5 demonstra que *C. albicans* se destacou quanto ao número de UFC com 803 (65,2%). De *C. parapsilosis* foram detectadas 331 UFC (26,9%), entretanto foi a que se destacou em relação à frequência, ocorrendo em todas as áreas do corpo, exceto orelhas e interdígitos dos

pés. *C. haemulonii* e *R. mucilaginosa* foram as espécies com menor número de UFC ambas com 1 (0,08%).

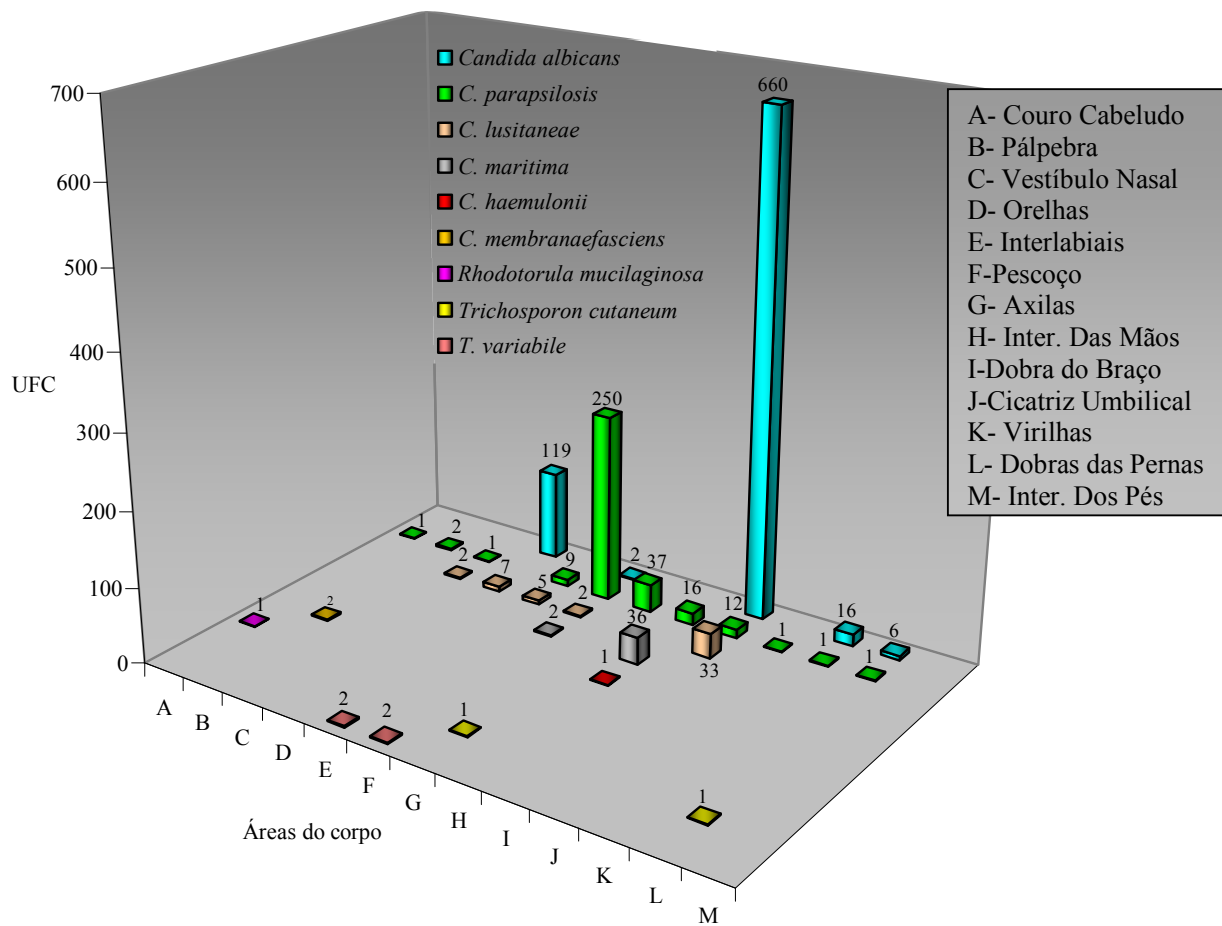


Figura 5. Unidades formadoras de colônias (UFC) das espécies isoladas dos neonatos internos no Alojamento Conjunto, IMIP, Recife - PE em relação às áreas do corpo.

Alojamento Mãe-Canguru

Foram analisados seis neonatos internos no Alojamento Mãe-Canguru, de 5 (83,3%) foram isoladas leveduras (Figura 6).

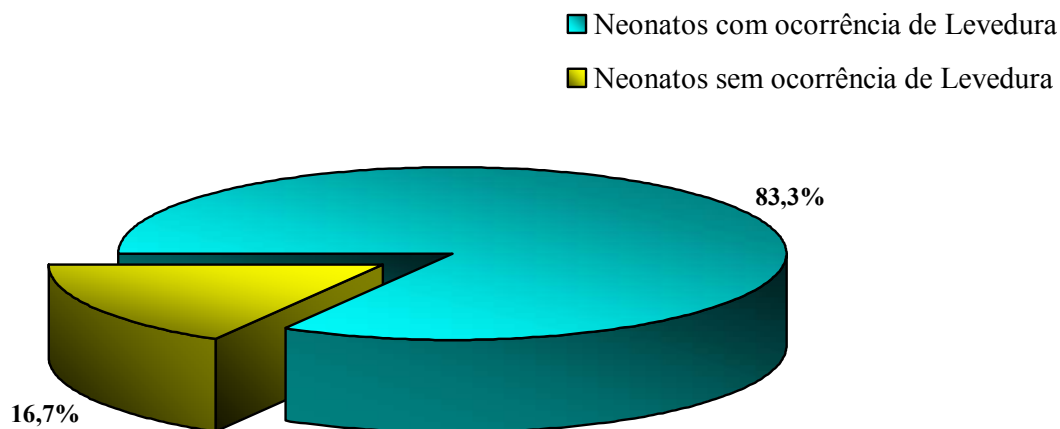


Figura 6. Ocorrência de leveduras em neonatos internos no Alojamento Mãe-Canguru, IMIP, Recife – PE.

Dos neonatos internos no Alojamento Mãe-Canguru foram isoladas *C. lusitaniae* 2 (8,7%), *C. membranaefasciens* 8 (34,8%) e *C. parapsilosis* 10 (43,5%); *R. mucilaginosa* 1 (4,3%) e *T. cutaneum* 2 (8,7%) (Figura 7).

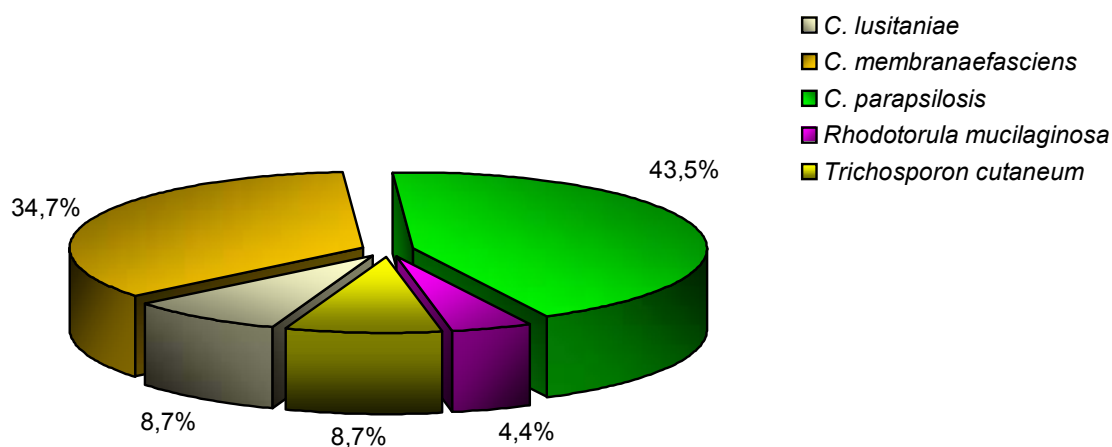


Figura 7. Leveduras isoladas dos neonatos internos no Alojamento Mãe-Canguru, IMIP, Recife - PE.

A figura 8 demonstra a ocorrência de leveduras em relação ao percentual de espécies e respectivas áreas do corpo.

