



**INFECÇÕES FÚNGICAS NOSOCOMIAIS EM UNIDADE DE TERAPIA
INTENSIVA: OCORRÊNCIA E CONTROLE**

ANA MARIA RABELO DE CARVALHO PARAHYM

RECIFE

2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS

INFECÇÕES FÚNGICAS NOSOCOMIAIS EM UNIDADE DE TERAPIA
INTENSIVA: OCORRÊNCIA E CONTROLE

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Biologia de Fungos.

Área de Concentração: Micologia aplicada (médica)

Ana Maria Rabelo de Carvalho Parahym

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rejane Pereira Neves

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Neiva Tinti de Oliveira

RECIFE

2016

Catálogo na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Parahym, Ana Maria Rabelo de Carvalho

Infecções fúngicas nosocomiais em unidade de terapia intensiva: ocorrência e controle/ Ana Maria Rabelo de Carvalho Parahym– Recife: O Autor, 2016.

147 folhas : il., fig., tab.

Orientadora: Rejane Pereira Neves

Coorientadora: Neiva Tinti de Oliveira

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco.

Centro de Biociências. Biologia de Fungos, 2016.

Inclui referências

1. Infecção nosocomial 2. Fungos 3. Unidade de tratamento intensivo I. Neves, Rejane Pereira (orientadora) II. Oliveira, Neiva Tinti de (coorientadora) III. Título

571.995

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2016-110

**INFECÇÕES FÚNGICAS NOSOCOMIAIS EM UNIDADE DE TERAPIA
INTENSIVA: OCORRÊNCIA E CONTROLE**

ANA MARIA RABELO DE CARVALHO PARAHYM

Tese defendida e aprovada no dia 05 de julho de 2012

COMISSÃO EXAMINADORA

MEMBROS TITULARES

Dra. Rejane Pereira Neves– (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Elaine Malosso– Examinador Interno
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Vera Magalhães da Silveira – Examinador Externo
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Rossana de Aguiar Cordeiro– Examinador Externo
Universidade Federal do Ceará

Dr. Reginaldo Gonçalves de Lima Neto– Examinador Externo
Universidade Federal de Pernambuco

MEMBROS SUPLENTE

Dra. Danielle Patrícia Cerqueira Macêdo– Examinador Externo
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Mariele Porto Carneiro Leão– Examinador Externo
Universidade Federal de Pernambuco

DEDICO

A Deus por ter me dado a vida, guiado todos os caminhos e permitido a realização dos meus sonhos, ao meu filho Lucas, ao meu esposo Sergio, aos meus pais Márcia e Ismar, e as minhas irmãs Fernanda e Natalia.

OFEREÇO

A minha avó Ana pela mulher guerreira que ela é e por me mostrar o verdadeiro significado das palavras força, esperança e perseverança. Que Deus esteja sempre ao seu lado.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos (PPGBF) da Universidade Federal de Pernambuco por ter me dado à oportunidade de obter essa formação. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro. A minha orientadora querida por seus ensinamentos e dedicação. A minha co-orientadora pela sua paciência e serenidade. Aos professores Oliane e Armando pelos momentos de descontração e aprendizado. A todas as pessoas especialmente queridas que, por causa da doença, fizeram parte deste trabalho. A todos que me ajudaram no desenvolvimento dessa pesquisa, de forma direta ou indiretamente. É difícil relacionar tantas pessoas sem cometer injustiças, mas não há como não agradecer a minha família, amigos e aos professores do PPGBF, a Carolina pela sua amizade e companheirismo, a Mariele a qual serei eternamente grata, a toda equipe médica e de enfermagem por terem colaborado com a realização dessa tese e a todos os acompanhantes dos pacientes por terem permitido a realização das coletas de amostras clínicas mesmo diante de tanta dor. Cada uma dessas pessoas deixou em mim lembranças, ensinamentos e carinho. Em momentos especiais como este, gostaria de abraçar bem forte um por um e dizer muito obrigada, foi uma honra e um imenso prazer estar ao seu lado.

RESUMO GERAL

Infecção fúngica nosocomial tem acarretado altos índices de mortalidade, sendo frequentes em pacientes de Unidades de Terapia Intensiva-UTI. No diagnóstico e tratamento, adequada conduta laboratorial através de exame direto e cultura torna-se indispensável. Ferramentas moleculares devem ser utilizadas como estratégia de identificação rápida e avaliação da similaridade genética entre os agentes etiológicos. Assim, o presente trabalho teve por finalidade diagnosticar Infecção fúngica nosocomial em pacientes de UTIs e detectar ocorrência destas infecções com mesma origem e perfil de sensibilidade antifúngica dos isolados. No período de março de 2008 a junho de 2011, foram coletadas 1.040 amostras clínicas, entre essas amostras de sangue, secreção traqueal, urina, vegetações cardíacas e líquido pleural, nas UTIs de quatro hospitais de Recife-PE, sendo isoladas 64 culturas incluindo *Aspergillus flavus*, *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis*, *C. sake*, *C. tropicalis*, *Pseudozyma aphidis* e *Saprochaete capitata*. A similaridade genética foi detectada através dos primers (GACA)₄ e (GTG)₅ em isolados de *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*. A sensibilidade antifúngica de 38 isolados de *Candida* ao fluconazol mostrou resistência em 52,63%. Dos 13 isolados testados 76,9% foram resistentes ao voriconazol (4 de *C. albicans* e 6 de *C. tropicalis*). Resistência a anidulafungina não foi detectada em isolados de *Candida*, no entanto 8 isolados de *C. parapsilosis* e um de *C. guilliermondii* apresentaram concentrações inibitórias mínimas elevadas (2µg/mL). Os isolados de *P. aphidis*, *S. capitata* e *A. flavus* foram sensível ao voriconazol e dose-dependente ao fluconazol; sensível ao voriconazol, dose-dependente ao fluconazol e resistente a anidulafungina; e sensível ao fluconazol, respectivamente. Todos os isolados testados foram sensíveis a anfotericina B. Ocorreu óbito em 39,7% dos pacientes. De acordo com nossos resultados concluímos que infecções fúngicas nosocomiais acometem pacientes de UTI, sendo *C. albicans* o agente etiológico mais frequente.

Palavras-chave: Infecções fúngicas nosocomiais; Diagnóstico micológico; Unidade de Terapia Intensiva; Susceptibilidade Antifúngica; Genotipagem; Similaridade genética.

ABSTRACT

Nosocomial fungal infection has caused high mortality rates, being frequent in patients treated in the Intensive Care Unit-ICU. In the diagnosis and treatment, proper conduct to laboratory analyses and direct examination and culture becomes indispensable. Molecular biology should be used as a strategy for rapid identification of etiologic agents and evaluation of the genetic similarity between isolates. Thus, this study aimed to diagnose nosocomial fungal infection in ICUs patients and to detect the occurrence for these infections with the same origin and antifungal susceptibility profile of the isolates. From March 2008 to June 2011, 1.040 clinical samples were collected between these samples of blood, tracheal aspirates, urine, cardiac vegetations and pleural fluid, in the ICUs of four hospitals in Recife-PE, with a total of 64 cultures were isolated including *Aspergillus flavus*, *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis*, *C. sake*, *C. tropicalis*, *Pseudozyma aphidis*, and *Saprochaete capitata*. The genetic similarity was detected between isolates of *C. albicans*, *C. parapsilosis* and *C. tropicalis* using the primers (GACA)₄ and (GTG)₅. The antifungal susceptibility of 38 *Candida* isolates showed resistance to fluconazole at 52.63%. Of 13 isolates tested 76.9% were resistant to voriconazole (4 of *C. albicans* and 6 of *C. tropicalis*). Anidulafungin resistance was not detected in *Candida* isolates; however 8 isolates of *C. parapsilosis* and one of *C. guilliermondii* showed elevated minimum inhibitory concentrations (2µg/mL). The isolates of *P. aphidis*, *S. capitata* and *A. flavus* were sensible to voriconazole and dependent dose to fluconazole, sensible to voriconazole, dose dependent dose to fluconazole and resistant to anidulafungin, and sensible to fluconazole, respectively. All isolates tested were sensible to amphotericin B. Death occurred in 39.7% of patients with nosocomial fungal infection, indicating the importance of early and accurate diagnosis. According to our results we conclude that nosocomial fungal infections affect patients in the ICU, and *C. albicans* is the most frequent etiologic agent.

Key-words: Nosocomial fungal infections; Mycological diagnosis; Intensive Care Unit; Antifungal Susceptibility; Genotyping; Genetic similarity.

Lista de figuras

	Pág
Figura 1. Microscopia direta revelando células de levedura ovais, hialinas e brotantes em amostra de sangue (A), hifas hialinas septadas na secreção traqueal (B) e na urina (C) (400X).	80
Figura 2. Vegetações na valva cardíaca (A). Exame direto da vegetação revelando numerosas células de leveduras hialinas após ação do clarificante hidróxido de potássio a 20%, X400 (B).	81
Figura 3. No exame macroscópico foi detectada vegetação na válvula aórtica (A) e prótese valvar (B). Exame direto revelando numerosas células de levedura hialinas na vegetação (C) e no tecido pulmonar (D).	81
Figura 4. Exame microscópico da cultura em ágar Sabouraud dextrose após 7 dias de incubação a 37°C mostrando blastoconídios alongados e fusiformes compatíveis com espécies de <i>Pseudozyma</i> .	86
Figura 5. Lâmina da cultura produzida a partir de amostra de <i>Saprochaete capitata</i> obtida após sete dias de crescimento a 37°C em meio ágar Sabouraud dextrose (B).	88
Figura 6. A Hifas septadas dicotômicas em ângulo agudo evidenciadas no exame direto (sem adição de corante ou clarificante, X400). B Colônia de <i>Aspergillus flavus</i> após cinco dias de crescimento no meio Ágar Sabouraud. C Características microscópicas de <i>A. flavus</i> apresentando vesícula ligeiramente esférica, estipes lisas e numerosos conídios globosos (Amann lacto-fenol, X 400).	90
Figura 7. Gel de agarose obtido após eletroforese de produtos de amplificação por PCR de isolados de <i>Candida albicans</i> obtidos de amostras clínicas de pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva com primers espécie-específicos CAL5 e NL4CAL (A) e com os marcadores (GTG) ₅ (B) e (GACA) ₄ (C). Colunas de 1 a 13 correspondem aos isolados 1, 2, 3, 4 (hospital 1), 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 (hospital 3). Coluna 14 a ATCC750 <i>C. tropicalis</i> . M: Marcador de peso molecular 100pb em A e 1Kb plus em B e C.	99
Figura 8. Gel de agarose obtido após eletroforese de produtos de amplificação por PCR de isolados de <i>Candida parapsilosis</i> obtidos de amostras clínicas de pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva com primers espécie-específicos CPA4 e NL4LEL1 (A) e com os marcadores (GTG) ₅ (B) e (GACA) ₄ (C). Colunas de 1 a 13 correspondem aos isolados 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 (hospital 4), 9, 10, 11, 12, 13, 14 (hospital 3). Coluna 15 isolado de <i>C. guilliermondii</i> . M: Marcador de peso molecular 100pb em A e 1Kb plus em B e C.	100
Figura 9. Gel de agarose obtido após eletroforese de produtos de amplificação por PCR de isolados de <i>Candida tropicalis</i> obtidos de amostras clínicas de pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva com primers espécie-específicos CTR22 e NL4CTR1 (A), e com os marcadores (GTG) ₅ (B) e (GACA) ₄ (C). Colunas de 1 a 9 correspondem aos isolados 1, 2, 3, 4 (hospital 2), 5, 6, 7, 8 e 9 (hospital 3). Coluna 10 isolado de <i>C. guilliermondii</i> . M: Marcador de peso molecular 100pb em A e 1Kb plus em B e C.	101

Lista de tabelas

	Pág.
Tabela 1. Espécies de <i>Candida</i> isoladas de diferentes amostras clínicas obtidas de pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva de hospitais públicos da cidade de Recife-PE.	82
Tabela 2. Pacientes acometidos por candidíases internados em Unidades de Terapia Intensiva de hospitais públicos da cidade de Recife-PE	835
Tabela 3. Perfil de susceptibilidade antifúngica de isolados provenientes de pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva a anfotericina B e fluconazol.	92
Tabela 3. (continuação) Perfil de susceptibilidade antifúngica de isolados provenientes de pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva a anfotericina B e fluconazol.	93
Tabela 4. Perfil de susceptibilidade antifúngica de isolados provenientes de pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva a anfotericina B, anidulafungina, fluconazol e voriconazol.	94
Tabela 5. Isolados de <i>Candida</i> obtidos na unidade de terapia intensiva de quatro hospitais públicos da cidade do Recife, Pernambuco, Brasil.	96

SUMÁRIO

	Pág
1 INTRODUÇÃO	11
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
2.1 INFECÇÕES NOSOCOMIAIS EM UNIDADES DE TERAPIA INTENSIVA	13
2.1.1 Leveduroses	17
2.1.1.1 Candidíases	18
<u>Candidemia</u>	23
<u>Candidúria</u>	36
<u>Candidíase pulmonar</u>	40
<u>Endocardite</u>	44
2.1.1.2 Tricosporonose	47
2.1.1.3 Geotricose	52
2.1.1.4 Infecção invasiva por <i>Pseudozyma aphidis</i>	53
2.1.2 Micoses oportunistas por fungos filamentosos	54
2.1.2.1 Aspergilose	54
2.2 SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA	65
3 MATERIAL E MÉTODOS	71
3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS CLÍNICAS	71
3.2 REALIZAÇÃO DO DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO	71
3.3 PURIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DOS ISOLADOS	71
3.4 TESTE DE SENSIBILIDADE ANTIFÚNGICA <i>IN VITRO</i>	77
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	80
4.1 DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO	80
4.2 SENSIBILIDADE ANTIFÚNGICA	92
4.3 ANÁLISE DA SIMILARIDADE GENÉTICA	96
5 CONCLUSÕES	102
6 REFERÊNCIAS	103

1 INTRODUÇÃO

A incidência de infecções nosocomiais por fungos tem aumentado substancialmente nas últimas décadas acarretando altos índices de mortalidade que atingem até 60%, sendo frequentes em pacientes graves internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) (HOTA, 2004). Esse aumento se deve principalmente ao maior número de pacientes imunocomprometidos, aos tratamentos mais avançados e a longos períodos de internação (PAPPAS, 2006).

Espécies de *Aspergillus* e *Candida* são os agentes etiológicos mais frequentemente isolados, podendo acarretar doenças graves com taxa de mortalidade superior a 30% (SAENE *et al.*, 2009). Espécies de *Candida* são responsáveis por até 78% das infecções fúngicas nosocomiais, sendo o sexto patógeno nosocomial mais comumente isolado e a quarta maior causa de sepse nosocomial (HAJJEH *et al.*, 2004).

A tecnologia aplicada à assistência hospitalar em UTIs viabiliza o prolongamento da sobrevivência do paciente em situações adversas. Embora altamente positivo por um lado, por outro aumenta o risco de infecção hospitalar em pacientes críticos (HOTA, 2004). Estas infecções podem ser de origem endógena ou contraída por instrumentos invasivos e no próprio ambiente hospitalar (DANTZKER; SCHARF, 1998).