A prevalência de leveduras em relação às áreas do corpo ocorreu nos vestibulos nasais tendo sido isolada 2 (8,7%) amostras de *C. parapsilosis* e 1 (4,4%) *T. cutaneum*; nas orelhas foi isolada 1 (4,4%) *C. lusitaniae* e 2 (8,7%) *C. parapsilosis*, no pescoço foi isolada 1 (4,4%) *C. membranaefasciens*, 1 (4,4%) *C. parapsilosis* e 1 (4,4%) *R. mucilaginosa* e nos interdígitos das mãos foi isolada 2 (8,7%) de *C. membranaefasciens* e 1 (4,4%) de *C. parapsilosis*, de outras áreas como dobra dos braços, cicatriz umbilical e virilhas foram isoladas 2 (8,7%) amostras de leveduras cada, sendo da dobra dos braços 1 (4,4%) *C. lusitaniae* e 1 (4,4%) *C. membranaefasciens*; da cicatriz umbilical 1 (4,4%) *C. parapsilosis* e 1 (4,4%) *C. membranaefasciens* e das virilhas 1 (4,4%) *C. parapsilosis* 1 (4,4%) *T. cutaneum*.

Do couro cabeludo dos neonatos dessa unidade não foram detectadas leveduras.

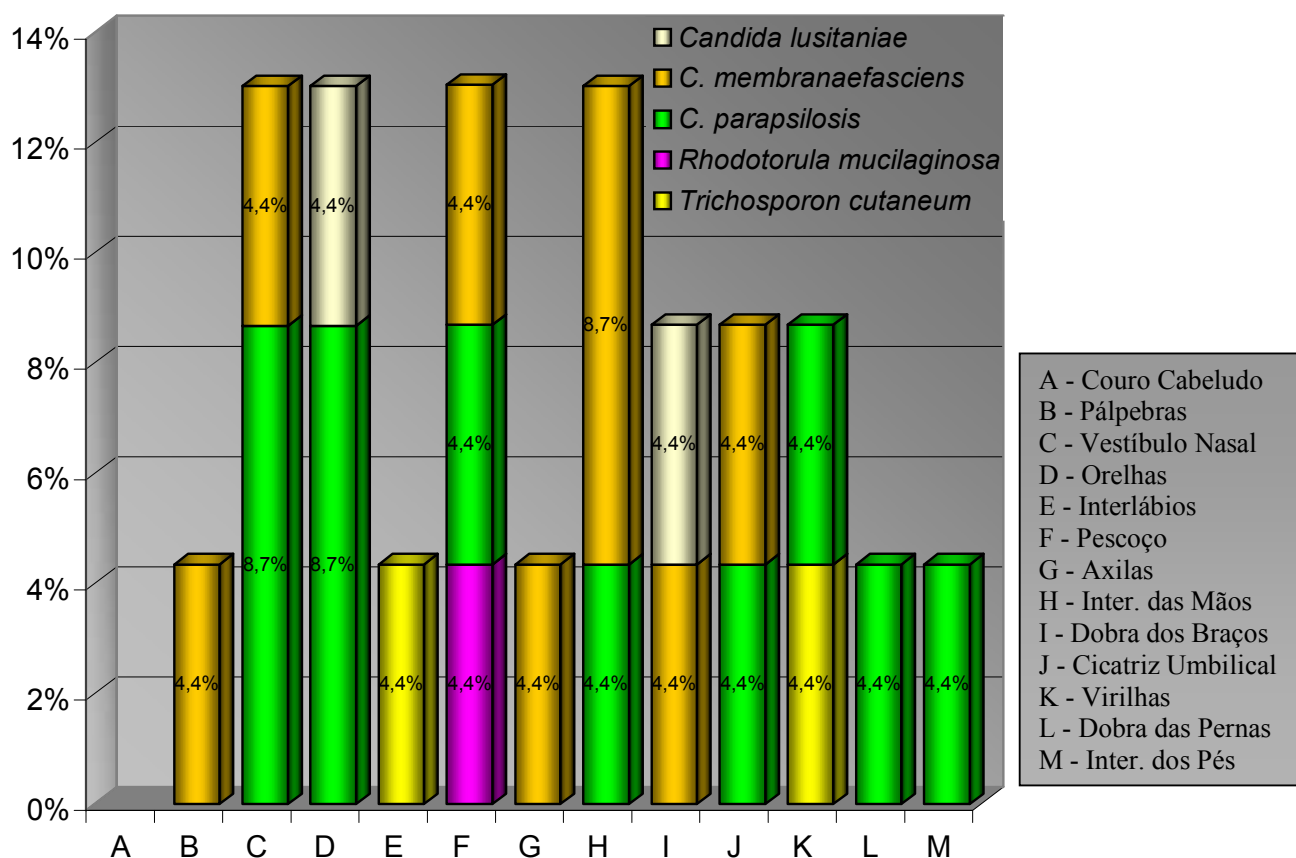


Figura 8. Leveduras isoladas de áreas do corpo de neonatos internos no Alojamento Mãe-Canguru, IMIP, Recife - PE.

Das áreas do corpo dos neonatos internos no Alojamento Mãe-Canguru foram obtidas 2102 UFC, sendo 1000 (47,6%) das pálpebras, 5 (0,23%) do vestíbulo nasal, 15 (0,7%) das orelhas, 5 (0,23%) dos interlábios, 8 (0,38%) do pescoço, 1000 (47,6%) das axilas, 12 (0,57%) dos interdígito das mãos, 23 (1%) das dobra dos braços, 10 (0,47%) da cicatriz umbilical, 10 (0,47%) das virilhas, 4 (0,19%) das dobra das pernas e 10 (0,47%) dos interdígito dos pés.

A tabela 2 demonstra que de dois neonatos foi isolada uma única espécie de levedura um *C. lusitaniae* nas orelhas e um *T. cutaneum* nas virilhas e de outros dois foram detectadas leveduras em mais de cinco áreas do corpo.

Em um neonato foram detectadas 2038 UFC, 21 (1%) *C. lusitaniae* isolada da dobra dos braços, 5 (0,3%) de *T. cutaneum* dos interlábios e 2012 (98,7%) de *C. membranaefasciens*, sendo esta a que ocorreu em maior número de neonatos dessa unidade.

Das pálpebras, interlábios, pescoço, axilas, dobra dos braços, cicatriz umbilical e dobras das pernas, foram detectadas levedura uma única vez.

Apenas do couro cabeludo não foi detectada levedura.

No pescoço de um neonato foram detectadas três espécies, perfazendo um total de 8 UFC, sendo 1 (12,5%) de *C. membranaefasciens*, 5 (62,5%) *C. parapsilosis* e 2 (25%) de *R. mucilaginosa*.

Tabela 2. Unidades formadoras de colônias de espécies de leveduras isoladas de áreas do corpo de neonatos internos no Alojamento Mãe-Canguru, IMIP, Recife – PE.

Neonato	Áreas do Corpo													
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	Total
1	0	1000	3	0	5	0	1000	7	2;21	0	0	0	0	2038
2	0	0	1	3	0	0	0	0	0	5;5	0	0	0	14
3	0	0	1	3	0	5;1;2	0	4;1	0	0	4	4	10	33
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	6
5	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9
Total	0	1000	5	15	5	8	1000	12	23	10	10	4	10	2102

C. lusitaniae; *C. membranaefasciens*; *C. parapsilosis*; *Rhodotoula mucilaginosa*; *Trichosporon cutaneum*; A= couro cabeludo; B = pálpebras; C = vestíbulo nasal; D = orelhas; E = interlabiais; F = pescoço; G = axilas; H = inter. das mãos; I = dobra dos braços; J = cicatriz umbilical; K = virilhas; L = dobra das pernas; M = inter. dos pés.

A figura 9 demonstra que *C. parapsilosis* destacou-se em frequência, sendo detectada em 8 áreas diferentes, num total de 40 UFC, sendo 2 (5%) do vestíbulo nasal, 6 (15%) das orelhas 5 (12,5%) do pescoço, 4 (10%) dos interdígito das mãos, 5 (12,5%) da cicatriz umbilical, 4 (10%) das virilhas 4 (10%) da dobra das pernas e 10 (25%) dos interdígito dos pés.

C. albicans, não foi detectada nos neonatos do Alojamento Mãe-Canguru. Isso pode ter ocorrido devido o baixo quantitativo de pacientes analisados. Considerando que essa espécie é citada na maioria dos trabalhos, tanto nos casos de infecções quanto em colonização.