As UTIs normalmente representam apenas cerca de 5% dos leitos, mas são responsáveis por mais de 20% das infecções hospitalares (PEDROSA; COUTO, 1999) com significativo impacto na taxa de mortalidade (MAJUMDAR; PADIGLIONE, 2012).

As características dos pacientes tais como doenças de base, idade e estado imunológico contribuem para a taxa de infecção elevada em UTIs. Outros fatores como administração de antibióticos de amplo espectro, internação prolongada, realização de ventilação mecânica, utilização de cateteres e nutrição parenteral, também podem estar envolvidos na predisposição a essas infecções (MAROL; YÜCESOY, 2007).

As infecções nosocomiais fúngicas mais frequentes em UTI são as urinárias, em feridas cirúrgicas, pneumonias e sistêmicas. A utilização de métodos invasivos para diagnóstico e tratamento, como sondagem vesical e nasogástrica, cateterização intravenosa e ventilação mecânica, são os principais fatores associados à ocorrência dessas infecções (MAJUMDAR; PADIGLIONE, 2012).

O uso de cateter vesical e antibioticoterapia por período prolongado são fatores de risco para ocorrência de infecções do trato urinário em pacientes internados em UTIs, entre essas as de etiologia fúngica, acometendo 83% dos pacientes que utilizam esse dispositivo invasivo (CARVALHO *et al.*, 2001).

A pneumonia ocasionada por fungos é uma doença frequente na UTI; estatísticas internacionais apontam que tais infecções ocorrem em cinco a dez casos a cada mil internações e aumenta de seis a vinte vezes em pacientes que realizam ventilação mecânica (DANTZKER; SCHARF, 1998), sendo principalmente ocasionada por espécies de *Candida* e *Aspergillus* (DAVID, 1997).

Infecções fúngicas da corrente sanguínea são a causa mais comum de morte na UTI e sua incidência vem aumentando principalmente pelo uso de cateteres intravasculares, drogas citotóxicas e imunodepressoras (DAVID, 1997).

Adequada conduta laboratorial, através de exame direto e cultura, auxiliam no diagnóstico clínico e tratamento; entretanto esses métodos estão sendo complementados por ferramentas moleculares como estratégia de identificação rápida do agente etiológico, bem como para verificar a similaridade entre os isolados (ALVES; OLIVEIRA; SANTURIO, 2000), sendo empregadas muitas técnicas de DNA *fingerprinting* (RESENDE *et al.*, 2004).

A detecção da fonte de infecção pode ajudar a evitar a propagação clonal de microrganismos resistentes e a prevenir infecção. Recentemente, a utilização de métodos de genotipagem tem sido cada vez mais empregada para a elucidação da epidemiologia das infecções hospitalares por fungos (MAROL; YÜCESOY, 2007).

O desenvolvimento de pesquisas que buscam indicar fatores de risco para o agravamento dos quadros clínicos das infecções fúngicas nosocomiais, principalmente dos pacientes graves internados em UTI contribuem para minimizar e evitar recidivas através do diagnóstico clínico e laboratorial precoce e preciso assim como instituição da terapêutica adequada, tendo como consequência a melhor qualidade de vida. Dessa forma o presente trabalho teve por finalidade diagnosticar infecções fúngicas nosocomiais em pacientes internados em UTI, detectar o perfil de susceptibilidade antifúngica dos isolados e a possível ocorrência de infecções hospitalares com origem clonal através da utilização de marcadores moleculares.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 INFECÇÕES NOSOCOMIAIS EM UNIDADES DE TERAPIA INTENSIVA

As infecções nosocomiais ou hospitalares são doenças localizadas ou sistêmicas, que se manifestam após 48 horas de internação ou até 72 horas após alta, podendo ser consideradas precoces, quando surgem nas primeiras 96 horas após a internação ou tardias quando, geralmente, está envolvido um processo de colonização microbiana por patógenos hospitalares, consistindo uma das mais frequentes e importantes complicações em pacientes submetidos à hospitalização em Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Estas unidades especializadas ocupam cerca de 5 a 10% dos leitos, sendo destinadas ao tratamento de pacientes cuja sobrevivência se encontra ameaçada por condições que causam instabilidade ou disfunção de um ou mais sistemas fisiológicos (DIENER; COUTINHO; ZOCCOLI, 1996; PEDROSA; COUTO, 1999).

A severidade da doença de base que comumente acomete os pacientes internados em UTIs os tornam altamente susceptíveis as infecções de etiologia fúngica como consequência da diminuição na imunidade humoral e celular, e pela exposição a outras condições predisponentes como procedimentos invasivos, mediante a quebra das barreiras de defesas naturais; uso de antibioticoterapia de amplo espectro, sobretudo quando aplicada empiricamente; tempo prolongado de permanência hospitalar; escassa atenção necessária aos pacientes, as quais dificultam medidas adequadas de controle de infecções e ainda, tratamentos invasivos indispensáveis à doença primária (BOLIGNANO; CRISEO, 2003).

O tratamento das neoplasias malignas deve ser levado em consideração, pois apesar de auxiliar no prognóstico, traz inúmeras complicações, devido a sua íntima associação com infecções potencialmente letais, algumas vezes adquiridas no ambiente hospitalar, afetando negativamente o resultado final do tratamento antineoplásico e apresentando alta mortalidade de até 95% em pacientes gravemente imunossuprimidos (ALIFF *et al.*, 2003).

A incidência das infecções nosocomiais é mais elevada na UTI quando comparada a outras unidades de internação, sendo o risco de morte três vezes maior nos pacientes infectados e, dessa forma aumentando a morbidade e mortalidade (BURKE, 2003).

Os procedimentos invasivos habitualmente utilizados nas UTIs são extremamente importantes; no entanto, o uso de tubos endotraqueais por impedirem o reflexo da tosse, diminui a mobilidade ciliar, propiciando primariamente uma colonização e, secundariamente infecção do trato aéreo inferior bem como das vias aéreas superiores por fungos e bactérias; introdução de cateteres intravasculares e o uso de nutrição parenteral aumentam o risco de fungemia e bacteremia; utilização de sonda vesical de demora está relacionada a 100% das infecções após quatro a cinco dias de drenagem aberta e coleta de sangue inadequada que também possibilita a introdução de microrganismos (ABELSON *et al.*, 2005; FROWNFELTER; DEAN, 2004; MORGON; GUIRARDELLO, 2004).

A permanência hospitalar na UTI está relacionada ao desenvolvimento de infecção nosocomial e o internamento durante sete a trinta dias conduz ao elevado risco. Por conseguinte todos que permanecem por mais de trinta dias elevam a chance de adquirir infecção (LISBOA *et al.*, 2007).

Em estudo realizado no México, foi verificado que 58% dos pacientes internados em UTIs estavam infectados por microrganismos e a taxa de mortalidade atingiu 22% (Ponce DE LÉON *et al.*, 2000). Dados aproximados são detectados nos Estados Unidos com número de 1,7 milhões de casos com 98.987 de curso fatal (KLEVENS *et al.*, 2002) e no Canadá, Israel e em seis países europeus um percentual de 20,6% de óbitos foi detectado, sendo a mortalidade quatro vezes maior que no grupo sem infecção (ALBERTI *et al.*, 2002).

Turrini (2002) relata que 31,9% dos pacientes pediátricos internados em UTIs da cidade de São Paulo morrem, sendo em 30,4% dos casos a infecção hospitalar considerada a causa do óbito, em 50,8% contribuinte e em 18,8% não relacionada.

Estatísticas brasileiras estimam a ocorrência de 550.000 a 1.100.000 casos dessas infecções por ano, com alto custo hospitalar e letalidade média de 5% a 15%, apresentando elevada incidência nas UTIs de Hospitais Universitários (BANDERÓ-FILHO; RESCHKE; HÖRNER, 2006; TOUFEN JÚNIOR *et al.*, 2003).

Engel *et al.* (2007) e Karlsson *et al.* (2007) em estudo epidemiológico realizado na Europa e Oceania verificaram que pacientes expostos a infecções graves apresentam mortalidade hospitalar em torno de 27% a 55%.

As infecções nosocomiais podem apresentar-se com diversas formas clínicas, desde pneumonias a quadros de sepse (DAVID, 1998).

As pneumonias são frequentes na UTI e a ocorrência aumenta de seis a vinte vezes em pacientes submetidos à ventilação mecânica, com incidência entre 13% a 80%, por dias de ventilação e mortalidade de 20% a 75% (CONSENSO LATINO-AMERICANO DE PNEUMONIA DO PACIENTE ADULTO HOSPITALIZADO, 1998).

Os quadros de pneumonias são os mais frequentes em menores de um ano internados em UTIs, podendo ser de origem comunitária, presente anteriormente a hospitalização, ou nosocomial, atingindo 0,4 a 1,1% dos pacientes hospitalizados (ALP *et al.*, 2004; AMERICAN THORACIC SOCIETY, 2005; TURRINI, 2002).

Estudos brasileiros que abordam os aspectos da síndrome séptica apontam que o pulmão é o principal foco infeccioso primário. Essa síndrome apresenta taxa de mortalidade de 34,7% até 46,6%, alcançando 65% na presença de choque séptico (SILVA *et al.*, 2004), tendo sua incidência aumentada devido ao uso frequente de dispositivos invasivos (BONVENTO, 2007; KOCSSIS, 2005; SALES JÚNIOR *et al.*, 2007), representando 12% das infecções hospitalares (TARDIVO; FARHAT NETO; FARHAT JÚNIOR, 2008).

Estima-se que o uso de cateter venoso central esteja relacionado com 2 a 12% dos casos de sepse e que 87% das infecções primárias da corrente sanguínea ocorrem em pacientes que fazem uso desse dispositivo, sendo responsável por 14% a 38% dos óbitos (MERMEL *et al.*, 2001; RICHARDS *et al.*, 2000).

Angus *et al.* (2001), ao realizarem estudo prospectivo através da avaliação de seis milhões de registros hospitalares nos Estados Unidos, verificaram a ocorrência de 751.000 casos de sepse nosocomial, apresentando mortalidade de 28,6%.

Martin *et al.* (2003) afirmam que infecções nosocomiais septicêmicas são a principal causa de óbito em pacientes internados e gravemente doentes e que a frequência das de etiologia fúngica aumentou 207% no período de 1979-2000 nos Estados Unidos.

Entre as infecções hospitalares, as do trato urinário correspondem a 35% - 45% sendo na UTI extremamente relevantes devido a sua elevada prevalência, tendo como principal fator de risco a exposição temporária à cateterização vesical de demora em mais de 10% dos pacientes. Neste contexto, o diagnóstico laboratorial torna-se indispensável e, quando possível, a retirada do dispositivo é indicada (KALSI *et al.*, 2003; PLOWMAN *et al.*, 2001).

Historicamente, a análise de patógenos nosocomiais inclui a comparação de características fenotípicas, no entanto essa abordagem tem mudado nas duas últimas

décadas com o desenvolvimento e implementação de novas tecnologias baseadas na análise molecular, a qual contribui na avaliação profunda da inter-relação dos isolados (COCKERILL; SMITH, 2004; GOERING, 2000).

A tipagem molecular quando associada com a vigilância epidemiológica hospitalar tem sido efetiva na redução do número de infecções nosocomiais (DIEKEMA *et al.*, 2004). Dessa forma, as técnicas moleculares são eficazes no monitoramento da disseminação de infecções, devido à ocorrência de patógenos nosocomiais geneticamente relacionados. Estabelecer a clonalidade de patógenos pode auxiliar na identificação da fonte de infecção (ambiental ou pessoal), na distinção dos isolados mais patogênicos e na detecção da ocorrência de re-infecção, se ocorreu com a cepa original ou distinta (SINGH *et al.*, 2006).

A compreensão da distribuição dos patógenos e sua relação são essenciais na epidemiologia das infecções hospitalares, conduzindo ao melhor prognóstico e redução do número de casos (SINGH *et al.*, 2006). Nesse contexto, as infecções de etiologia fúngica têm sido cada vez mais incidentes, aumentando substancialmente nas últimas décadas, sobretudo em UTIs. Desde o início dos anos 80 os fungos têm emergido como um dos principais patógenos humanos, especialmente em imunocomprometidos e em pacientes hospitalizados (VERDUYN-LUNEL; WENZEL; VOSS, 1999).

Segundo Stefaniak *et al.* (2001), em crianças portadoras de neoplasias hematológicas, as micoses correspondem a 20 a 30% das infecções graves em portadores de leucemia aguda, 10 a 15% linfoma, 5% tumores sólidos, 21 a 57% transplantados de medula óssea e 5 a 15% transplantados renais.

De acordo com Kumar *et al.* (2005), as infecções fúngicas acometem 8% dos pacientes que ingressam em hospitais, apresentando tratamento oneroso, representando um importante problema de saúde pública e acarretando alto índice de mortalidade bem como morbidade. O controle das doenças de base e a terapia antimicrobiana eficaz resultam na sobrevivência prolongada, por outro lado, expõem os pacientes a um maior risco de adquirir infecções fúngicas oportunistas, causadas predominantemente por espécies de *Aspergillus* e *Candida*, responsáveis por 75% das infecções fúngicas nosocomiais.

O tratamento precoce e específico e a reversão da doença subjacente são os pilares da melhora clínica (RICHARDSON, 2005), contudo, a dificuldade no diagnóstico micológico acarreta taxas de mortalidade entre 25 a 60% (PFALLER; DIEKEMA, 2007).

As micoses oportunistas podem ter origem exógena do ambiente nosocomial ou ser transmitidas por objetos contaminados como os dispositivos terapêuticos, assim como através das mãos dos profissionais de saúde (PFALLER, 1996) ou endógena, originária da microbiota do próprio paciente (MARCO *et al.*, 1999).

Os fungos oportunistas podem algumas vezes infectar indivíduos imunocompetentes causando doença auto-limitada e ao acometer imunossuprimidos, causar doenças invasivas, disseminadas e fatais (EGGIMANN; GARBINO; PITTET, 2003).

As formas invasivas são complicações graves em imunocomprometidos, como neutropênicos, receptores de medula óssea ou transplante de órgãos sólidos, portadores de câncer e infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). No entanto, durante as últimas duas décadas, com avanços nas intervenções diagnósticas e terapêuticas, doentes críticos com menor grau de imunossupressão surgiram como outra população de alto risco para essas micoses (PFALLER; DIEKEMA, 2004).

As infecções fúngicas oportunistas invasivas estão associadas ao pior prognóstico dos pacientes com neoplasias hematológicas. Morgan *et al.*, (2005) afirmam que sua incidência aumentou drasticamente ocorrendo em aproximadamente 36% dos pacientes com leucemia aguda, sendo associada a uma taxa de mortalidade atribuível de 10 a 49%.

De acordo com PFALLER e Diekema (2007) a incidência de infecções invasivas nos Estados Unidos, entre os anos de 1996 e 2003, por espécies de *Candida* e *Aspergillus* foi de 72.228 e 1.234 por milhão de habitantes, respectivamente. No entanto, Richardson e Lass-Flörl (2008) enfatizam que o perfil epidemiológico dessas doenças tem mudado a cada ano, se tornando crescente o isolamento de espécies emergentes, sobretudo agentes de leveduroses.