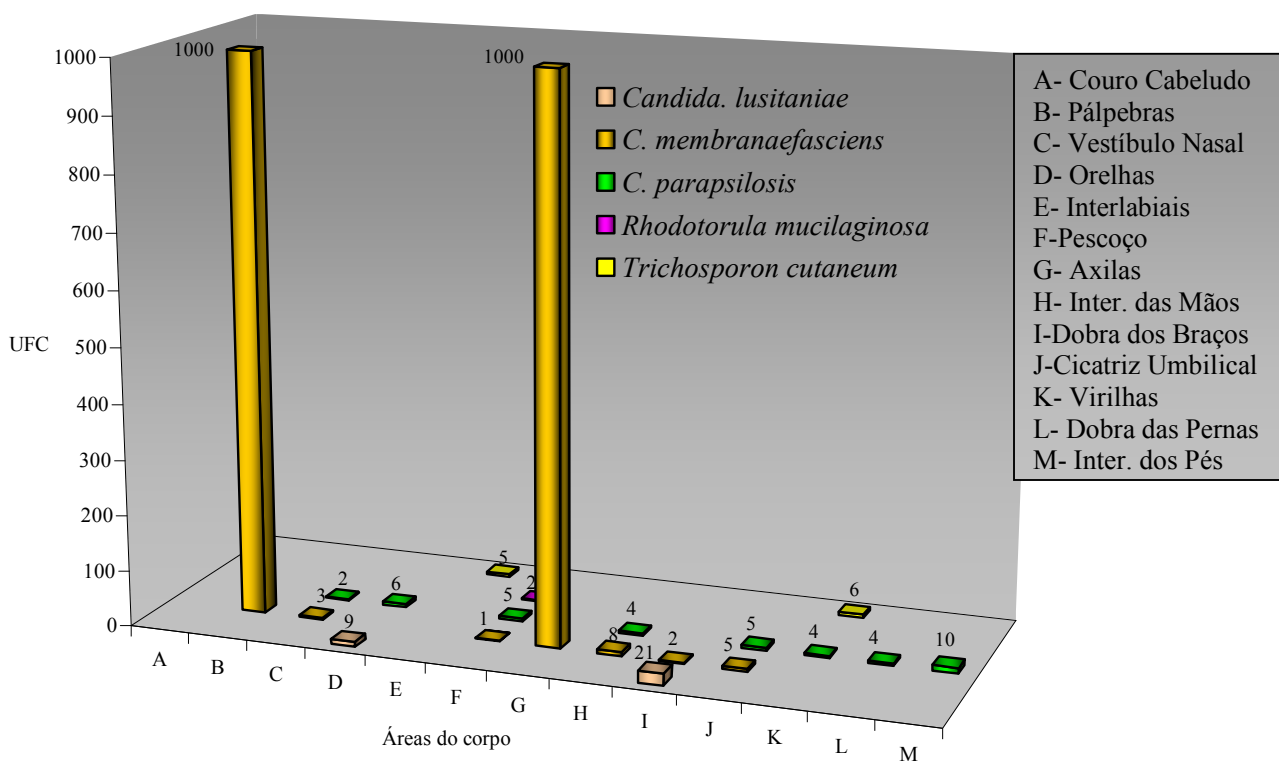


Figura 9. Unidades formadoras de colônias (UFC) das espécies isoladas de neonatos internos no Alojamento Mãe-Canguru, IMIP, Recife - PE em relação às áreas do corpo.

Berçário de Alto Risco

Foram analisados 80 neonatos internados no Berçário de Alto Risco de 45 (56,25%) não foram detectadas leveduras (Figura 10).

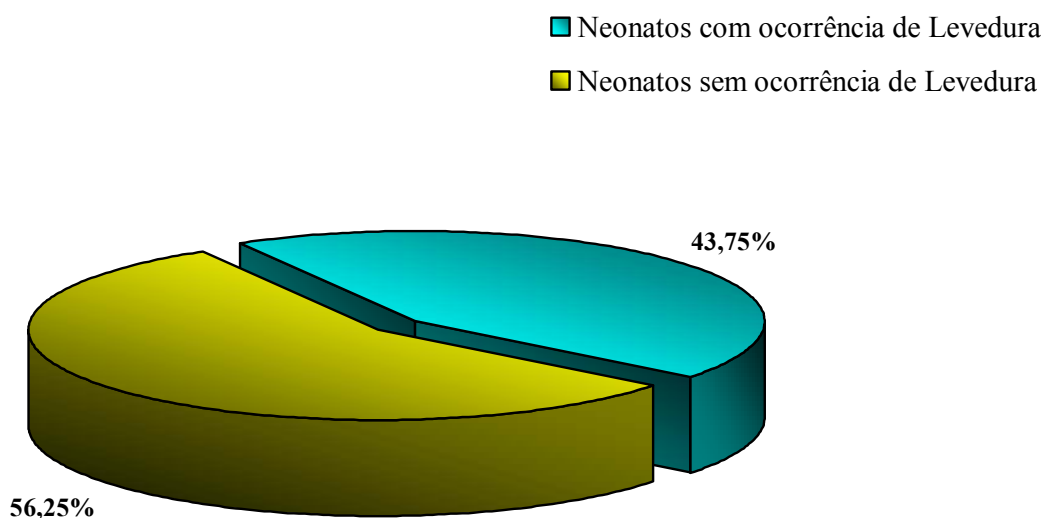


Figura 10. Ocorrência de leveduras em neonatos internos no Berçário de Alto Risco, IMIP, Recife – PE.

Dos neonatos internos no Berçário de Alto Risco foram isoladas *C. albicans* 28 (38,4%), 1 *C. colliculosa* (1,4%), *C. guilliermondii* 2 (2,7%), *C. lusitaniae* 8 (11%), *C. maritima* 5 (6,8%), 3 *C. membranaefasciens* (4,1%), *C. parapsilosis* 12 (16,4%), *C. pelliculosa* 6 (8,2%) e *C. tropicalis*, 1 (1,4%); *R. mucilaginosa* 6 (8,2%) e *T. cutaneum* 1 (1,4%) (Figura 11).

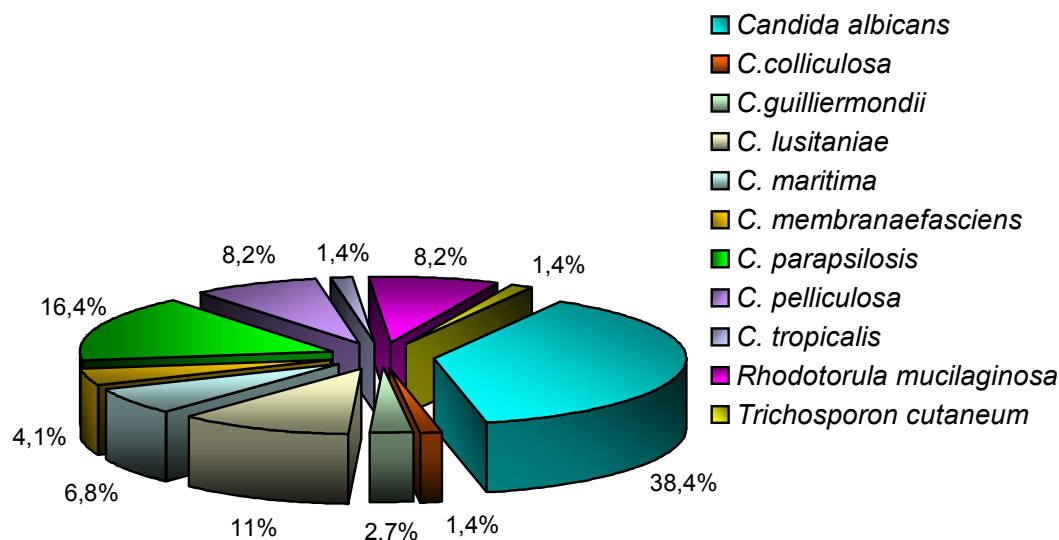


Figura 11. Leveduras isoladas dos neonatos internos no Berçário de Alto Risco, IMIP, Recife - PE.