2.1.1 Leveduroses

As leveduroses consistem em infecções causadas por leveduras incluindo espécies do gênero *Candida*, *Trichosporon*, *Geotrichum* e outras (LASS-FLÖRL, 2008). As mais frequentes causando quadros clínicos graves são espécies de *Candida*, constituindo as chamadas candidíases (FURLANETO-MAIA *et al.*, 2007).

2.1.1.1 Candidíases

A correlação entre cepas de *Candida* e infecções nosocomiais, passou a ter uma abordagem significativa a partir do trabalho de Beck-Sagué e Jarvis (1993) que, avaliando dados do *Centers for Disease Control and Prevention* de Atlanta, nos Estados Unidos, detectaram um aumento de 1,8% nos índices anuais de patologias fúngicas, sendo 78,3% ocasionadas por espécies dessa levedura.

Embora esteja relacionada à ocorrência de doença, pode ainda ser encontrada apenas colonizando pele, mucosas e trato gastrointestinal por fazer parte da microbiota humana. Todavia, alterações orgânicas dependendo da natureza, favorecem a mudança do estado de colonização para infecção (CARVALHO *et al.*, 2003). Neste sentido, o desequilíbrio da microbiota pode favorecer os variados quadros clínicos de candidíases sendo significativos em pacientes transplantados, diabéticos, acometidos pelo HIV, com neoplasias, submetidos a tratamentos quimioterápicos e radioterápicos, entre outros procedimentos invasivos, e ainda em permanência hospitalar prolongada, sobretudo em UTIs (MICHALOPOULOS *et al.*, 2003).

No recém-nascido, espécies de *Candida* presentes no assoalho bucal induzem à primeira manifestação clínica, com aspecto pseudomembranoso, onde a única forma de defesa imunológica é a imunoglobulina A secretória adquirida do leite materno. Contudo, candidíase pode ser adquirida durante amamentação ou através do canal vaginal e em centros cirúrgicos durante o parto (CARVALHO *et al.*, 2003; PAPPAS *et al.*, 2003).

Segundo Furlaneto-Maia *et al.* (2007), a candidíase é a principal infecção fúngica oportunista, expressando a variedade de relações que ocorrem entre o hospedeiro e a microbiota autóctone, podendo variar desde comensalismo a doença sistêmica fatal. A cepa que coloniza, posteriormente, pode tornar-se infectante ocasionando candidíase invasiva cerca de oito dias após a colonização (SCHELENZ, 2008). Ainda, fatores predisponentes dados a fisiologia como infância e velhice constituem indubitavelmente as fases onde ocorre uma maior predisposição a essa levedurese, em decorrência da imaturidade e supressão fisiológica do sistema imune (DIGNANI; SOLOMKIN; ANAISSIE, 2003).

Em UTIs a candidíase assume um papel de destaque devido à frequência e incidência causando quadros clínicos graves principalmente após procedimentos cirúrgicos e durante quadros de imunossupressão (TRICK *et al.*, 2002). As manifestações clínicas

podem ser aguda ou crônica, superficial, sistêmica ou disseminada em múltiplos órgãos (DIGNANI; SOLOMKIN; ANAISSIE, 2003). As formas muco-cutâneas podem ser documentadas em pacientes hígidos. No entanto, as sistêmicas e disseminadas, que acometem vísceras como resultado de disseminação hematogênica, se restringem aos imunocomprometidos expostos aos diversos fatores de risco (DIGNANI; SOLOMKIN; ANAISSIE, 2003; COLOMBO; GUIMARÃES, 2003).

Espécies de *Candida* podem ainda ser responsáveis por surtos de candidíase associados à nutrição parenteral, onde as soluções são contaminadas durante a preparação ou administração ou através do uso de dispositivos invasivos como cateteres e próteses (BAKIR *et al.*, 2006; BONASSOLI; BERTOLI; SVIDZINSKI, 2005; FALAGAS; APOSTOLOU; PAPPAS, 2006). A ocorrência de hematologia maligna é outro fator frequentemente associado à ocorrência dessa levedurese, representando 58% das infecções fúngicas que acometem portadores de leucemia, principalmente leucemia mieloide aguda (PAGANO *et al.*, 2006); com aumento significativo na última década, destacando-se entre as principais causas de infecções nosocomiais (COLOMBO; GUIMARÃES, 2007).

Noriega-Iriondo, Vázquez-Elizondo e Carrillo-Esper (2008) relacionaram fatores predisponentes às candidíases invasivas dentre os quais citam que quadros de neutropenia e transplante de medula óssea tem como causa frequente *C. tropicalis*, sendo *C. glabrata* e *C. krusei* associadas ao uso prévio de fluconazol, *C. parapsilosis* ao uso de instrumentos invasivos como cateter, nutrição parenteral e pacientes neonatos e *C. albicans* a procedimentos invasivos em UTIs e sepse aguda.

Em 1963, eram conhecidas apenas cinco espécies capazes de causar doença humana, sendo posteriormente conhecidas cerca de dezessete espécies causadoras de micoses superficiais ou invasivas, destacando-se *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* e *C. lusitaniae*. Entretanto, números progressivos de casos relacionados a espécies emergentes têm sido descritos, envolvendo isolamento de *C. dubliniensis*, *C. kefyr*, *C. rugosa*, *C. famata*, *C. utilis*, *C. lipolytica*, *C. norvegensis*, *C. inconspícua*, entre outras (COLEMAN *et al.*, 1998; DIGNANI; SOLOMKIN; ANAISSIE, 2003).

No Brasil, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* são espécies não-*albicans* mais frequentemente isoladas e tal perfil epidemiológico difere dos Estados Unidos que aponta

C. glabrata como sendo a segunda espécie mais frequente (NUCCI; COLOMBO *et al.*, 2003).

A ocorrência de espécies não-*albicans* em neutropênicos portadores de neoplasias, que realizaram profilaxia com fluconazol vem sendo cada vez mais relatada (NUCCI; COLOMBO *et al.*, 2003). Assim como a relação de *C. parapsilosis* com surtos hospitalares possivelmente veiculados através das mãos dos profissionais de saúde, consideradas uma possível fonte ambiental predominante (BONASSOLI; BERTOLI; SVIDZINSKI, 2005).

Em estudo realizado por Kumar *et al.* (2005) na Índia com 141 amostras clínicas de portadores de neoplasias hematológicas, foram obtidos 29 isolados de *Candida*, dos quais 58,6% *C. albicans*, 34,5% *C. tropicalis* e 6,9% *C. krusei*.

Nos anos 80 esses fungos eram o sétimo patógeno mais frequente em infecções nosocomiais da corrente sanguínea; no entanto, a partir da década de 90 as leveduras do gênero *Candida* tornaram-se a terceira causa de infecção hospitalar (COLOMBO *et al.*, 2006).

Em um hospital infantil da cidade do México, Reséndiz-Sánchez e Morales-Aguierre (2007) estudaram casos de infecção fúngica invasiva com isolamento de 134 culturas de fungos das quais 45 foram espécies de *Candida*. García *et al.* (2007) em outro estudo mexicano avaliaram episódios de candidíase invasiva em 567 pacientes internados em UTIs para adultos, com 4,2% dos casos diagnosticados, atingindo mortalidade associada de 37,5%. No mesmo ano, Paula e colaboradores avaliaram a ocorrência de infecções fúngicas nosocomiais em hospitais público de São Paulo e constataram que as UTIs são os setores hospitalares onde ocorre maior incidência, estando os casos de candidemia associados a um elevado número de óbitos (58%) e as espécies mais frequentes foram *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*.

Os casos de candidíase, embora possam ocorrer por diversas espécies de *Candida* casuísticas de todas as partes do mundo, apontam *C. albicans* à espécie mais frequentemente isolada em infecções superficiais e invasivas em diferentes sítios anatômicos (FURLANETO-MAIA *et al.*, 2007). Contudo, Hahn *et al.* (2008) ressaltam a importância de *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* como patógenos oportunistas, sendo *C. tropicalis*, em alguns casos, a mais incidente em doentes internados em UTI, detectada em 20-24% dos casos, seguida por *C. albicans* e *C. parapsilosis*.

Também Carrillo-Esper, Carrillo-Córdova e Carrilo-Córdova (2009), ao estudarem casos de sepse em UTIs dos quais 10% foram ocasionados por fungos, verificaram que *C. albicans* estava envolvida em 76% dos casos e espécies não-*albicans* em 24%. Acometendo imunossuprimidos, ainda *C. guilliermondii* é outra espécie de *Candida* não-*albicans* foi detectada em casos de candidíases, como causa de fungemia em portadores de leucemia (CARVALHO-PARAHYM *et al.*, 2009) além de esofagite em diabéticos (MACÊDO *et al.*, 2010).

No avanço da candidíase, torna-se relevante o conhecimento da epidemiologia, a qual varia de acordo com a região demográfica, características do grupo de indivíduos estudado, sítio anatômico acometido e causas da infecção (NGUYEN *et al.*, 1996). De acordo com Colombo e Guimarães (2003), conhecer a origem da infecção pode contribuir para prevenção da propagação clonal de microrganismos resistentes e instituição da profilaxia antifúngica adequada.

Na epidemiologia desta micose, a caracterização dos agentes etiológicos conduz o tratamento a ser instituído e auxilia na detecção de recorrência ou nova infecção por outra cepa. Os recursos laboratoriais utilizados para o diagnóstico de candidíases são indispensáveis e sua capacidade em definir infecção é inquestionável. Contudo, não há protocolos padronizados que sejam reconhecidos e que possam oferecer subsídios capazes de prever precocemente o risco da presença de leveduras em amostras provenientes do trato urinário ou respiratório, mesmo considerando a probabilidade de uma colonização evoluir em infecções de alta morbidade e mortalidade em determinados casos clínicos (CHONG *et al.*, 2006; RANGEL-FRAUSTO *et al.*, 1999). Neste contexto, as culturas resultantes de materiais como sangue, líquido cefalorraquidiano, líquido sinovial, secreção de abscesso coletado esterilmente ou qualquer outro espécime cirúrgico, são consideradas representativas para o diagnóstico de candidíase sistêmica (PATEL *et al.*, 2005).

Nas duas últimas décadas, avanços na biologia molecular (CARVALHO-PARAHYM *et al.*, 2011) levaram ao desenvolvimento de técnicas para genotipagem de isolados clínicos de leveduras patógenas ao homem, necessários para a detecção de populações clonais entre os isolados, o que têm facilitado estudos epidemiológicos (ERJAVEC; VERWEIJ, 2002; SOLL, 2000). A caracterização da diversidade genética de *C. albicans* e não-*albicans* auxilia instituição da terapia mais adequada para cada paciente. Adicionalmente, os métodos de genotipagem são considerados importantes na

identificação da fonte de contaminação, tais como os instrumentos invasivos, como o cateter; as mãos dos profissionais de saúde; ou ainda os sítios endógenos (CHONG *et al.*, 2006).

Considerando a incidência e o frequente curso fatal da candidíase invasiva, técnicas moleculares de genotipagem dos agentes etiológicos pode fornecer importantes informações para compreensão e controle da disseminação nosocomial (PAULA *et al.*, 2007).

Latouche *et al.* (1997) afirmam que as técnicas moleculares, entre essas a análise das sequências internas simples repetidas do genoma (ISSR) com os primers (GTG)₅ e (GACA)₄, são simples, rápidas, estáveis, sensíveis, altamente reprodutíveis e bem adaptadas para identificação das espécies de *Candida* (CARVALHO-PARAHYM *et al.*, 2011).

Diaz-Guerra *et al.* (1997) procederam à análise molecular com o marcador de ISSR M13 de isolados de *C. albicans* provenientes de pacientes portadores do HIV que apresentaram quadros de candidíase oral e constataram a existência de uma população geneticamente heterogênea. A análise das ISSR pode inferir a possível fonte de infecção, utilizando o primer (GACA)₄ como descrito por Roilides *et al.* (2003) com isolados de *C. tropicalis* em dois casos de fungemia ocorridos na UTI neonatal, sendo detectado que um paciente foi infectado e colonizado pelo mesmo subtipo, podendo-se inferir que a colonização prévia é uma fonte de infecção em casos de fungemia em neonatos.

Sarvikivi *et al.* (2005) descrevem um surto clonal de infecções por *C. parapsilosis* detectado através da análise molecular dos isolados provenientes de diferentes amostras clínicas de pacientes internados na UTI neonatal de um hospital da Finlândia com a sonda CP3-13. Tal achado também foi relatado por Dizbay *et al.* (2008) em pacientes internados em UTI onde foi detectado o mesmo padrão de bandas em quatro isolados de pacientes distintos.

Humhreys (2004) afirma que através da utilização de primers de RAPD (DNA polimórfico amplificado arbitrariamente) é possível relacionar espécies de *Candida* clinicamente relevantes. Alguns autores têm demonstrado a ocorrência de padrões de bandas distintos em isolados de *C. albicans*, *C. lusitaniae*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. glabrata* e *C. haemulonii*, tornando possível diferenciar essas espécies (PINTO *et al.* 2004). Giammanco *et al.* (2005) utilizaram análise molecular pela técnica de RAPD a

fim de comprovar a eficácia do método de morfotipagem na caracterização de isolados clínicos de *C. albicans*, detectando que essa análise fenotípica não foi eficiente e reprodutível quando comparada aos resultados genotípicos.

Valério, Weikert-Oliveira e Resende (2006) diferenciaram espécies de *Candida* isoladas de cateter, urina e feridas cirúrgicas pela técnica de RAPD. A análise do DNA genômico revelou baixo polimorfismo intra-específico e não permitiu a diferenciação entre amostras da mesma espécie obtidas a partir de diferentes espécimes clínicos; no entanto, foi capaz de diferenciar as espécies de *Candida*.

Para detectar a diversidade genética, Marol e Yücesoy (2007) realizaram a epidemiologia molecular de isolados de *Candida* provenientes de amostras clínicas de pacientes internados em UTI. Através da técnica de RAPD foi verificada uma população geneticamente distinta, exceto três isolados de *C. albicans* que apresentaram o mesmo padrão de bandas. Dessa forma, os autores detectaram que a maioria das infecções teve origem endógena exceto as causadas por cepas de *C. albicans* similares.

Rocha *et al.* (2008) afirmam que a técnica de RAPD pode ser usada para a confirmação das espécies de *Candida* identificadas através de testes microbiológicos. Tendo sido realizada por estes autores confirmação taxonômica de 34 isolados obtidos de amostras de sangue, urina e secreção orofaríngea. A confirmação taxonômica de isolados de *Candida* também pode ser procedida utilizando a análise do espaço transcrito interno (ITS) e sequenciamento dessa região, como descrito por Oliveira *et al.* (2008) que ao revisar a taxonomia de *C. tropicalis*, verificaram que um isolado não pertencia a essa espécie sendo posteriormente identificada como *C. albicans*.