A figura 12 mostra a relação entre as áreas do corpo e a ocorrência de leveduras isoladas dos neonatos internos no Berçário de Alto Risco, revelando uma maior ocorrência no pescoço, tendo sido obtida *C. albicans* 6 (8,2%), *C. lusitaniae* 3 (4%), *C. maritima* 1 (1,4%), *C. parapsilosis* 5 (6,8%); *R. mucilaginosa* 2 (2,7%) e *T. cutaneum* 1 (1,4%), seguido da virilha com 8 (11%) *C. albicans*, 1 (1,4%) *C. guilliermondii*, 1 (1,4%) *C. lusitaniae*, 1 (1,4%) *C. maritima*, 2 (2,7%) *C. membranaefasciens*, 3 (4%) *C. parapsilosis* e 1 (1,4%) *C. tropicalis* e dobra dos braços com 4 (5,5%) *C. albicans*, 1 (1,4%) *C. colliculosa*, 1 (1,4%) *C. lusitaniae*, 2 (2,7%) *C. maritima*, 1 (1,4%) *C. membranaefasciens*, 1 (1,4%) *C. parapsilosis*, 1 (1,4%) *C. pelliculosa* e 1 (1,4%) *R. mucilaginosa*. Do sangue foram isoladas 9 (12,3%), sendo 2 (22,2%) *C. lusitaniae*, 2 (22,2%) *C. parapsilosis* e 5 (55,6%) *C. pelliculosa*.

C. albicans foi isolada de orelhas, pescoço, dobra dos braços, cicatriz umbilical e virilhas, *C. colliculosa* só foi isolada da dobra dos braços, *C. guilliermondii* foi isolada de cicatriz umbilical e virilhas, *C. lusitaniae* foi isolada de pescoço, dobra dos braços, cicatriz umbilical, virilhas e sangue, *C. maritima*, foi isolada de pescoço, dobra dos braços, cicatriz umbilical e virilhas, *C. membranaefasciens* foi isolada de dobra dos braços e virilhas, *C. parapsilosis* foi isolada de pescoço, dobra dos braços, cicatriz umbilical, virilhas e sangue, *C. pelliculosa* foi isolada de dobra dos braços e sangue, *C. tropicalis* foi isolada apenas das virilhas, *R. mucilaginosa* foi isolada de

orelhas, pescoço, dobra dos braços e cicatriz umbilical, e *T. cutaneum* foi isolada apenas no pescoço.

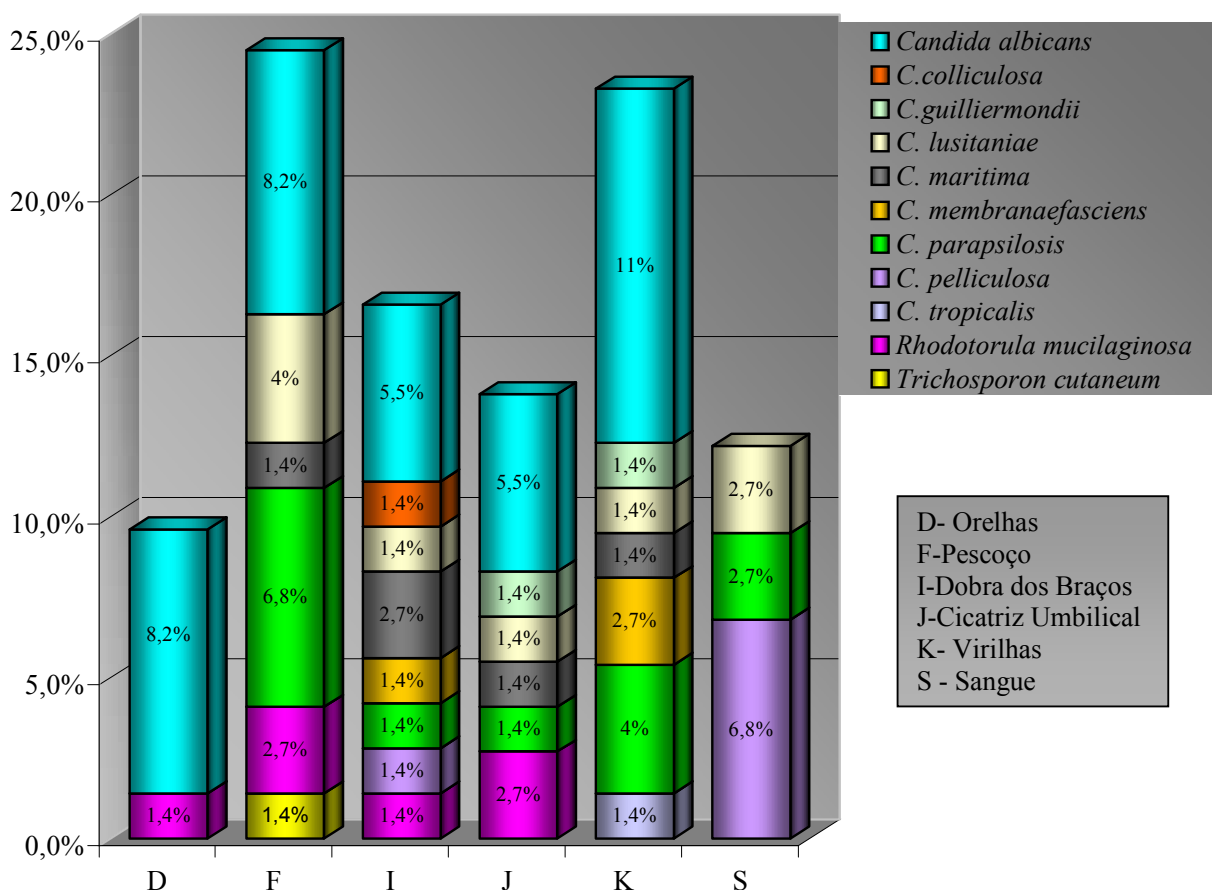


Figura 12. Leveduras isoladas de áreas do corpo e sangue de neonatos internos no Berçário de Alto Risco, IMIP, Recife - PE.

Das áreas do corpo e sangue dos neonatos do Berçário de Alto Risco foram obtidas 26771 UFC, sendo 1017 (3,8%) detectadas de orelhas, 1088 (4%) de pescoço, 3959 (14,8%) de dobra de braços, 5668 (21,2%) de cicatriz umbilical, 7954 (29,7%) de virilhas e 7085 (26,5%) de sangue.

Dos 35 neonatos que tiveram ocorrência de leveduras de 26 foi isolada apenas uma espécie de levedura e de nove foram detectadas mais de uma, sendo de um mesmo neonato isolada até quatro espécies (Tabela 3).

Tabela 3. Unidades formadoras de colônias de espécies de leveduras isoladas de áreas do corpo e sangue de neonatos internos no Berçário de Alto Risco, IMIP, Recife – PE.

Paciente	Áreas do Corpo						
	D	F	I	J	K	S	Total
1	1	0	0	0	0	0	1
2	0	0	0	176	95	0	271
3	0	1	0	0	0	0	1
4	1	3	115	1000	1000	0	2019
5	0	1	2	52	66;1	0	122
6	0	1	0	0	0	0	1
7	0	0	0	0	0	5	5
8	0	1	0	0	0	0	1
9	0	0	0	0	0	80	80
10	0	0	0	400	1000	1000	2400
11	0	0	0	0	0	1000	1000
12	0	0	1000	0	0	0	1000
13	3	0	0	0	0	1000	1003
14	0	0	0	0	202	0	202
15	0	0	0	1000	0	0	1000
16	1	10	19	0	1000	0	1030
17	0	0	0	0	0	1000	1000
18	0	15	0	450	1000	1000	2465
19	0	137	0	0	0	0	1307
20	8	6	0	0	3	0	17
21	0	0	0	0	185	0	185
22	0	3;3	6	0	0	0	12
23	0	0	5	0	0	0	5
24	0	2	0	0	0	0	2
25	1000	650	328	589	1000	0	3567
26	0	0	0	1	0	0	1
27	0	0	0	1000	1000;1000	0	3000
28	0	0	0	0	13	0	13
29	0	140	1000;1000	0	340	0	2480
30	0	31	0	0	8	0	39
31	0	5;2	1	0	41	0	49
32	0	77	11	0	0	0	88
33	3	0	4	0	0	0	7
34	0	0	0	1000	0	1000	2000
35	0	0	468	0	0	1000	1468
Total	1017	1088	3959	5668	7954	7085	26771

Candida albicans; *C. colliculosa*; *C. guilliermondii*; *C. lusitaniae*; *C. maritima*; *C. membranaefasciens*; *C. parapsilosis*; *C. pelliculosa*; *C. tropicalis*; *Rhodotorula mucilaginosa*; *Trichosporon cutaneum*; D = orelhas; F = pescoço; I = dobra dos braços; J = cicatriz umbilical; K = virilhas; S = sangue.

As áreas com maiores números de UFC foram obtidos de: virilhas 7954 UFC, sendo 4324 (54,3%) *C. albicans*, 1000 (12,6%) *C. guilliermondii*, 1 (0,01%) *C. lusitaniae*, 8 (0,1%) *C. maritima*, 1013 (12,7%) *C. membranaefasciens*, 1268 (16%) *C. parapsilosis* e 340 (4,29%) *C. tropicalis*; de cicatriz umbilical com 5668 UFC, sendo 2165 (38,19%) *C. albicans*, 1000 (17,6%) *C. guilliermondii*, 52 (1%) *C. lusitaniae*, 1 (0,01%) *C. maritima*, 1000 (17,6%) *C. parapsilosis* e 1450 (25,6%) *R. mucilaginosa*.

Menores números de UFC foram obtidos de orelhas com 1017, sendo 1014 (99,7%) *C. albicans* e 3 (0,3%) *R. mucilaginosa*; e pescoço com 1088 UFC, sendo 673 (61,8%) *C. albicans*, 279 (25,6%) *C. lusitaniae*, 2 (0,2) *C. maritima*, 39 (3,6%) *C. parapsilosis*, 92 (8,5%) *R. mucilaginosa* e 3(0,3%) *T. cutaneum*. Essas áreas por serem regiões de dobras de grande umidade e de difícil acesso a higienização, promovem uma maior proliferação fúngica, o que justifica o grande quantitativo de leveduras detectadas nesses locais.

C. albicans destacou-se ocorrendo em 13 neonatos sendo em 8 (61,5%) desses detectada como espécie única e de 2 (15,4%) isolada em cinco diferentes áreas do corpo.

C. colliculosa, *C. tropicalis* e *T. cutaneum*, ocorreram em apenas um neonato cada, nas dobra dos braços, virilhas e pescoço respectivamente.

C. tropicalis foi isolada apenas da virilha de um neonato.

A figura 13 demonstra que *C. albicans* destacou-se em número de UFC com 9638 (36%) e em frequência ocorrendo em todas as áreas do corpo analisadas.

As espécies menos frequentes e com menor número de UFC foram *C. colliculosa* 6 (0,02%) e *T. cutaneum* 3 (0,01%).

De todas as áreas do corpo analisadas nessa unidade foi detectada mais de uma espécie de levedura, sendo a orelha a área de onde se obteve o menor diversidade, duas espécies e UFC 1017 (3,8%).

Do sangue foram obtidas 7085 UFC, sendo 1005 (14,2%) *C. lusitaniae*, 2000 (28,2%) *C. parapsilosis* 4080 (57,6%) *C. pelliculosa*.

No sangue dos neonatos *C. pelliculosa* foi a mais frequente, sendo detectada em cinco neonatos e em um destes ocorrendo concomitantemente na virilha.

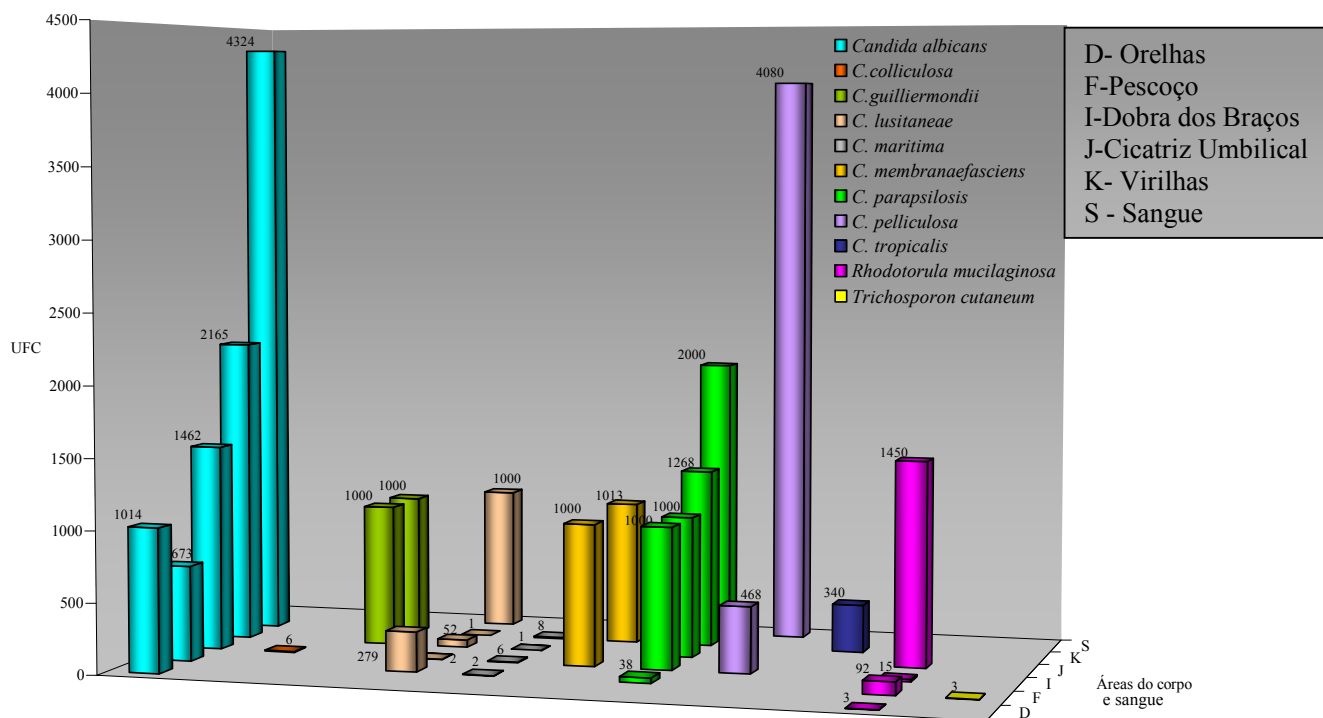


Figura 13. Unidades formadoras de colônias (UFC) das espécies de leveduras isoladas do Berçário de Alto Risco, IMIP, Recife – PE em relação às áreas do corpo e sangue.

Amostras de sangue de 37 neonatos, todos do Berçário de Alto Risco, foram analisadas através de exame direto e cultura para detecção de leveduras.

Em 5 (13,5%) foram detectadas fungemia através do exame direto e cultura e em 4 (10,8%) através de cultura (Figura 14).

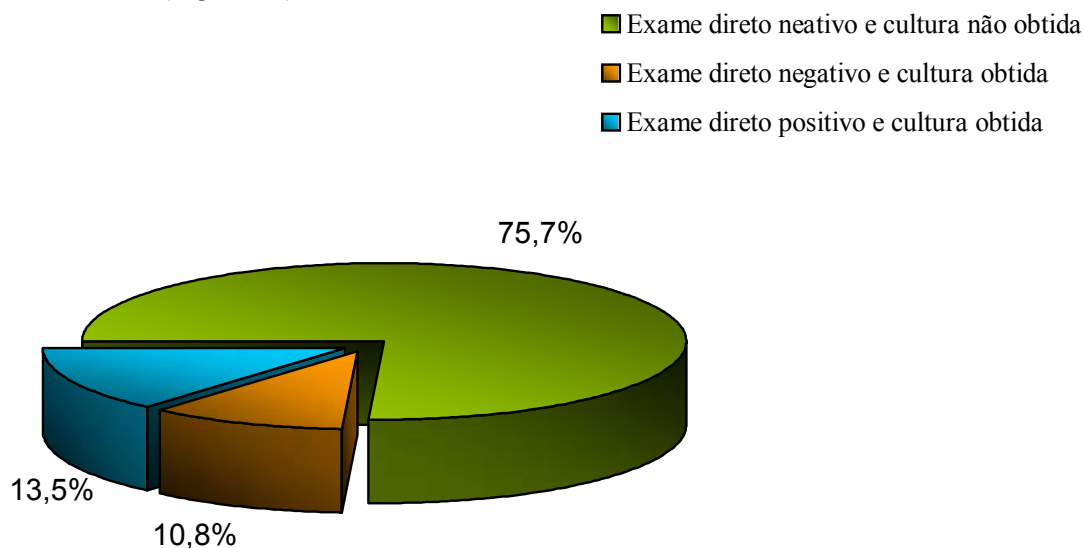


Figura 14. Ocorrência de leveduras em sangue de neonatos internos no Berçário de Alto Risco, IMIP, Recife - PE em relação ao exame direto e

A figura 15 contém a distribuição das espécies de leveduras nas unidades: Alojamento Conjunto, Alojamento Mãe-Canguru e Berçário de Alto Risco.