Conforme ressaltado, as espécies de *Candida* podem ser responsáveis por variados quadros clínicos, desde infecções superficiais as de acometimento sistêmico incluindo as da corrente sanguínea caracterizando a candidemia, mais relatada em imunocomprometidos (NUCCI; MARR, 2005; RICHARDSON, 2005).

Candidemia

A ocorrência de candidemia nas últimas décadas tem sido crescente em hospitais terciários em diferentes partes do mundo, sendo verificado nos Estados Unidos que, nos anos 80, sua incidência aumentou cerca de 400% (Beck-Sagué; Jarvis, 1993), com

incidência estimada de 1,9 a 11 casos para cada 100.000 pacientes hospitalizados ao ano (POIKONEN *et al.*, 2003; SCHELENZ; GRANSDEN, 2003).

Esta levedurose está associada a altos índices de morbidade em doentes críticos levando a uma estadia prolongada em UTI e consequente aumento da duração da internação hospitalar, resultando em maiores custos, maior período de ventilação mecânica e realização de hemodiálise (BLOT *et al.*, 2002), alcançando mortalidade atribuível de aproximadamente 71% (GUDLAUGSOON *et al.*, 2003). Infecções da corrente sanguínea por *Candida* são ainda citadas como a quarta maior causa de infecção nosocomial e a terceira em pacientes internados na UTI, estando associada ao aumento de 15,5 dias na permanência hospitalar (OLAECHEA *et al.*, 2004; WISPLINGHOFF *et al.*, 2004).

As condições predisponentes mais frequentes associadas à candidemia, incluem o uso de antibióticos (97%), presença de cateter venoso central (77%), nutrição parenteral total (49%), internamento em UTI (41%), uso de corticosteróide (39%) e cirurgia do aparelho digestivo (35%) (VERDUYN-LUNEL; WENZEL; VOSS, 1999). Esta micose corresponde a 8-10% de todas as infecções hospitalares, ocorrendo mais da metade dos casos em UTIs médica ou cirúrgica (BASSETTI *et al.*, 2006; GAREY *et al.*, 2006; HUGHES; FLYNN, 2004; WISPLINGHOFF *et al.*, 2004).

A crescente incidência de candidemia e outras infecções por *Candida* podem ainda ser atribuídas a outros fatores endógenos e exógenos, sendo granulocitopenia um importante fator de risco para o seu desenvolvimento. O tratamento de pacientes com câncer induz granulocitopenia significativa por um longo tempo de duração (ABRAHAM *et al.*, 2002), sendo os processos infecciosos a maior causa de morbidade e mortalidade secundária ao tratamento do câncer (ALEXANDER *et al.*, 2002).

O desenvolvimento dessa levedurose implica em imunodeficiência severa, uma vez que ocorre com frequência em pacientes imunocomprometidos e mais especificamente, em 10-20% dos pacientes com desordens mieloproliferativas ou leucemia e em até 74% dos pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida (aids) (HAJJEH *et al.*, 2004). O uso de cateter venoso é outro fator que está intimamente relacionado a episódios de candidemia, ocorrendo em 87% a 98% dos pacientes internados em UTIs, sendo nessas a retirada do dispositivo, sempre que possível, indicada a fim de auxiliar no tratamento e reduzir a mortalidade (PAPPAS *et al.*, 2004; RAAD *et al.*, 2004). Da mesma forma danos à mucosa orofaríngea através do uso de drogas citotóxicas agressivas facilita a colonização

por espécies de *Candida* e subsequente invasão (NUCCI; MARR, 2005; RICHARDSON, 2005).

Essa levedura, frequentemente, coloniza sítios corpóreos não-estéreis e em UTIs cirúrgicas os locais mais frequentemente colonizados são a orofaringe (63%), trato urinário (25%) e intestino (11%). No entanto, espécies de *Candida* também podem ser encontradas em outras áreas, como na luz dos dispositivos invasivos incluindo cateteres urinários, sendo o risco de colonização aumentado com a duração da internação na UTI, uso de sonda vesical e de antibióticos como a vancomicina ou imipenem (CHARLES *et al.*, 2005; RAMAGE *et al.*, 2005).

Cheng *et al.* (2006) relatam que de 91 episódios de candidemia, 3% são de origem comunitária e 97% nosocomial, sendo verificado que 79,5% dos casos foram precedidos por colonização, considerando que as taxas mais elevadas de colonização foram detectadas na urina (40%) e no cateter venoso central (35%).

Liu *et al.* (2009) estudaram o impacto da remoção do cateter em portadores de câncer com candidemia, sendo detectado que os pacientes onde o cateter não foi removido apresentaram um risco de mortalidade 7,15 vezes superior aos que removeram. Contudo, Tiraboschi *et al.* (2007) afirmam que na maioria dos casos, a porta de entrada da levedura no sistema sanguíneo é o intestino, mas em alguns pacientes, especialmente aqueles com cateteres venosos centrais, a pele é a possível fonte de infecção, podendo ocorrer também infecções cruzadas decorrentes da má higienização das mãos de profissionais de saúde.

Tumbarello *et al.* (2007) detectaram que os fatores de risco mais comuns estavam correlacionados com comorbidades, como tumores sólidos malignos (40,1%), seguida de diabetes *mellitus* (19,7%) e doenças hepáticas (10,2%), bem como o número de dias de hemodiálise, ventilação mecânica e realização de procedimentos cirúrgicos.

Paula *et al.* (2007) relatam um surto de fungemia por *Candida* onde a contaminação foi exógena verificada através da análise da similaridade genética que revelou perfis moleculares idênticos em isolados de pacientes distintos, o que indica também infecção cruzada entre os pacientes.

Ásmundsdóttir *et al.* (2008) avaliaram o relacionamento genético através da análise das ISSRs com os primers (GACA)₄ e M13 de isolados clínicos de *Candida* provenientes de amostras de sangue na Islândia durante um período de 16 anos, 1991-2006, observando

através do padrão de bandas gerado que 18,7-39,9% dos casos foram ocasionados por cepas geneticamente relacionadas.

Candidemia geralmente é uma complicação hospitalar tardia, ocorrendo em média após 19,5 dias da admissão, sendo 46% dos episódios em pacientes internados em UTI, 27% portadores de câncer e desses, 38% de doenças hematológicas (COLOMBO *et al.*, 2006).

Essa forma clínica em portadores de doenças mieloproliferativas e/ou leucemia é frequentemente grave e de progressão rápida, ocorrendo em 10-20% dos casos diagnosticados (WILCOX; KAROWE, 1994).

Em estudo retrospectivo, Voss *et al.* (1996) avaliaram infecções da corrente sanguínea documentadas em cinco hospitais da Holanda e observaram que a casuística da candidemia teve um aumento de 100%, passando de 53 para 95 episódios/ano.

A incidência de agentes causadores de infecções de corrente sanguínea foi avaliada em estudo realizado em um hospital terciário em Winnipeg, Manitoba, Canadá, sendo detectados 816 casos de fungemias, dos quais 771 foram causados por espécies de *Candida* (KARLOWSKY *et al.*, 1997). Em outro estudo norte americano, Edmond *et al.* (1999) avaliaram a prevalência de diferentes agentes relacionados a infecções de corrente sanguínea em pacientes admitidos em 49 hospitais, sendo espécies de *Candida* isoladas em 7,6% dos casos, representando a quarta causa mais comum de infecções de corrente sanguínea.

BLUMBERG *et al.* (2001) procederam um estudo nos Estados Unidos com pacientes internados em UTI cirúrgica que apresentavam hemocultura positiva para *Candida* após 48 horas de internação e realizaram a tipagem molecular, através da eletroforese em campo pulsado com a utilização da enzima de restrição BssHII, de 18 pares de espécies de *Candida* isoladas de urocultura, obtida no momento da admissão, e hemocultura, detectando 17 padrões de bandas idênticos, o que indica uma possível infecção endógena.

No Brasil, Colombo *et al.* (2003) conduziram um estudo epidemiológico reunindo dados sobre infecções sistêmicas documentadas em quatro hospitais da cidade de São Paulo, onde foi registrado um total de 7.038 episódios de bacteremias e fungemias, sendo 4,3 % causadas por espécies de *Candida*. Contudo, nos casos de neoplasias estas estão também associadas com candidemia, apresentando taxa de mortalidade que variam de 30%

a 75% (GUDLAUGSSON *et al.*, 2003; PAPPAS *et al.*, 2003). Falagas, Apostolou e Pappas (2006) relatam a existência de uma considerável relação entre candidemia e mortalidade atribuída, cujo óbito não pode ser relacionado devido à presença de outras comorbidades.

Pancera *et al.* (2004) analisaram casos de sepse em pacientes oncológicos e detectaram que espécies de *Candida* estiveram presentes em 20% dos casos, sempre associadas a agentes bacterianos. Ainda quanto a candidemia, Colombo *et al.* (2006) avaliaram a epidemiologia em 11 hospitais terciários, representantes de nove cidades brasileiras, detectando 712 casos com incidência de 2,49 casos por 1.000 admissões e 0,37 casos por 1.000 pacientes-dia. Desses pacientes 32% eram crianças, em sua maioria, portadoras de câncer, doença neurológica ou pulmonar.

De acordo com Alonso-Valle *et al.* (2003), os aspectos clínicos da candidemia são inespecíficos, em alguns pacientes, as complicações infecciosas documentadas em vísceras aparecem semanas ou meses após a infecção, como acontece em alguns casos de retinite, meningite ou osteomielite por espécies de *Candida*. Para Dignani, Solomkin e Anaissie (2003) após a ocorrência de candidemia essa infecção pode disseminar-se por diferentes partes do corpo, como o sistema nervoso central, que apresenta elevada frequência em neonatos prematuros; o coração, desencadeando infecção no tecido endocárdico; as articulações, comumente observadas em crianças; e raramente o fígado e baço.

Segundo Aquino *et al.* (2005), em 87% dos episódios de candidemia pode ocorrer febre, lesões cutâneas em 13,1% e oculares em 3,9%. Colombo *et al.* (2007) relatam que dos pacientes com infecções sanguíneas, dentre essas candidemia, 48% estão internados em UTI, 36% em enfermarias, 8% em unidades hemato-oncológicas e 7% em outras unidades médicas e que os sinais clínicos incluem febre em 74% dos casos, hipotermia em 10% e hipotensão em 19%.

Klastersky; Aoun (2004) consideram a hemocultura o padrão-ouro para o diagnóstico dessa micose. Entretanto, a sensibilidade deste exame é de 50% a 60%, o que pode propiciar um diagnóstico falso-negativo e, conseqüentemente, resultar numa subestimação do impacto da mesma. Tal realidade obriga a busca de novas alternativas de diagnóstico laboratorial com resultados de melhor fidelidade, ficando as técnicas de biologia molecular como o método mais promissor. Dessa forma, em várias ocasiões o

médico é forçado a conduzir um tratamento empírico com base nos fatores de riscos e na suspeita clínica (OLAECHEA *et al.*, 2004).

Estudo realizado em 28 hospitais na Espanha mostra que o tratamento iniciado após 48h do início da candidemia está associado com uma probabilidade de maior sobrevivência (NOLLA-SALAS *et al.*, 1997). A profilaxia antifúngica diminui casos de candidíase invasiva em pacientes neutropênicos (MARR *et al.*, 2000), sendo a candidemia um fator de risco independente para mortalidade durante a hospitalização e o resultado prognóstico do paciente depende da administração precoce da terapia adequada (MORGAN *et al.*, 2005).

Garey *et al.* (2006) enfatizou a importância do tratamento precoce, verificando que as taxas de mortalidade são de 24% em pacientes que iniciam a terapia antifúngica no primeiro dia de infecção e 41% após este período. Kumar *et al.* (2006) demonstraram aumento da taxa de mortalidade em pacientes com choque séptico com fungos associados, sendo detectado que a cada hora de atraso do tratamento há uma redução de 12% da probabilidade de sobrevivência.

Parkins *et al.* (2007) investigaram a relação entre a adequação da terapia antifúngica empírica e os resultados das infecções invasivas e da corrente sanguínea por *Candida* em 207 pacientes, verificando que apenas um terço dos pacientes que receberam tratamento empírico o mesmo foi considerado adequado, sendo o sucesso terapêutico associado com uma redução da mortalidade de 46% para 27%.

Um problema particular em pacientes com candidemia é a dificuldade em distinguir clinicamente sepse bacteriana, pelo menos no início da infecção. Isso muitas vezes leva a um atraso na instituição da terapia antifúngica e a escolha de terapia empírica inicial pode ser inadequada (RICHARDSON; LASS-FLÖRL, 2008), sendo o uso de terapia adequada associado a um risco reduzido de morte (GUERY *et al.*, 2009).

A frequência da distribuição das espécies de *Candida* varia de acordo com a geografia (EGGIMANN; GARBINO; PITTET, 2003), sendo verificadas variações significativas nas espécies documentadas em diferentes países.

Abi-Said *et al.* (1997) descreveram a epidemiologia da candidíase em pacientes com câncer internados em um hospital americano e *C. albicans* foi a principal causa de candidemia seguida de *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*, mesmo em pacientes com doenças hematológicas malignas, sendo de acordo com Macdonald, Baker e Chenoweth (1998), *C.*

albicans (58%) e *C. parapsilosis* (27%) as espécies mais frequentemente isoladas em pacientes pediátricos com câncer.

No entanto, Colombo *et al.* (1999) detectaram que de 145 episódios de candidemias ocorridos em um hospital brasileiro, apenas 37% foram desencadeados por *C. albicans*, enquanto os 63% restantes tiveram como agente causal espécies não-*albicans*.

Viscoli *et al.* (1999), em um estudo europeu com 249 episódios de candidemia com portadores de câncer, constataram que 49% dos isolados foram de *C. albicans* e 51% de espécies não-*albicans*, sendo 11% de *C. tropicalis*, 11% de *C. parapsilosis*, 10% de *C. glabrata*, 9% de *C. krusei* e 10% de outras espécies.

Espécies de *Candida* representam 9,2% dos patógenos isolados em casos de infecções da corrente sanguínea em UTI cirúrgica nos Estados Unidos, sendo *C. albicans* isolada em 48% dos casos, *C. glabrata* em 24%, *C. tropicalis* em 19%, *C. parapsilosis* em 7% e *C. lusitaniae* em 2% (BLUMBERG *et al.*, 2001).

De acordo com Ng *et al.* (2001), candidemias por *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* foram mais prevalentes que as causadas por *C. albicans* na Malásia.

Viudes *et al.* (2002) afirmam que em hospitais terciários da Espanha tem sido observado que as espécies mais comumente envolvidas em casos de fungemia em crianças são *C. albicans*, seguida por *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *C. tropicalis*.

Em estudo realizado por Trick *et al.* (2002), em 1.116 UTIs dos Estados Unidos foram detectados 2.358 casos de infecções da corrente sanguínea por espécies de *Candida*, sendo *C. albicans* responsável por 59% dos casos, *C. glabrata* 12%, *C. parapsilosis* 11%, *C. tropicalis* 10% e *C. krusei* 1,2%. Desses casos, 55% eram pacientes do sexo masculino, 93% usavam cateter venoso central e 56% receberam nutrição parenteral.