C. albicans, *C. pelliculosa*, *C. maritima*, *C. haemulonii*, *C. tropicalis*, e *T. variabile* não ocorreram no Alojamento Mãe-Canguru.

O Alojamento Mãe-Canguru foi à unidade em que se obteve o menor número de espécies em relação à quantidade e diversidade.

Do Berçário de Alto Risco se obteve maior número de isolados e maior diversidade de espécies em relação às outras unidades.

C. haemulonii e *T. variabile* ocorreram apenas nas áreas do corpo dos neonatos do Alojamento Conjunto, *C. colliculosa*, *C. guilliermondii*, *C. pelliculosa* e *C. tropicalis* foram isoladas exclusivamente dos neonatos do Berçário de Alto Risco.

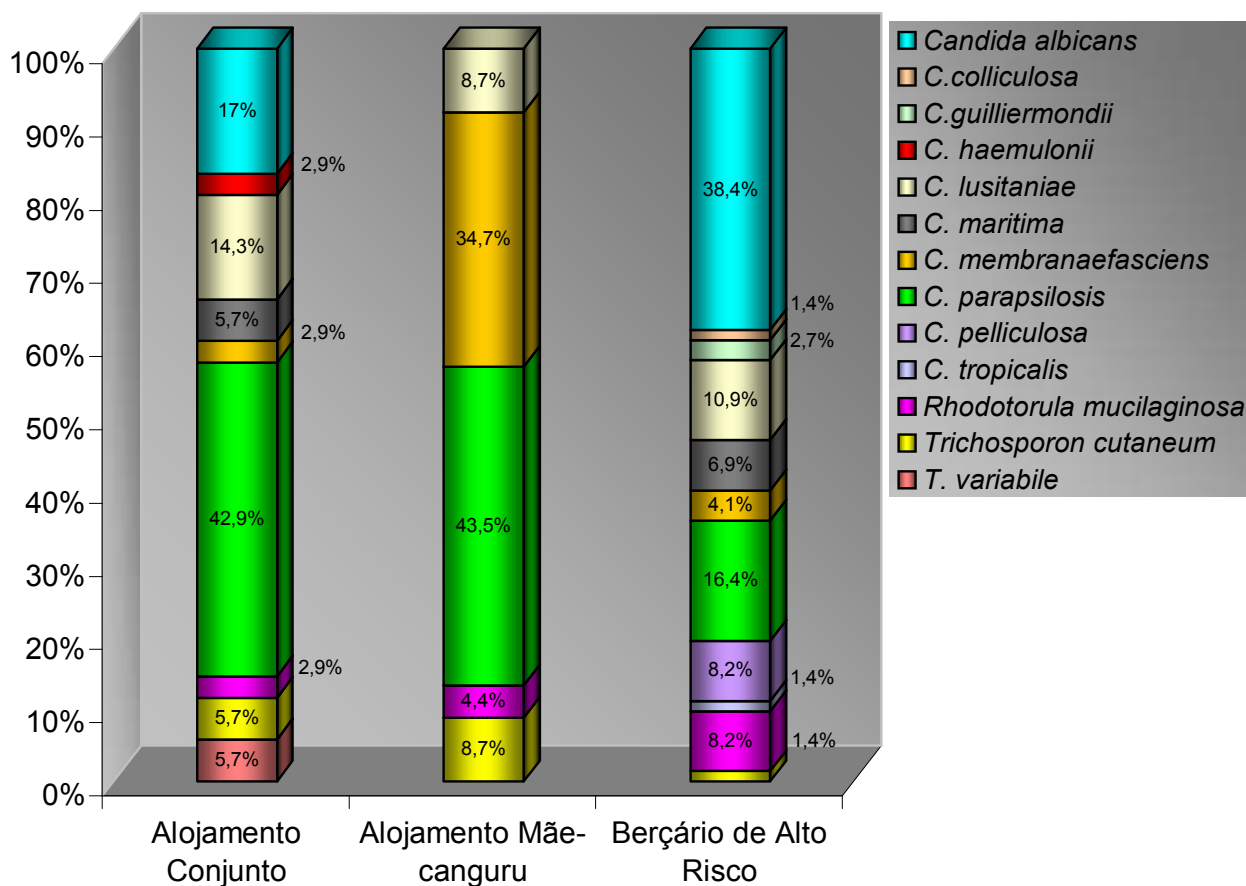


Figura 15. Leveduras isoladas dos neonatos das unidades de internação do IMIP, Recife – PE.

A figura 16 indica as espécies que foram comuns aos neonatos das três unidades: *C. lusitaniae*, *C. membranaefasciens*, *C. parapsilosis*, *R. mucilaginosa* e *T. cutaneum*.

De *C. parapsilosis* foi detectado maior número de UFC de neonatos do Alojamento Conjunto e Berçário de Alto Risco, *C. membranaefasciens* destacou-se em neonatos do Alojamento Mãe-Canguru e Berçário de Alto Risco, *C. lusitaniae* e *R. mucilaginosa* destacaram-se em neonatos do Berçário de Alto Risco.

Das espécies encontradas nas três unidades estudadas o Alojamento Conjunto foi a unidade com menor número de unidades formadoras de colônias em relação às outras.

A única espécie que foi detectada em maior quantidade no Alojamento Conjunto foi *C. parapsilosis*, quando comparada com o Alojamento Mãe-Canguru.

C. membranaefasciens foi a espécie detectada em menos quantidade nas três unidades, sendo encontrada em maior número no Alojamento Mãe-Canguru (Figura 15).

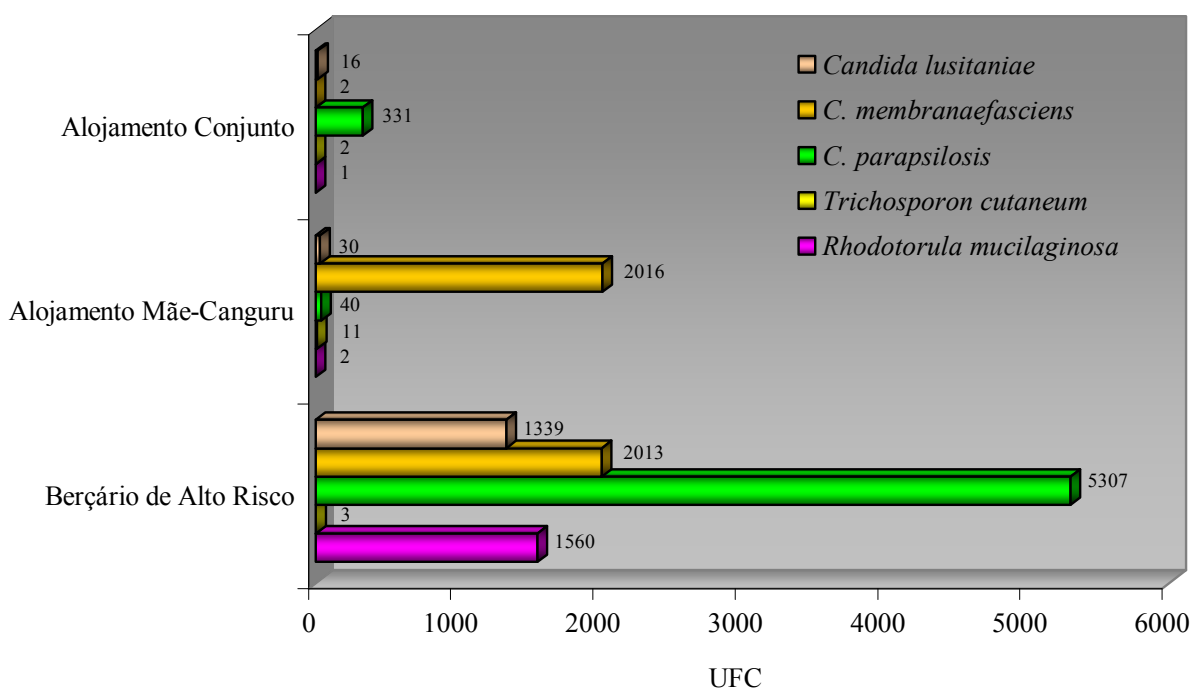


Figura 16. Unidades formadoras de colônias de espécies comuns aos neonatos das três unidades de internação do IMIP, Recife - PE.