Segundo Diekema *et al.* (2002) e Pfaller e Diekema (2002), *C. albicans* permanece como uma das espécies mais isoladas em infecções da corrente sanguínea. No entanto, espécies emergentes como *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* têm se tornado notáveis (MACPHAIL *et al.*, 2002), representando cerca da metade dos casos de candidemia (PAPPAS *et al.*, 2003).

De acordo com Wisplinghoff *et al.* (2004), *C. albicans* é documentada em 44% e 62% das infecções de corrente sanguínea na América Latina e na Europa respectivamente, sendo cerca de 95% dos episódios de candidemia causados por *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*.

Marchetti *et al.* (2004) realizaram um levantamento nacional na Suíça em hospitais terciários e avaliaram a epidemiologia da candidemia no decênio 1991-2000 verificando que *C. albicans* foi a espécie mais predominante, no entanto, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei* também estiveram envolvidas nessa forma clínica.

Pfaller e Diekema (2004) sugerem que o aumento da idade do paciente e a exposição a antifúngicos azóis em esquemas profiláticos podem está associados à redução do número de infecções por *C. albicans*.

Almirante *et al.* (2005), estudando episódios de candidemia na Espanha detectaram que *C. albicans* foi isolada em 51% dos casos, *C. parapsilosis* em 23%, *C. tropicalis* em 10%, *C. glabrata* em 9%, *C. krusei* em 4% e outras espécies em 3% e que 57% dos cateteres venosos avaliados foram provavelmente a fonte de infecção.

Cheng *et al.* (2005) detectaram que de 130 pacientes internados em um hospital japonês, cuja morte foi associada à candidemia, 55 (42,3%) foram consideradas diretamente relacionadas a essa micose, tendo como fatores predisponentes idade inferior a 65 anos, realização de quimioterapia, neutropenia e trombocitopenia graves.

Em um estudo francês Vigouroux *et al.* (2006) analisaram 45 casos de candidemia em pacientes internados com idades entre 5-80 anos e detectaram que essa micose ocorre durante a primeira linha de tratamento em 64% dos pacientes com leucemia, 90% com mieloma e 78% com linfoma, sendo *C. albicans* a espécie isolada predominantemente, tendo sido isoladas também *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr*, *C. glabrata* e *C. pelliculosa*, apresentando mortalidade atribuível de 15%.

Almirante *et al.* (2006) procederam um estudo prospectivo em 14 hospitais de Barcelona- Espanha, detectando que de 345 casos de candidemia, em 175 *C. albicans* foi a espécie envolvida, *C. glabrata* 29, *C. parapsilosis* 78, *C. krusei* 12 e *C. tropicalis* 34, sendo dessa forma *C. parapsilosis* a espécie não-*albicans* mais frequentemente isolada.

Sandven *et al.* (2006) avaliaram episódios de infecções da corrente sanguínea por *Candida* na Noruega durante o período de 1991-2003, obtendo um total de 1.393 casos, sendo *C. albicans* a espécie mais frequentemente isolada, vindo procedida por *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. dubliniensis*, verificando também que a ocorrência de fungemia por *C. albicans* reduziu com o aumento da idade, diferentemente de *C. glabrata* que apresentou aumento gradual com a idade, ocorrendo em quase um terço de todos os episódios em pacientes com 80 anos ou mais.

Em estudo realizado em Taiwan com infecções da corrente sanguínea por espécies de *Candida*, foi detectado que as mais incidentes foram *C. albicans* em 59 casos, *C. tropicalis* em 18 e *C. guilliermondii* em seis (CHENG *et al.*, 2006).

Dimopoulos *et al.* (2007) analisaram episódios de candidemia adquiridos em UTI cirúrgica em um hospital da Grécia, sendo *C. albicans* a espécie mais frequentemente isolada. Posteriormente, em outro estudo grego, Dimopoulos *et al.* (2008) detectaram que *C. albicans* é isolada em 64,3% dos pacientes adultos internos em UTI cirúrgica e espécies não-*albicans* em 35,7%.

Na Turquia, *C. albicans* foi a espécie mais frequentemente detectada (65,6%), seguida por *C. parapsilosis* (11,3%) e *C. glabrata* (8,8%) (COMERT *et al.*, 2007).

Em estudo realizado em um hospital italiano, Tumbarello *et al.* (2007) detectaram que outras espécies de *Candida* podem ser mais isoladas em episódios de candidemias que *C. albicans*, detectando em seu estudo que as espécies mais prevalentes foram *C. tropicalis* (71,4%), *C. glabrata* (23,1%), *C. albicans* (22,6%) e *C. parapsilosis* (21,8%).

Chow *et al.* (2008) avaliaram 146 pacientes portadores de fungemia em dois hospitais terciário americanos, sendo 79 casos ocasionados por *C. albicans* e 67 por espécies não-*albicans*, dos quais 33 foram por *C. glabrata*, 13 *C. tropicalis*, 12 *C. parapsilosis*, 4 *C. lusitaniae*, 3 *C. krusei* e 2 *C. dubliniensis*, sendo esses pacientes com idade mais avançada e expostos a um maior período de internação.

Xie *et al.* (2008), estudando pacientes com sepse grave em várias UTIs cirúrgicas na China determinaram que *C. albicans* foi a espécie mais frequentemente isolada vindo procedida por *C. tropicalis* e *C. glabrata*.

Em estudo epidemiológico desenvolvido no Texas por Hachem *et al.* (2008) foi verificado que quadros de candidemia por *C. glabrata* e *C. krusei* são mais frequentes em doentes com doenças hematológicas malignas e por *C. albicans* e *C. parapsilosis* naqueles com tumores sólidos.

No Brasil, Colombo *et al.* (2007) estudaram a epidemiologia da candidemia em quatro hospitais terciários da cidade de São Paulo, Brasil, sendo obtidas 15% de culturas de sangue positivas, das quais 4% para espécies de *Candida*, sendo *C. albicans* a espécie mais frequentemente isolada em todos os hospitais. No entanto, outras espécies representaram 62%, sendo *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* as mais isoladas, embora vários casos de

fungemia por *C. rugosa* e *C. guilliermondii* tenham sido relatados em uma única instituição.

Em hospital público no Paraná, França, Ribeiro e Queiroz-Telles (2008) detectaram 100 episódios de candidemia entre 2001 e 2004, com predominância em adultos acima de 50 anos e do sexo masculino, sendo *C. albicans* isolada em 59% dos episódios, seguida por *C. tropicalis* (15%), *C. parapsilosis* (9%) e *C. glabrata* (7%).

As infecções da corrente sanguínea por *C. glabrata* são emergentes (ABI-SAID *et al.*, 1997). O motivo para a ocorrência dessa levedura é multifatorial, podendo ser devido a características geográficas, idade, populações de pacientes e a utilização do fluconazol (BADDLEY *et al.*, 2001; MARR *et al.*, 2000; SAFRAN; DAWSON, 1997).

Desde a década de 1990, o fluconazol tem sido amplamente utilizado para profilaxia e tratamento de infecções fúngicas invasivas em pacientes imunossuprimidos, o que resultou na diminuição da sua incidência mundial e no aumento da ocorrência de espécies não-*albicans* como *C. glabrata* e outras (MARTINO; SUBIRA, 2002). Essa espécie tem sido observada mais comumente em adultos com mais de 60 anos e em portadores de leucemia ou que tenham recebido transplante de células-tronco (DIEKEMA *et al.*, 2002).

Infecções por *C. glabrata* respondem por 20% das ocorrências nos Estados Unidos, 15% na Europa, 10% na Ásia e 5% na América Latina (PFALLER *et al.*, 2004). A importância desta tendência epidemiológica é que essa espécie é frequentemente resistente ao fluconazol, o agente mais utilizado para o tratamento de candidemia em hospitais que apresentam maior incidência de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, e *C. tropicalis*. No entanto, caso a prevalência de *C. glabrata* seja maior que 15 a 20% dos isolados, esse composto não deve ser utilizado como primeira escolha para o tratamento dessa levedurose (PAPPAS *et al.*, 2004).

C. parapsilosis é outra espécie frequente no ambiente hospitalar, apresentando-se desde os anos 80 como um importante patógeno de fungemias, sendo responsável por 7% e 15% das candidemias nos Estados Unidos e Europa, respectivamente (PFALLER, 1996; Voss *et al.*, 1996), no entanto, sua ocorrência é ainda maior em crianças (SHIN *et al.*, 2002) e recém-nascidos prematuros internados em UTIs, onde sua prevalência é de 17% a 50% dos casos (Levy, 1998). Essa espécie está associada ao uso de dispositivos invasivos,

sendo conhecida por aderir à superfície de cateteres através de uma bainha de fibrina (MERMEL *et al.*, 2001).

Em países da América Latina, *C. parapsilosis* tem sido reconhecida como a segunda principal causa de infecção invasiva (GODOY *et al.*, 2003; GOLDANI; MARIO, 2003). Caracteristicamente, prolifera-se em soluções contendo glicose, tem grande capacidade de produzir biofilme e frequentemente coloniza a pele. Vários estudos estabelecem claramente uma associação entre a utilização de cateter venoso em posição central e maior ocorrência de fungemia por esse patógeno (COLOMBO; GUIMARÃES, 2003).

Após aumento da frequência do isolamento de *C. parapsilosis* em amostras de sangue e ponta de cateter nas UTIs, Clark *et al.* (2004) realizaram um estudo epidemiológico a fim de detectar possível fonte de infecção, comparando os isolados das mãos dos profissionais de saúde do hospital com os dos pacientes por análise molecular, verificando grande similaridade entre algumas cepas.

Essa levedura é frequentemente isolada em quadros de candidemias e é a segunda espécie mais presente em hemoculturas na Europa (PFALLER; RINALDI; DIEKEMA, 2005), sendo conhecida por colonizar as mãos de profissionais de saúde, enfatizando a importância da higiene (BONASSOLLI, BERTOLI; SVIDIZINSKI, 2005).

Almirante *et al.* (2006) relatam que pacientes recém-nascidos, transplantados, que receberam terapia antifúngica e que fazem nutrição parenteral são os mais susceptíveis a fungemia por *C. parapsilosis*.

No Brasil ocorre uma maior predominância de *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* entre as espécies não-*albicans* (COLOMBO *et al.*, 2006), apresentando *C. parapsilosis* menor taxa de mortalidade (TAVANTI *et al.*, 2007). Segundo Paula *et al.* (2007), *C. albicans* e *C. parapsilosis* são as espécies mais comuns em casos de candidemia em um hospital da cidade de São Paulo. Hinrichsen *et al.* (2008) realizaram um estudo em um hospital terciário particular do Recife, com 5.532 pacientes, desses 18 apresentaram candidemia ocasionada em sua predominância por *C. parapsilosis*, *C. albicans* e *C. tropicalis*. Entre os pacientes 48% tinham idade superior a 60 anos, a pneumonia foi doença de base mais frequente e a mortalidade atribuível foi de 61%.

Dizbay *et al.* (2008) avaliaram quatro casos de fungemia por *C. parapsilosis* em pacientes internados em UTI neurológica pela técnica de RAPD a fim de detectar uma

possível população clonal, sendo verificado que todos os isolados apresentaram padrão de bandas similares o que indica mesma fonte de infecção hospitalar.

Tay, Na e Chong (2009) realizaram a diferenciação de *C. parapsilosis* isolada de pacientes com fungemia através da análise molecular das regiões ITS1-5.8S-ITS2 do rDNA, detectando que alguns isolados pertenciam a dois novos genótipos *C. orthopsilosis* (23,8%) e *C. metapsilosis* (4,8%).

C. tropicalis é outra uma espécie comumente isolada em episódios de candidemia, sendo agente oportunista de destaque durante a neutropenia, quando há supressão da microbiota bacteriana pelo uso de antimicrobianos e danos na mucosa gastrointestinal. Essa levedura tem sido relatada como o segundo ou terceiro agente etiológico mais comum de candidemia em pacientes com neoplasias, sendo sua frequência maior em leucemias e menor em tumores sólidos. Essa espécie é conhecida por ser uma importante causa de infecções em pacientes com câncer e ser mais virulenta que *C. albicans* em pacientes com neoplasias hematológicas, apresentando alta mortalidade (NUCCI *et al.*, 1998; WINGARD, 1995).

Em um estudo prospectivo em duas cidades dos Estados Unidos, foram analisados casos de candidemia e *C. tropicalis* foi mais frequente em pessoas com câncer e diabetes mellitus (KAO *et al.*, 1999). Segundo Kontoyiannis *et al.* (2001), a ocorrência de leucemia e neutropenia prolongada esta relacionada com a predominância de fungemia por *C. tropicalis*.

Ellis (2001) avaliando a epidemiologia das candidemias em um hospital do Oriente Médio verificou que *C. tropicalis* foi o segundo agente etiológico mais comum.

Em países da América Latina, particularmente o Brasil, esta espécie é extremamente frequente, mesmo entre pacientes não portadores de câncer, constituindo-se a segunda ou terceira principal causa de candidemia (GODOY *et al.*, 2003; GOLDANI; MARIO, 2003).

Chowdhary *et al.* (2003) relataram um surto de candidemia por *C. tropicalis*, envolvendo 16 recém-nascidos, e após amostragem ambiental a mesma espécie foi isolada de cobertores e colchões utilizados pelos recém-nascidos, sendo detectado através de análise molecular que os isolados clínicos e ambientais possuíam o mesmo genótipo, confirmando a fonte de infecção hospitalar.

Vigouroux *et al.* (2006) ressalta a alta incidência *C. tropicalis* em episódios de candidemia em portadores de leucemia e atribuem esse fato a ocorrência de neutropenia e uso de agentes citotóxicos que podem alterar a barreira mucosa do trato gastrointestinal e possibilitar a invasão da corrente sanguínea por essa levedura.

Chong *et al.* (2006) realizaram isolamento e epidemiologia molecular pela técnica de RAPD de oito isolados de *C. tropicalis* provenientes de hemoculturas de um único paciente no período de três meses. As linhagens foram submetidas à genotipagem e a similaridade dos isolados foi verificada, indicando mesma fonte de infecção.

Presterl *et al.* (2007) citam que essa levedura é responsável por 7% dos casos de candidemia e afirmam que a maioria das infecções tem origem endógena da microbiota do paciente.

Entre as espécies clinicamente relevantes *C. krusei* tem-se mostrado como um patógeno hospitalar ocasional, particularmente, em pacientes portadores de doenças hematológicas malignas e/ou submetidos a transplante de medula óssea (IWEN, 1995).

Alguns autores relataram aumento da ocorrência de fungemias causadas por essa espécie em pacientes neutropênicos expostos prolongadamente a fluconazol (COLOMBO; GUIMARÃES, 2003; WINGARD, 1995). Esta levedura é naturalmente resistente a esse fármaco, o que explica seu aumento em pacientes expostos a esse antifúngico (COLOMBO; GUIMARÃES, 2003).