Durante a última década a incidência de colonização e infecção com outras espécies de *Candida*, particularmente *C. parapsilosis*, tem se mostrado crescente devido a uma variedade de práticas comuns em unidades de cuidados intensivos e fatores microbianos com a habilidade da *Candida* em aderir a epitélio humano. Colonização de leveduras na pele de neonatos é o primeiro passo para patogenicidade e doença invasiva, podendo *C. albicans* ser a espécie isolada em casos de colonização e/ou infecção (Bendel, 2003).

Shattuck et al., (1996) destaca que a colonização cutânea aumenta consideravelmente (50 - 80% nos neonatos internados durante longo período de tempo em unidades de cuidados intensivos.

Sugisake, et al., (1998) verificaram que *C. albicans* e *C. parapsilosis* foram as espécies mais frequentemente isoladas de unidades pediátricas e de serviços de neonatologia, o que corrobora os resultados desta pesquisa.

Hanzen, (1995) revisando novos agentes leveduriformes emergentes e patogênicos ao homem registrou, entre outras leveduras *C. guilliermondii*, *C. haemulonii*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *H. anomala*, *R. mucilaginosa*, *T. cutaneum*.

Lacaz, et al., (2002) descreve que *Rhodotorula* é um gênero de levedura simbiote de pele úmida, escarro, urina e fezes. São isolados do solo, da água, do ar etc.

R. mucilaginosa e outras espécies têm sido muito raramente, isoladas de infecções, com alguns casos descritos na literatura causando infecções em pulmão, rins, sistema nervoso central, peritonite, endocardite, meningite, oculomicose e fungemia, devido à colonização de cateteres e soluções intravenosas, aparelhos e materiais cirúrgicos contaminados (Lacaz et al., 2002; Wilson & Ajello, 1998; Machado, 1979; Colombo, et al., 1997; Perfect, et al., 1993).

De *Trichosporon* foram isoladas 02 espécies, *T. cutaneum* e *T. variabile*. Esse achado é importante à medida que esses fungos podem passar de sapróbios a patogênicos, o que foi mostrado por Herbrecht et al., (1993), observando que espécies desse gênero são capazes de provocar lesões superficiais na pele e outras partes do corpo, principalmente em pacientes imunocomprometidos, inclusive com referência a *T. cutaneum*.

Kotovita et al., (1975) observou que áreas perigenitais são frequentemente atingidas por *Trichosporon*, o que foi observado nesta pesquisa.

Na literatura os casos de fungemia em neonatos, revelam uma maior predominância de espécies com poder patogênico já conhecido como: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* e *C. parapsilosis* (Mokadas et al., 2000). Espécies estas isoladas de pele de neonatos sadios neste trabalho.

Rodero et al., (1997) trabalhando com pacientes pediátricos entre outros, isolou de sangue diversas espécies de *Candida* entre elas *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C.*

guilliermondii, *H. anomala*, *T. cutaneum*. Sendo *C. albicans* a espécie mais freqüente, o que não foi observado neste estudo.

C. parapsilosis é considerada um comensal da pele, sendo isolada com maior freqüência em pacientes pediátricos, capaz de produzir infecções exógenas uma vez que pode ser adquirida de soluções intravenosas ou do cateter (Pfaller, 1994; Weems, 1992).

C. parapsilosis tem aparecido como espécie emergente, principalmente, em crianças com candidemia (Levy, et al., 1998).

As áreas hospitalares onde se apresenta com maior freqüência os casos de candidemia são as unidades de cuidados intensivos neonatais e pediátricas, considerando que 1,2% dos pacientes internados nestas unidades desenvolvem este tipo de doença (Mc Donald, 1997).

Farina et al. (1999) trabalharam durante dez anos, realizando hemoculturas em um hospital da Itália, encontrando 168 casos de fungemia em pacientes imunocomprometidos, isolando do sangue circulante 134 amostras de *C. albicans* (70%) e 1(0,6%) de *Hansenula anomala* (anamorfo - *C. pelliculosa*).

Outro caso de *H. anomala* causando fungemia foi observado por Odone Filho et al. em 1996 em criança portadora de neuroblastoma submetida a transplante autólogo de medula óssea.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitem inferir que:

- Na pele de diferentes áreas do corpo de neonatos ocorrem leveduras;
- *Candida* predomina entre as leveduras isoladas da pele e do sangue de neonatos;
- Pode ocorrer mais de uma espécie de levedura por área do corpo de neonatos;
- Em um neonato pode ocorrer mais de uma levedura;
- Em várias áreas do corpo de um neonato pode ocorrer apenas uma espécie de levedura;
- A cada área do corpo pode corresponder uma ou mais espécies de leveduras;
- Pescoço e dobra dos braços são as áreas onde ocorre maior diversidade de espécies de leveduras;
- Neonatos do Berçário de Alto Risco estão mais expostos à colonização por leveduras em número e espécie;
- Em neonatos do Berçário de Alto Risco detecta-se maior número de UFC de leveduras;
- Ocorrem espécies comuns às três unidades de internamento de neonatos;
- Nas três unidades *C. parapsilosis* destaca-se;
- O melhor procedimento para detecção de fungemia é através da cultura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, J.G.B., BARROS, A.C., CORREIA, C.F.A., DANTOT, V.C.N. Hemoculturas em crianças hospitalizadas no Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP). *Rev. IMIP*, 4(1):34-35, 1990.
- ARAGÃO, R.C.F. Perfil clínico epidemiológico e fatores de risco associados aos óbitos em crianças internadas em uma unidade de terapia intensiva pediátrica. *Rev. Ped. Pernamb.*, 9:9-10, 1998.
- BALEY, J. E., KLIEGMAN, R. M., BEXERBAUM, B., FANAROLL, A. A., Tiungol Colonization in the very low birth weight infant. *Pediatrion*, 78: 225 – 232, 1986.
- BALEY, J. E. Neonatal candidiasis: The current challenge. *Clin. Perinatol.*, 18:263-80, 1991.
- BARCHIESE, F.; SCHIMIZZI, A.M.; FOTHERGILL, A.W.; SCALISE, G. & RINALDI, M.R. *In vitro* activity of the new echinocandin, MK-0991, against common and uncommon clinical isolates of *Candida* species . *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 18: 302-304, 1999.
- BARCHIESI, F.; NAJVAR, L.K.; LUTHER, M.F.; SCALISE, G.; RINALDI, M.G.; GRAYBILL, J.R. Variation in fluconazole efficacy for *Candida albicans* strains sequentially isolated from oral cavities of patients with AIDS in an experimental murine candidiasis model. *Antimicrob. Agents Chemoter.*, 40:1317-1320, 1996.
- BARTLETT, A.V., PAZ de BOCALETTI, M. E., BOCALETTI, M. A. Neonatal and early postneonatal morbidity and mortality in a rural Guatemalan community: the importance of infectious diseases and their management. *Pediatr Infect Dis J.*, Oct;10(10):752-7, 1991.
- BARNETT, J.A.; PAINE, R.W.; YARROW, D. *Yeasts: characteristics and identification*. University Press, Cambridge, 1002 p. 1990.
- BENDEL, C. M. Colonization and epithelial adhesion in the pathogenesis of neonatal candidiasis. *Semin Perinatol*, Oct;27(5):357-64, 2003.
- CETTA, F., LAMBERT, G. H., ROS, S. P. Newborn chemical exposure from over-the-counter skin care products. *Clin Pediatr (Phila)*, May;30(5):286-9, 1991.
- CHAPMAN, R. L. *Candida* infections in the neonate. *Curr. Opin. Pediatr.*, Feb; 15(1):97-102, 2003.