No entanto, *C. krusei* ainda permanece como uma causa incomum de candidemia (SÓCZÓ *et al.*, 2007), tendo sua emergência associada à evolução clínica, devido à sua elevada taxa de mortalidade de 49% em comparação com 28% por *C. albicans* (HAUTALA *et al.*, 2007). A disseminação endógena do trato gastrointestinal é o principal mecanismo de infecção por essa levedura, particularmente em pacientes com neoplasias hematológicas (HAUTALA *et al.*, 2007).

Infecções invasivas por *C. guilliermondii* são raras, mas esta espécie vem sendo reconhecida por diferentes autores como agente emergente. A maioria dos casos descritos ocorre em pacientes com câncer (HAZEN, 1995).

Embora essa levedura seja considerada uma espécie de baixa virulência, tem causado quadros graves de candidíase invasiva em pacientes com câncer, em estado crítico, cirúrgicos e naqueles que foram submetidos à terapia prévia com anfotericina B (KRCMERY; BARNES, 2002).

C. guilliermondii esta envolvida em aproximadamente 3% dos casos de candidemia na América Latina e Brasil (PASQUALOTTO *et al.*, 2006), acarretando uma taxa de mortalidade de 48,9% e o tratamento antifúngico de infecções por essa levedura pode ser difícil devido a uma percentagem elevada de isolados apresentarem suscetibilidade reduzida ao fluconazol, itraconazol e caspofungina (GIRMENIA *et al.*, 2006; PASQUALOTTO; ANTUNES; SEVERO, 2006; PFALLER *et al.*, 2006).

Pemán *et al.* (2008) determinaram características clínicas dos casos de fungemia por *C. guilliermondii* em Valência, Espanha, verificando uma incidência de 1,1%, sendo adquiridos em média 20 dias após a admissão. Posteriormente foi realizada a confirmação taxonômica através da amplificação e seqüenciamento da região ITS.

Carvalho-Parahym *et al.* (2009) também relataram casos de candidemia por essa espécie em pacientes pediátricos brasileiros com neoplasias hematológicas malignas.

Entre as micoses oportunistas ocasionadas pelo gênero *Candida*, as candidemias são as mais frequentes em pacientes imunocomprometidos, no entanto, essa levedura está associada a diversas manifestações clínicas, entre essas as infecções do trato urinário (LUNDSTRON; SOBEL, 2001).

Candidúria

O termo candidúria, que não necessariamente envolve a presença de sinais e/ou sintomas de infecção urinária, pode ser definido como o crescimento de espécies de *Candida* em culturas de urina coletadas por técnicas apropriadas, estando presente em até 20% dos pacientes hospitalizados por longos períodos, particularmente em UTI (NUCCI, 2000).

Essa micose tem aumentado substancialmente nas duas últimas décadas devido ao crescente número de doentes expostos a inúmeros fatores de risco (KAUFFMAN *et al.*, 2000; SOBEL *et al.*, 2000). Embora seja rara em pessoas saudáveis, é comum em pacientes hospitalizados, ocorrendo em 33% dos casos na UTI (KAUFFMAN *et al.*, 2000), sendo o trato urinário contaminado após translocação intestinal, que é facilitada pela hiperproliferação da levedura decorrente do uso de antibióticos e imunossupressores, ou por colonização de cateteres e sondas (STAMM; COUTINHO, 1999).

De acordo com Kauffman *et al.* (2000) de 861 casos de infecções fúngicas do trato urinário, 39% ocorreram em diabéticos, 37,7% possuíam anormalidades anatômicas do trato urinário, 22,2% eram portadores de neoplasias, 17% desnutridos e 7,8% neutropênicos ou transplantados. Desses, 83,2% faziam uso de dispositivos de drenagem urinária até 30 dias antes da infecção, com uso de cateter uretral e realizaram nefrostomia suprapúbica, sendo *C. albicans* a espécie envolvida em 51,8% dos episódios.

O cateterismo urinário está comumente associado a ocorrência dessa levedurose, possibilitando a infecção através da introdução de microrganismos durante o procedimento, permitindo a migração desses para bexiga (LUNDSTRON; SOBEL, 2001).

A ocorrência de candidúria é favorecida por um sistema imunológico menos atuante e/ou por mudanças no trato urinário, incluindo anomalias anatômicas, redução do fluxo e alterações na composição da urina (OLIVEIRA; MAFFEI; MARLINEZ, 2001). Essa levedura é componente da microbiota humana, dessa forma as espécies de *Candida* colonizam o trato urinário de aproximadamente 30% dos adultos normais, contudo em pacientes que estão recebendo antibióticos, esse percentual pode ser equivalente a 100%. Esse aumento possivelmente está relacionado à supressão endógena da microbiota bacteriana pelos antimicrobianos, principalmente no intestino, trato genital inferior e possivelmente em áreas superficiais adjacentes ao meato uretral (LUNDSTRON; SOBEL, 2001).

A infecção do trato urinário geralmente ocorre de forma ascendente infectando a bexiga, podendo levar à disseminação por todo trato urinário, especialmente se ocorrer refluxo vesicouretral ou obstrução do fluxo urinário, resultando em pielonefrite aguda e raramente candidemia. Essa rota infecciosa é mais frequente em mulheres devido à uretra feminina ser mais curta e em 10%-65%, a região vulvovestibular ser colonizada (LUNDSTRON; SOBEL, 2001).

Ainda, a disseminação hematogênica pode resultar em infecção renal. Espécies de *Candida* podem apresentar tropismo pelos rins, sendo detectado que 90% dos pacientes com candidíase que foram a óbito apresentavam envolvimento renal na necropsia (LUNDSTRON; SOBEL, 2001).

Entre os fatores associados a maior predisposição a essa micose destacam-se pacientes do sexo feminino, idosos, portadores de neoplasias, doenças crônicas e degenerativas, tuberculose geniturinária, que realizaram procedimento cirúrgico

recentemente, que fazem uso prolongado de sonda vesical, antibioticoterapia de amplo espectro, agentes imunossupressores e corticosteróides tornam-se vulneráveis às infecções do trato urinário (ALVAREZ-LERMA *et al.*, 2003; WEINBERGGER *et al.*, 2003).

Passos *et al.* (2005) avaliaram 153 pacientes com idade média de 53 ± 19 anos, tendo sido isoladas 68 espécies de *Candida*. Desses pacientes, 25 estavam internados na UTI, apresentando como fatores de risco mais comuns antibioticoterapia (100%) e uso de cateter urinário (92,6%). *C. albicans* foi a espécie predominante em 69,1% dos isolados.

Silva, Hermosilla e Abarca (2007) determinaram a incidência de candidúria nosocomial associada a cateteres urinários em 42 mulheres internadas em UTI com e sem colonização vaginal por espécies de *Candida*, verificando que apenas 9,7% dos casos ocorreram em mulheres não colonizadas. Após análise molecular pela técnica de RAPD detectaram que as cepas isoladas da vagina e da urina apresentaram alta similaridade.

Ainda, em análise multivariada foi comprovado que o uso de antibióticos e o nível de glicose superior a 180mg/dl são parâmetros associados à candidúria (PAUL *et al.*, 2007).

Devido à ocorrência dessa levedura na microbiota humana o diagnóstico dessa micose requer análise minuciosa e multifatorial. Alguns autores sugerem que exista maior relação entre a detecção de espécies de *Candida* em amostras de urina e infecção urinária quando a contagem de colônias na cultura de urina atinge valores da ordem de 1.000 a 10.000 UFC/mL (SOBEL *et al.*, 2000). Entretanto, contagens inferiores podem ser encontradas em pacientes com infecção do trato urinário por *Candida*, particularmente nos casos de pielonefrite adquirida por via hematogênica decorrente de candidíase sistêmica, onde os rins funcionam como filtro e podem refletir contagens baixas na urina (KAUFFMAN; VAZQUEZ; SOBEL, 2000).

Em pacientes assintomáticos, a evidência de leveduras nas amostras de urina sugere contaminação, no entanto, a possibilidade de colonização ou doença localizada deve ser considerada em pacientes com risco para infecções do trato urinário sem evidência clínica ou sinais de disseminação e naqueles estão em estado crítico e internados em UTI por longos períodos, com síndrome infecciosa persistente apesar de antibioticoterapia de largo espectro, a candidúria deve ser confirmada, podendo ser secundária à doença fúngica sistêmica (FISHER, 2000).

O isolamento de espécies de *Candida* na urina pode representar colonização do trato urinário, contaminação, colonização do dispositivo de drenagem ou infecção. A contaminação da urina é comum, especialmente se a amostra é coletada de paciente cateterizada ou do sexo feminino que são colonizadas por leveduras na área vulvovestibular. Dada a capacidade dessa levedura em crescer na urina, uma pequena quantidade encontrada na amostra de urina coletada pode multiplicar-se rapidamente. Portanto, a contagem de colônias pode ser resultado de infecção ou colonização (AKALIN *et al.*, 2004).

Esse achado laboratorial expõe os médicos a um grande desafio em virtude da amplitude de possibilidades clínicas. Dentre essas, destacam-se a pielonefrite, cistite, candidíase renal primária, bola fúngica ureteropélvica, ocorrência de uma propagação hematogênica a partir do córtex renal favorecendo o curso da candidíase disseminada assintomática ou sintomática e, por fim, a colonização de sítios anatômicos como a bexiga e o períneo, ou ainda a presença do cateter urinário (KAUFFMAN, 2005). Dessa forma a detecção de colonização ou infecção requer uma análise paralela correlacionando os achados laboratoriais com a clínica do paciente (MAGILL *et al.*, 2006).

Uma vez que a cultura de urina quantitativa tem valor limitado, outros parâmetros têm sido utilizados para auxiliar o diagnóstico. Na presença de infecção por *Candida*, o sedimento urinário usualmente contém hemácias e leucócitos, assim como leveduras, pseudo-hifas e debris necróticos. Entretanto, a ausência de alteração no sedimento urinário não elimina a possibilidade de infecção fúngica, sendo algo frequente nos casos onde a candidúria é secundária a infecção sistêmica (COLOMBO; GUIMARÃES, 2007).

Essa micose é frequentemente detectada em pacientes internados em UTIs (NUCCI, 2000). Espécies de *Candida* são os microrganismos mais comumente isolados em amostras de urina de pacientes da UTI cirúrgica, representando 10%-15% das infecções hospitalares do trato urinário (FEBRE *et al.*, 1999).

A grande maioria das leveduroses do trato urinário são causadas por *C. albicans*, no entanto, outras espécies podem estar envolvidas, sendo em aproximadamente 10% dos pacientes ocasionadas por duas espécies simultaneamente, coexistindo frequentemente com bacteriúria (SOBEL *et al.*, 2000).

Kauffman (2005) relatam que em casuísticas de infecções urinárias por leveduras, *C. albicans* tem sido considerada a espécie mais comumente isolada do trato urinário, sendo responsável por cerca de 50 % a 70% dos episódios.

Casuística procedida no Brasil confirma que as três espécies mais prevalentes em amostras da urina em pacientes hospitalizados são: *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*. Esse estudo demonstra prevalências de 35,5-70% para *C. albicans*, 4,6- 52,5% para *C. tropicalis* e 7-8,8% para *C. glabrata* (PASSOS *et al.*, 2005).

Em estudo realizado por Araujo *et al.* (2005) com 120 amostras de urina de pacientes internados em UTI, foram isoladas 53 espécies de *Candida*. Dessas 64,5% eram de *C. albicans*, 13,2% de *C. tropicalis*, 9,4% de *C. krusei*, 7,5% de *C. glabrata* e 5,7% de *C. parapsilosis*.

Binelli *et al.* (2006) detectaram em estudo realizado no Hospital das Clínicas da cidade de São Paulo que apesar do predomínio de *C. albicans*, tem havido um aumento na incidência de espécies de leveduras não-*albicans* como agentes de infecção do trato urinário, incluindo: *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*.

Oliveira, Maffei e Marlinez (2001), avaliando 101 episódios de candidúria, detectaram que 64% foram causados por *Candida* não-*albicans*, desses 53 por *C. tropicalis*.

Entre as espécies de *Candida*, *C. tropicalis* é considerada o terceiro agente etiológico mais isolado em uroculturas e é responsável por cerca de 8% dos casos de candidúria (ALVAREZ-LERMA *et al.* 2003). Essa levedura tem sido relatada como uma das espécies de *Candida* mais prováveis de causar infecções hospitalares do trato urinário (RHO *et al.*, 2004; ROILIDES *et al.*, 2003).

As infecções do trato urinário ocasionadas por espécies de *Candida* são altamente incidentes na UTI, no entanto, outras micoses envolvendo esse gênero ocorrem mais raramente nessa unidade hospitalar, entre elas a candidíase pulmonar (JIANG *et al.*, 2004).

Candidíase pulmonar

Apesar de *Candida* ser responsável pela maioria das infecções fúngicas em humanos e ser a causa comum de infecção disseminada em pacientes graves, candidíase

pulmonar é relativamente rara, mas está associada a uma taxa de mortalidade significativa (REX *et al.*, 2000). Essa micose pode ser adquirida por aspiração, quando ocorre em pacientes fortemente colonizados na cavidade bucal e/ou vias aéreas e por disseminação hematogênica (RODRIGUEZ; ANAISSIE; REX, 2000).

A pneumonia primária por aspiração raramente se desenvolve, ocorrendo em 0,2-0,4% dos casos, sendo a disseminação hematogênica a origem mais comum, ocorrendo frequentemente em episódios onde há envolvimento de múltiplos órgãos, geralmente fígado, baço e rins (SAFDAR *et al.*, 2001).

A colonização por *Candida* geralmente precede a maioria dos casos de infecção disseminada, dessa forma a colonização de múltiplos sítios é considerada um fator de risco independente (DELISLE *et al.*, 2008; SAFDAR *et al.*, 2001).

A ocorrência de candidíase pulmonar está associada à imunossupressão grave em pacientes criticamente doentes. Entre os principais fatores de risco destacam-se neutropenia, ulceração na mucosa grave, tratamento com antibióticos de amplo espectro, presença de cateter venoso central e urinário, nutrição parenteral, realização de ventilação mecânica e uso de dreno torácico (HENDERSON; HIRVELA, 1996).

A primeira linha de defesa do corpo humano consiste nas barreiras mecânicas, como a pele e o epitélio das mucosas. A barreira física do trato respiratório superior é o epitélio, o qual é responsável pela incorporação dos potenciais patógenos no muco e a sua conseqüente eliminação. Entretanto, uma segunda linha de defesa é exigida quando essa mucosa perde a sua integridade, promovendo não só a realização de ações não-específicas, como também a ativação do sistema imune. Portanto, uma modificação em quaisquer mecanismos de defesa permite que patógenos oportunistas possam infectar o homem (FORREST; WEED, 1998).

Dessa forma, portadores de neoplasias hematológicas, aids, neutropênicos devido à quimioterapia, transplantados de medula óssea, pacientes internados por longos períodos em UTI, como os politraumatizados, queimados ou submetidos a cirurgias de grande porte, estão entre os mais susceptíveis (DIMOPOULOS *et al.*, 2003).

Estima-se que em pacientes que apresentam neoplasia, mais de 20% das infecções fúngicas nosocomiais sejam de origem pulmonar (JIANG *et al.*, 2004). A taxa de pneumonia por *Candida* aumentou substancialmente na população hospitalizada, estando

esse fato relacionado aos avanços da medicina que proporcionaram maior longevidade dos pacientes expostos a diversas doenças de base (BARKAUSKAS; PERFECT, 2009).

Embora a incidência de pneumonia por *Candida* esteja sendo crescente, o diagnóstico muitas vezes pode ser desperdiçado, ocorrendo casos subnotificados, verificados após avaliação dos diagnósticos clínicos anteriores ao óbito de pacientes críticos com os dados obtidos após necropsia (ROOSEN *et al.*, 2000).

Hemoculturas seriadas positivas indicam candidíase disseminada, com invasão de múltiplos órgãos e possivelmente dos pulmões. Em pacientes com sinais de doença pulmonar sem resposta a antibioticoterapia e candidemia, espécies de *Candida* podem ser o patógeno envolvido (CHEN *et al.*, 2001).

Kontoyiannis *et al.* (2002) avaliando casos de candidíase pulmonar confirmada após autópsia, detectaram que a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo da cultura de escarro foram de 85%, 60%, 42% e 93% e para cultura de lavado brônquico alveolar estes valores foram de 71%, 57%, 29% e 89% respectivamente. Revelando que, neste caso, a amostra clínica escarro foi mais adequada.

O grande desafio no diagnóstico da candidíase pulmonar é diferenciar a colonização de infecção invasiva. Por essa levedura ser um microrganismo comensal das vias aéreas superiores, a cultura de material obtido deste local frequentemente demonstra espécies de *Candida*, especialmente em pacientes hospitalizados e imunossuprimidos. No entanto, dado o alto valor preditivo negativo, pode-se dizer que na ausência de culturas de escarro e lavado broncoalveolar positivas, a possibilidade de pneumonia por *Candida* é baixa (AKALIN *et al.*, 2004; DISMUKES; PAPPAS; SOBEL, 2003; KONTOYIANNIS *et al.*, 2002).

A necessidade de realização de procedimentos mais invasivos como biópsia, torna o diagnóstico de infecção pulmonar por *Candida* difícil, devido essa micose apresentar elevada mortalidade, é necessário que os médicos sejam capazes de identificar pacientes predispostos a fim de que seja instituída a terapêutica precocemente (LEON *et al.*, 2006).

A presença de *Candida* em uma amostra do trato respiratório de pacientes imunocomprometidos e/ou com malignidade associada grave que tenha evidência clínica de pneumonia deve ser questionada. Embora a pneumonia bacteriana seja sempre a causa mais comum, se a condição clínica do paciente se agrava, apesar da utilização de

antibióticos de largo espectro e a biópsia do tecido não pode ser realizada, a utilização de terapia antifúngica empírica deve ser considerada (DE PAUW *et al.*, 2008).

Randhawa e Chowdhary (2008) ressaltam a importância da interpretação do significado etiológico das culturas positivas e microscopia direta das secreções respiratórias para *Candida* em pacientes que receberam terapia antibacteriana prolongada ou corticosteróides.

As amostras do trato respiratório são mais frequentemente obtidas mecanicamente em pacientes ventilados. Dessa antes do início do tratamento é necessário determinar se a presença de espécies de *Candida* nesses pacientes representa colonização ou pneumonia (BARKAUSKAS; PERFECT, 2009).

A pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV) é geralmente reconhecida como o desenvolvimento de uma pneumonia clínica que ocorre mais de 48 horas após o início da ventilação mecânica, estando os fungos envolvidos em 0,9% de todos os microrganismos recuperados como possíveis agentes etiológicos dessa doença (CARRILHO *et al.*, 2006; KOLLEF, 2005).

Wood *et al.* (2006) coletaram amostras de lavado broncoalveolar de pacientes com trauma internados na UTI com sinais e sintomas clínicos de PAV, sendo obtidas 85 culturas positivas para espécies de *Candida*, representando um total de 64 episódios de possível PAV, sendo tratados os pacientes que apresentaram evidência clínica.

Em estudo realizado por Ko *et al.* (2000) com episódios de pneumonia fúngica foram isoladas espécies de *Candida*, sendo *C. albicans* obtida em 47% dos casos, *C. tropicalis* 22%, *C. glabrata* 22%, *C. parapsilosis* 3%, *C. guilliermondii* 3%, *C. humicola* 1,7% e *C. famata* 1,7%.

Maertens, Vrebos e Boogaerts (2001) afirmam que *C. albicans* é a espécie mais comumente isolada, estando envolvida em cerca de 50 a 60% dos casos de infecção do trato respiratório. No entanto, a partir da utilização dos antifúngicos triazóis na década de 90, tem se observado uma redução na proporção de *C. albicans* e aumento na prevalência de espécies não-*albicans*.

Chen *et al.* (2001), avaliando casos de infecção fúngica pulmonar, detectaram que 20 dos pacientes estudados apresentaram evidências de infecção por espécies de *Candida*. Dessas, nove foram por *C. albicans*, quatro *C. tropicalis*, quatro *C. glabrata* e duas *C.*

parapsilosis. Doze casos foram de pneumonia e oito de doença disseminada com foco pulmonar, apresentando 70% de mortalidade.

Segundo Safdar *et al.* (2001), em 349 episódios de infecção pulmonar, *C. albicans* é isolada em 67,3%, *C. glabrata* 45,6%, *C. tropicalis* 18,4%, *C. parapsilosis* 16,6% e *C. krusei* 9,6%.

Shen *et al.* (2005) também detectaram a maior prevalência de *C. albicans* em casos de infecção fúngica pulmonar, relacionados com doenças hematológicas, constatando a presença dessa levedura em 71,42% dos episódios.

Em outro estudo realizado por Abukhabar *et al.* (2007) com pacientes críticos que faziam uso de ventilação mecânica por mais de 48 horas e que apresentavam sintomas de infecção do trato respiratório, verificou-se que *C. albicans* foi responsável por 6,7% dos casos de pneumonia.

De acordo com Xie *et al.* (2008), essa levedura é isolada em 28,3% dos pacientes avaliados, que apresentaram infecção fúngica invasiva. Em adição, também revelaram que o pulmão foi o órgão mais acometido.

Além do acometimento pulmonar, espécies de *Candida* estão envolvidas na etiologia de micoses invasivas em diversos órgãos, como o coração, sendo associadas a quadros de endocardite infecciosa (COLOMBO, 2003; GARZONI; NOBRE; GARBINO, 2007).

Endocardite

Endocardites fúngicas são infecções raras e com uma elevada taxa de mortalidade, ocorrendo frequentemente associada à candidemia nosocomial (MUEHRCKE; LYTHER; COSGROVE, 1995). Essa patologia habitualmente é responsável pela formação de vegetações de grandes dimensões, apresentando elevado risco de embolização séptica, acarretando muitas vezes no óbito (MELGAR *et al.*, 1997).

A sintomatologia clínica das endocardites fúngicas geralmente se assemelha às bacterianas, sendo a ocorrência de fadiga, mal estar, febre, dispnéia, insuficiência cardíaca, embolias periféricas (LIGIA; BADDOUR, 2002), anorexia, sudoreses noturna, anemia, petéquias cutâneas ou conjuntivais e esplenomegalia, sintomas comuns (WOLKER *et al.*, 2006), dificultando o diagnóstico, levando muitas vezes ao tratamento tardio e a um pior prognóstico (LIGIA; BADDOUR, 2002).

Essa levedurose é responsável por 1,3-6% de todos os casos de endocardite. Sua incidência tem aumentado ao longo das duas últimas décadas como consequência do diagnóstico precoce, através de melhores sistemas de cultura e utilização de ecocardiograma transesofágico, e maior uso de tratamentos agressivos com antimicrobianos de amplo espectro, drogas citotóxicas e imunossupressores (GARZONI; NOBRE; GARBINO, 2007).

Espécies de *Candida* estão envolvidas em 94,1% dos casos de endocardite fúngica, acometendo principalmente indivíduos após realização de cirurgia cardíaca (OTAKI *et al.*, 1992). *C. albicans* é a espécie mais comumente isolada, no entanto outras espécies como *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* podem estar envolvidas (MELGAR *et al.*, 1997).

Episódios de endocardite por espécie de *Candida* geralmente apresentam altas taxas de mortalidade que podem chegar a 67%, estando principalmente associada à ocorrência de embolização séptica (BRANCO *et al.*, 1997). Estudo mais recente afirma que essas taxas chegam a 40%, ocorrendo uma redução do número de óbitos devido à instituição de terapêutica adequada e diagnóstico precoce (BENJAMIN *et al.*, 2004).

Entre 30 casos de endocardite por *Candida* estudados por Lefort *et al.* (2012) 16 ocorreram em pacientes com doença cardíaca pré-existente e 19 foram causados por espécies não-*albicans*.

Embora *C. albicans* seja a principal espécie envolvida na etiologia dessa micose, *C. parapsilosis* é a espécie não-*albicans* mais comumente isolada. Essa levedura é associada a 17% dos casos diagnosticados, tornando-se a segunda espécie mais comumente envolvida após *C. albicans* (GARZONI; NOBRE; GARBINO, 2007).

Endocardite por *C. parapsilosis* muitas vezes ocorre associada à fungemia (CANCELAS *et al.*, 1994). Esse fungo é um importante patógeno nosocomial e é a espécie de *Candida* mais comumente isolado nas mãos dos profissionais de saúde, estando associado à ocorrência de surtos no ambiente hospitalar (DIEKEMA *et al.*, 1997).

Os principais fatores predisponentes a endocardite por *C. parapsilosis* incluem realização de transplante de medula óssea (CANCELAS *et al.*, 1994), utilização de cateteres venosos, ocorrência de endocardite bacteriana prévia (MUEHRCKE; LYTHE; COSGROVE, 1995; LOZANO *et al.*, 1994) e febre reumática (Ellis *et al.*, 2001), utilização de antibioticoterapia de amplo espectro (KALOTERAKIS *et al.*, 2003), próteses

valvares, drogas intravenosas e nutrição parenteral, realização de cirurgia abdominal, imunocomprometimento e doença valvular pré-existente (GARZONI; NOBRE; GARBINO, 2007).

Brandstetter e Brause (1980) relatam um caso de endocardite por *C. parapsilosis* em usuário de droga intravenosa que havia apresentado anteriormente endocardite bacteriana por *Staphylococcus aureus*.

De 56 casos endocardite por *C. parapsilosis* revistos em 1992, 50% dos pacientes tinham histórico de uso de drogas intravenosas relacionado com a infecção e 60% apresentavam doença valvar preexistente (WEEMS, 1992).

Johnston, Schlech e Marrie (1994) e Diekema *et al.* (1997) descreveram surtos de endocardite em prótese valvar por *C. parapsilosis* associado à realização de cirurgia para troca desse dispositivo.

Posteriormente, Inoue *et al.* (1998) relataram um caso de endocardite ocasionado por essa espécie, atribuindo à ocorrência dessa micose a realização de quimioterapia e utilização de cateter venoso central.

Tonomo *et al.* (2004) afirmam que essa infecção pode estar relacionada a realização de cirurgia abdominal e Khan *et al.* (2007) admitem que endocardite por *C. parapsilosis* pode ocorrer como consequência de infecções da corrente sanguínea e levar a ocorrência de acidente vascular cerebral embólico.

Recentemente, Kumar *et al.* (2011) descreveram um caso de endocardite em portador do vírus da imunodeficiência humana e da hepatite C, após episódio de endocardite bacteriana.

O tratamento dessa micose ainda é discutido, alguns autores afirmam que a anfotericina B lipossomal deve ser a terapêutica de escolha, apresentando melhores resultados que o tratamento com fluconazol, devido à sua melhor penetração nas vegetações (LIGIA; BADDOUR, 2002). O voriconazol, outro agente azólico, também pode ser utilizado no combate dessa infecção. Esse fármaco é uma boa opção para o tratamento de pacientes críticos, devido sua baixa toxicidade em relação à anfotericina B (GHANNOUM; KUHN, 2002).

De acordo com López-Ciudad *et al.* (2006) tratamento com caspofungina associado ao voriconazol é efetivo para o tratamento de endocardites por essa levedura. No entanto, a utilização de equinocandinas isoladamente deve ser cautelosa, devido à ocorrência de

resistência em alguns isolados de *C. parapsilosis* a esse grupo de drogas (PAPPAs *et al.*, 2009).

A terapia antifúngica sozinha apresenta bons resultados em casos onde o paciente não é candidato para intervenção cirúrgica (SAITO *et al.*, 2001). Embora a troca da válvula infectada em conjunto com a terapia antifúngica agressiva tem sido associada com taxas de mortalidade mais baixas (KALOTERAKIS *et al.*, 2003), sendo de 53,3% a taxa de mortalidade documentada para doentes tratados (GARZONI; NOBRE; GARBINO, 2007).

Trofa, Gácsér e Nosanchuk, (2008) afirmam que devido à habilidade de isolados de *C. parapsilosis* em se agregarem formando biofilmes em dispositivos invasivos, a realização de cirurgia para troca de válvula, particularmente quando próteses estão envolvidas, é indicada, devendo ser associada à terapia antifúngica.

Lejko-Zupanc e Kozelj (1997) citam um caso endocardite prótese de válvula mitral por *C. parapsilosis* cujo paciente foi tratado com sucesso apenas com tratamento antifúngico utilizando anfotericina B e em seguida fluconazol como terapia profilática.

Outro relato também é descrito por Darwazah, Berg e Faris (1999) sobre outro caso de endocardite associada à troca de prótese valvar, cujo paciente foi tratado com o mesmo esquema terapêutico, no entanto o dispositivo infectado foi substituído cirurgicamente.

As infecções ocasionadas pelo gênero *Candida* são as mais incidentes, no entanto, outras leveduras podem está associadas a micoses nosocomiais, entre essas as ocasionadas por espécies de *Trichosporon* (COLOMBO, 2003).

2.1.1.2 Tricosporonose

Espécies de *Trichosporon* são leveduras que podem ser encontradas no solo, água e ocasionalmente, na microbiota normal da pele, unhas e mucosas do trato gastrointestinal e respiratório humano (NAKAGAWA *et al.*, 2000).

O gênero *Trichosporon* sofreu ampla reavaliação taxonômica, sendo hoje composto por 37 espécies. Dessas *T. asahii*, *T. asteroides*, *T. cutaneum*, *T. inkin*, *T. mucoides*, *T. ovoides* e *T. loubieri* podem causar infecções no homem (MARTY *et al.*, 2003).

Essas leveduras têm sido associadas a infecções superficiais. No entanto, na última década, infecções invasivas são relatadas, como as ocasionadas por *T. inkin*, um agente

clássico de *piedra* branca que atinge a púbis e cabelo humano (CHOWDHARY *et al.*, 2004).

A maioria das infecções disseminadas por espécies de *Trichosporon* são relatadas em pacientes imunocomprometidos com neutropenia grave, geralmente com malignidade hematológica. A infecção progride rapidamente e pode ocorrer falência de múltiplos órgãos, como pulmões, rins e baço, sendo as lesões cutâneas um provável sinal de infecção disseminada (KONTOYIANNIS *et al.*, 2004; ROJAS; MAGDALENA, 2004).