- COLOMBO, A. L. et al. *Rhodotorula glutinis* fungemia: a case report and literature review the brasilian., *J. Inf. Dis.*, 1:204-207, 1997.
- DARMASTADT, G. L., DINULOS, J. G. Neonatal skin care. *Pediatric Clinics of North America*, 47 (4): 757-+ AUG 2000.
- DORKO, E., PILIPCINEC, E., TKACIKOVA, L. *Candida* species isolated from cerebrospinal fluid. *Folia Microbiol*, 47(2):179-181, 2002.
- FARAH, A., SANTOS, M., BELFORT, R., CABRAL, J., MÓS, E., FARAH, M. Microbiota anaeróbia e facultativa da conjuntiva normal de recém-nascidos. *Arg. Bras. Oftalmol.*, 56:138-45, 1993.
- FARINA, C., et al. Fungemia surrey: a 10-year experience in Bergamo, Itália. *Mycoses*, 42: 543-548, 1999.
- FOWLER, S. L., RHOTON, B., SPRINGER, S. C., MESSER, S. A., HOLIS, R. J., PFALLER, M. A. Evidence for person-to-person transmission of *Candida lusitanae* in a neonatal intensive-care-unit. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 5:343-345, 1998.
- GAGNEUR, A., SIZUN, J., VERNOLLE, E., De PASSEAU, L., QUINIO, D., LÊ FLOHK, M., et al. Low rate of *Candida parapsilosis* related colonization and infection in hospitalized preterm infants: A one-year prospective study. *J. Hosp. Infect.*, 48: 93-7, 2001.
- GILLIO, A.E. Infecção hospitalar em UTI pediátrica – epidemiologia. *Pediat. Mod.*, XXX(1):31-35, 1994.
- GUPTA, N., MITTAL, N., SOOD, P., KUMAR, S., KAUR, R., MATHUR, M.D. Candidemia in neonatal intensive care unit. *Indian j. Pathol. Microbiol.*, 44(1): 45-48, 2001.
- HARPIN, V. A., RUTTER, N. Barrier properties of the newborn-infants skin. *Journal of Pediatrics*, 102(3):419-425, 1983.
- HAZEN, K.C. New and emerging yeast pathogens. *Clin Microbiol Rev.* 8(4):462-78, 1995.
- HERBRECHT, R., et al. *Trichosporon* infections: clinical manifestations and treatment. *J. Mycol. Med.*, 3: 129-136, 1993.
- HOSTETTER, M. K. *Candida* species. In: Long SS, Pickering LK, Prober CG, eds. Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases. New York, NY: Churchill Livingstone, 1313-1326, 1994.
- JEHN, U. Micologia Clínica: Guia para a Prática Interdisciplinar. Ed. ROCA, São Paulo, 3: 79-87, 2000.
- JOHNSON, D. E., THOMPSON, T. R., GREEN, T. P., FERRIERI, P. Systemic candidiasis in very low-birth-weight infants (less than 1,500 grams). *Pediatrics*, 73:138-43, 1984.

- KICKLIGHTER, S. D., SPRINGER, S. C., COX, T. et al. Fluconazole for prophylaxis against candidal rectal colonization in the very low birth weight infant. *Pediatrics*, 107 (2): 293-298 FEB 2001.
- KOTOVITA, M. L., et al. Trichosporonosis (white piedra). *Act. Dermatovener (stolckholm)*, 55:218 -220, 1975.
- KREBS, V.L.J.; FEFERBAUM, R.; SANTORO, A.L. Sepsis neonatal:atualização. *Pedit. Modern.*, (5):754-764, 1994.
- KREGER-VAN RIJ., N.J.W. *The yeast: a taxonomic study*. Elsevier Sci. Publication, Amsterdam, 1984.
- LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C.; HEINS-VACCARI, E. M.; MELO, N. T. Tratado de Micologia Médica. 9 ed. Sarvier, São Paulo, 1.104p, 2002.
- LEVY, I., RUBIN, L. G., VASISHTHA, S., TUCCI, V., SOOD, S. K. Emergent of *Candida parapsilosis* as the predominant species causing candidemia in children. *Clin. Inf. Dis.*, 26:1086-1088, 1998.
- LEYDEN, J. J. Bacteriology of newborn skin. In Maibach H., Bosists E. K., eds *Neonatal Skin: Struture and Function*. New York, NY: Marcel Dekker Inc; 167-181, 1982.
- LODDER, J. *The Yeast: a taxonomic study*. North Holland Publishing Company, Oxford, 1385 p., 1970.
- MACHADO, G. M. R., Fungos anemófilos de áreas do Grande Recife: estudo qualitativo e quantitativo. Recife, 1979. [Tese de Mestrado. Centro de Ciências da Saúde, UFPE].
- MACKOWIAK, P. A. The normal microbial flora. *New Engl. J. Med.* 42, 83-93, 1982.
- Mc DONALD, L., BAKER, C., CHENEWETH, C. Risk factors for candidemia in a children's hospital. *Clin. Infect. Dis.*, 26: 642 – 645, 1997.
- MOKADAS, E. M., RAMADAN, S. A. ABO el MAATY S. H., SANYAL, S. C., Candidemia in pediatric surgery patients., *J. Chemother.*, Aug; 12(4):332-8, 2000.
- ODONE FILHO, V. et al. Fungemia por *Hansenula anomala* em criança portadora de neuroblastoma submetida a transplante autólogo de medula óssea. *Arq. Bras. Med.*, 70:33-36, 1996.
- OSATO, M.S. Normal Ocular Flora. In: PEPOSE, J.; HOLLAND, G. ; WILHEMUS, K. eds. *Ocular infection & Immunity*, St. Louis; Mosby,. P. 191-9, 1995
- PERFECT, J. R.; SCHELL, W. A.; RINALDI, M. G. Uncommon invasive fungal pathogens in the acquired immunodeficiency syndrome. *J Med Vet Mycology*. 31: 175-9, 1993.
- PFALLER, M. A., Epidemiology and control of fungal infections. *Clin. Infect. Dis.*, 19(suppl 1):58-513, 1994.

- RODERO, L. et. al., Infecciones por levaduras: agentes casuales y su resistencia a antifúngicos en pacientes pediátricos hospitalizados y en adultos HIV positivos. *Rev. Arq. Microbiol.*, 29:7-15, 1997.
- ROILIDES, E.; FARMAKI, E.; EVDORIDOU, J.; FRANCESCONI, A.; KASAI, M.; FILIOTI, J.; TSIVITANIDOU, M.; SOFIANOU, D.; KREMENOPOULOS, G.; WALSH, T. J. *Candida tropicalis* in a Neonatal Intensive Care Unit: epidemiologic and molecular analysis of an outbreak of infection with an uncommon neonatal pathogen. *J. General Microbiol.*, 735-741, 2003.
- SHATTUCK, K. E., COCHRAN, C. K., ZABRANSKY, R. J., PASARELL, L., DAVIS, J. C., MALLOY, M. H. Colonization and infection associated with *Malassezia* and *Candida* species in a neonatal unit. *J. Hosp. Infect.*, 34:123-129, 1996.
- SUGISAKI, M. F. et al. Prevalence and in vitro antifungal susceptibility at *Candida* spp. Isolated from clinical specimens in São Paulo, Brazil. *Rev. Iberoamer. Micol.*, 15: 16-18, 1998.
- STOLL, B. J., BAUER, C. R., BOBASHEV, G., et al. Infants at the limit of viability: 401-700 grams at birth. *Pediatrc Research*, 45(4):1504 Part 2 Apr, 1999.
- STOLL, B. J., GORDON, T., KORONES, S. B., SHANKARAN, S., TYSON, J. E., BAUER, C. R.. Early Onset Sepsis in Very Low Birth Weight Neonates: A Report from the National Institute of Child Health And Human Development Neonatal Research Network. *J Pediatr*, 129(1): 72-80, 1996.
- STOLL, B. J., GORDON, T., KORONES, S. B., SHANKARAN, S., TYSON, J. E., BAUER, C. R.. Late Onset Sepsis in Very Low Birth Weight Neonates: A Report from the National Institute of Child Health And Human Development Neonatal Research Network. *J Pediatr*, 129(1): 63-71, 1996.
- WALKER, C.B., CLAQUÉ, C.M.P. Incidence of conjuntival colonization by bacteria capable of causing postoperative endophthalmitis. *J. Royal Sac. Med.*, 79: 520-1, 1986.
- WEEMS, J. J. Jr. *Candida parapsilosis*: Epidemiology, clinical manifestations, and antimicrobial susceptibility. *Clin. Infect. Dis.*, 14:756-766, 1992.
- WILSON, L. A., AJELLO, L. Agents of oculomycosis: fungal infections of the eye. In: AJELLO, L., HAY, R. J., ed Medical Mycology: London, Arnold; New York, Oxford University Press, v.4, p525-567, 1998
- ZAITS, C., CAMPELL, I., MARQUES, S.A., RUIZ, L.R.B., SOUZA, V.M. *Compêndio de Micologia Médica*. Medsi, Rio de Janeiro, 1998, 434p.