Esses fungos têm emergido como agentes oportunistas, causando infecções sistêmicas em imunocomprometidos que apresentam prognóstico ruim, especialmente em pacientes neutropênicos (CHOWDHARY *et al.*, 2004), podendo a taxa de mortalidade chegar a 100% em pacientes com neutropenia persistente (BASSETTI *et al.*, 2004).

As infecções por esse gênero podem apresentar grande variedade de manifestações clínicas, desde acometimento cutâneo superficial até quadros sépticos graves em pacientes imunodeprimidos. Desde o primeiro relato de infecção disseminada em um paciente com leucemia em 1970, casos esporádicos são relatados (AGIRBASLI *et al.*, 2008; CHAGAS-NETO; CHAVES; COLOMBO, 2008; FAGUNDES-JÚNIOR *et al.*, 2008).

O tratamento antibiótico de amplo espectro e a quebra das barreiras anatômicas são fatores que aumentam a colonização da mucosa e infecção invasiva subsequente por essa levedura. A taxa de mortalidade é alta, variando de 60% a 80% (RICHARDSON; LASS-FLÖRL, 2008).

Tricosporonose é uma infecção fúngica invasiva rara, mas frequentemente fatal em pacientes imunocomprometidos, particularmente aqueles com malignidades hematológicas. No entanto, durante as duas últimas décadas essa levedura emergiu como importante patógeno oportunista (GUEHO *et al.*, 1994).

Embora tricosporonose represente uma pequena porcentagem de todas as infecções fúngicas invasivas, espécies de *Trichosporon* têm sido relatadas como a segunda ou terceira levedura mais comum em casos de fungemia (FOURNIER *et al.*, 2002).

Essas infecções têm se tornado frequentes em pacientes com doenças hematológicas malignas, queimaduras extensas, tumores sólidos e aids, representando cerca de 10% de todos os casos confirmados de micoses disseminadas (CHOWDHARY *et al.*, 2004; WALSH *et al.*, 2004).

Em pacientes imunocompetentes, as doenças invasivas por essa levedura são associadas a cirurgias oftalmológicas, infecções pós próteses, uso de drogas por via intravenosa e realização de diálise peritoneal (ABDALA *et al.*, 2005).

Girmenia *et al.* (2005), relatam que de 287 casos de infecções causadas por espécies de *Trichosporon*, 63% ocorrem em portadores de doenças hematológicas malignas. Desses, 47,1% de leucemia mielóide aguda, apresentando uma taxa de mortalidade de 64,7%.

O uso de cateter venoso é outro fator de risco para infecção por leveduras desse gênero, sendo a ocorrência de neoplasias hematológicas o maior fator associado (RICHARDSON; LASS-FLÖRL, 2008).

A identificação das espécies e a tipagem molecular tornaram-se elementos críticos nas investigações de surtos de infecções fúngicas nosocomiais. Os estudos devem buscar a origem da infecção hospitalar através da comparação genética entre isolados invasivos ou não invasivos entre si e com os provenientes dos instrumentos terapêuticos (TOSCANO; JARVIS, 1999).

As terapêuticas são eficazes quando a doença é detectada na fase inicial, sendo, portanto, o diagnóstico precoce um fator importante para o sucesso na gestão de pacientes com tricosporonose. Infelizmente, dificuldades na identificação desses microrganismos conduzem a tratamentos tardios, sendo muitas vezes o diagnóstico realizado pós-morte (MORETTI-BRANCHINI *et al.*, 2001).

Walsh *et al.* (1986) documentaram que 55 dos 67 casos revisados de tricosporonose ocorreram em pacientes com câncer, estando a leucemia ou linfoma presente em 60% dos casos.

Goodman *et al.* (2002) afirmam que essa micose ocorre em portadores de leucemia linfocítica aguda. Segundo Girmenia *et al.* (2005), a incidência nesse grupo de pacientes atingiu 0,4% em um estudo multicêntrico realizado na Itália.

Pagano *et al.* (2006) afirmam que espécies de *Trichosporon* estão envolvidas em 4% das infecções fúngicas invasivas em portadores de doenças hematológicas malignas, sendo os portadores de leucemia mielóide aguda os mais acometidos, apresentando 40% de mortalidade atribuível.

Matsue *et al.* (2006) verificaram que de 915 pacientes atendidos no departamento de hematologia e oncologia de um hospital do Japão, quatro tiveram hemoculturas

positivas para espécies de *Trichosporon* apresentando como sítio de infecção o pulmão, a pele e o sangue.

Ribeiro *et al.* (2008) investigaram 21 isolados clínicos de isolados de *Trichosporon*, identificados através de técnicas convencionais e moleculares como *T. asahii* (9), *T. faecale* (5), *T. inkin* (3), *T. coremiiforme* (2), *T. asteroides* (1) e *T. japonicum* (1), sendo *T. asahii* isolado em 83% das cepas obtidas de amostras clínicas invasivas e *T. inkin* em 14%.

Chagas-Neto *et al.* (2009) avaliaram 22 casos de fungemia por espécies de *Trichosporon*. Desses, 44% ocorreram em pacientes pediátricos que apresentaram taxa de mortalidade de 30%. Os isolados foram identificados como *T. asahii* (15), *T. asteroides* (5), *T. coremiiforme* (1) e *T. dermatitis* (1).

Ruan *et al.* (2009) realizaram estudo retrospectivo com 43 episódios de tricosporonose, sendo as espécies isoladas, em sua maioria, de amostras de sangue, urina, ferida cirúrgica e escarro e identificadas como *T. asahii* em 32 casos, *T. dermatitis* em 5, *T. montevidense* em 2 e *T. asteroides*, *T. cutaneum*, *T. faecale* e *T. ovoides* em um cada.

Taj-Aldeen *et al.* (2009) procederam a análise da região ITS do rDNA a fim de identificar isolados clínicos de *Trichosporon*, sendo esses identificados como *T. asahii* (17), *T. inkin* (3), *T. dohaense* (3), *T. faecale* (2) e *T. japonicum* (2).

Sugita *et al.* (2000) sugerem que *T. asahii* é um patógeno ambiental comum e Martins-Diniz *et al.* (2005) afirmam que essa espécie pode ser detectada em profissionais de saúde e em áreas hospitalares, com prevalência de 30% entre as leveduras isoladas.

Ahmad, Al-Mahmed e Khan (2005) realizaram caracterização de 29 isolados de *Trichosporon*, identificados previamente como *T. asahii*, detectando através da análise da região ITS que apenas 25 isolados pertenciam a essa espécie, sendo os quatro restantes identificados como *T. asteroides*, sendo posteriormente constada heterogeneidade genotípica entre todos os isolados através da genotipagem dos isolados.

Rodrigues *et al.* (2006) relataram 22 casos de infecção hospitalar causada por *T. asahii*, detectados durante um período de seis anos (1999-2005) em um hospital do Brasil.

Asada *et al.* (2006) descreveram um caso de fungemia por *T. asahii* em portador de leucemia mielóide aguda que fazia uso de cateter venoso central.

Essa levedura é considerada um dos agentes etiológicos mais comuns de infecções da corrente sanguínea por espécies não-*Candida*, sendo isolado em casos de tricosporonose em recém-nascidos, em pacientes com aids e submetidos a transplante de medula óssea, no

entanto, a maioria, dos relatos mostram que essa levedura afeta principalmente pacientes com doenças hematológicas e neutropenia profunda (GHASIAN; MAGHSOOD; MIRHENDI, 2006; GROSS; KAN, 2008; RASTOGI; NIRWAN, 2007).

O prognóstico das micoses por espécies de *Trichosporon* é ruim, mais de três quartos de óbitos dos pacientes. Isolados de *T. asahii* muitas vezes são resistentes *in vitro* à anfotericina B, sendo o tratamento com antifúngicos azóis e triazóis indicado (BAYRAMOGLU *et al.*, 2008).

Fagundes-Júnior *et al.* (2008) descrevem um caso de tricosporonemia em paciente admitida em UTI cardiológica, que após sete meses de internação, evoluiu com infecção do trato urinário sintomática (febre e piúria) causada por *T. asahii* seguida de hemocultura positiva para a mesma espécie.

Silva *et al.* (2008) analisaram cepas dessa levedura recuperadas de espécimes clínicos obtidos da cavidade bucal e urina de pacientes internados em UTI detectando grande similaridade genética dos isolados, o que pode sugerir uma infecção comum entre os pacientes.

Thibeault *et al.* (2008) relataram um caso de uma criança com 11 anos portadora de leucemia linfoblástica aguda que apresentou mucosite, desconforto respiratório leve e febre, sendo isolado *T. asahii* em culturas de sangue, urina e fragmento hepático.

Embora *T. asahii* seja a espécie mais frequentemente isolada, dentro deste gênero, em infecções humanas, outras espécies também podem estar envolvidas em quadros fatais como *T. cutaneum* e *T. pullulans* (NISHIMURA *et al.*, 1998).

Infecções por *T. pullulans* raramente ocorrem, no entanto, Moylett, Chinen e Shearer (2003) relataram que essa levedura pode causar micoses em portadores de doenças granulomatosas e Neves *et al.* (2002) afirmam que essa espécie pode causar lesão na cavidade oral de paciente com aids. Carvalho *et al.* (2008) descrevem um caso de tricosporonose por *T. cutaneum*, com curso fatal em criança portadora de tumor de Wilm's.

Assim como *Trichosporon*, que causa variados quadros clínicos e possui estruturas reprodutivas que estão associadas ao seu potencial patogênico e de disseminação, *Geotrichum* também apresenta estas características, sendo responsável pela geotricose (BARNETT; PAINE; YARROW *et al.*, 2000).

2.1.1.3 Geotricose

Espécies de *Geotrichum* são semelhantes às de *Trichosporon* por possuírem hifas artrosporadas, mas diferem por não serem capazes de degradar a uréia, não se reproduzirem por brotamento e serem incapazes de assimilar um grande número de fontes de carbono (DE HOOG; GUARRO, 1995).

Esses fungos são ubíquos, podendo ser encontrados no solo, alimentos, na pele e mucosas humana, sendo o trato digestivo e respiratório relatados como possíveis portas de entrada para infecção (AMFT *et al.*, 1996).

Geotricose é uma infecção fúngica rara ocasionada por espécies de *Geotrichum*, sendo episódios de neutropenia grave, realização de transplantes, uso de quimioterapia citotóxica, corticosteróides, antibióticos de amplo espectro e cateter venoso, fatores predisponentes relacionados a essa patologia (D' ANTÔNIO *et al.*, 1994; VERGHESE; RAVICHANDRAN, 2003).

Essa micose apresenta várias manifestações clínicas desde formas pulmonares (Fianchi *et al.*, 2008) a disseminadas (ETIENNE *et al.*, 2008).

Embora a maioria das infecções fúngicas sejam causadas por espécies de *Candida* e *Aspergillus*, *G. capitatum* (*Saprochaete capitata*) tem sido documentado como uma causa emergente de infecções sistêmicas (MARTINO *et al.*, 1990).

As manifestações clínicas relatadas em casos de infecção por *S. capitata* incluem septicemia, meningite, encefalite, osteomielite vertebral, endocardite, infecções respiratórias e gastrointestinais. A infecção, geralmente, tem início em um período de granulocitopenia profunda e prolongada e o quadro clínico é caracterizado por febre sem resposta aos antibióticos de amplo espectro (MARTINO *et al.*, 1990).

Essa espécie também pode estar associada a quadros de geotricose disseminada em portador de linfoma não-Hodgkin (AMFT *et al.*, 1996).

Girmenia *et al.* (2003) estudaram 23 isolados clínicos de *S. capitata*, sendo desses 17 provenientes de amostras de sangue, dois do trato respiratório inferior, dois do trato respiratório superior e dois do trato urinário, sendo a anfotericina B o agente antifúngico de escolha para o tratamento dessa micose.

A infecção fúngica invasiva causada por *S. capitata* é frequentemente caracterizada pelo envolvimento de múltiplos órgãos, com curso fatal, apresentando mortalidade de 40 a

75% em pacientes hematológicos. Quando ocorre envolvimento pulmonar, infiltrados pulmonares são geralmente visíveis na radiografia de tórax (MARTINO *et al.*, 2004).

Wills *et al.* (2004) descreveram um caso de pneumonia por *S. capitata* em paciente imunocompetente que apresentou imagem radiológica densa no lobo inferior esquerdo e não apresentou resposta clínica ao tratamento com antifúngicos de amplo espectro. O paciente não era fumante, mas possuía o hábito de mascar tabaco, sendo esse reutilizado diversas vezes e, muitas vezes, entrando em contato com o solo, possível fonte de infecção.

Essa espécie é uma causa incomum, mas frequentemente fatal, de infecções invasivas em pacientes imunodeprimidos, particularmente aqueles com neoplasias hematológicas (GIRMENIA *et al.*, 2005), principalmente os portadores de leucemia aguda (PAGANO; CAIRA; FIANCHI, 2005).

Em estudo retrospectivo multicêntrico na Itália, a incidência de infecção por *S. capitata* em pacientes com leucemia aguda foi de 0,5%, com uma taxa de mortalidade de 55,7%. Esse fungo é suscetível a anfotericina B e a azólicos, mas é intrinsecamente resistente as equinocandinas (GIRMENIA *et al.*, 2005).

2.1.1.4 Infecção invasiva por *Pseudozyma aphidis*

A levedura anamórfica *Pseudozyma aphidis* é uma heterobasidiomiceto da ordem Ustilaginales, sendo principalmente isolada de plantas (SUGITA *et al.*, 2003).

Pouco se sabe a respeito da patogenicidade desse fungo. Essa levedura é considerada um patógeno oportunista, acometendo indivíduos imunocomprometidos, e uma espécie emergente devido à raridade de casos descritos (LIN *et al.*, 2008).

Infecções por espécies de *Ustilago* têm sido relatadas em pacientes que fazem uso de cateter venoso central (CVC) (PATEL *et al.*, 1995) e em pacientes com erupção cutânea crônica (TÉO; TAY, 2006).

Sugita *et al.* (2003) descrevem um caso de infecção da corrente sanguínea por *P. aphidis* em paciente tailandês.

Lin *et al.* (2008) relataram um caso de infecção por essa levedura associada ao uso de cateter venoso central (CVC) em uma criança com síndrome do intestino curto.

As leveduroses são as infecções oportunistas mais incidentes em pacientes internados em UTIs, no entanto, uma ampla variedade de fungos filamentosos, entre essas espécies de *Aspergillus* também podem estar envolvidos (KUMAR *et al.*, 2005).

2.1.2 Micoses oportunistas por fungos filamentosos

Os fungos filamentosos são microrganismos ubíquos no ambiente, capazes de causar infecção invasiva em quase todos pacientes imunodeprimidos, incluindo os transplantados de células tronco ou de órgãos sólidos, que fazem uso de corticosteróides ou outros imuno-moduladores e os neutropênicos, devido ao neutrófilo ser o principal mediador da imunidade inata, participando ativamente no processo de defesa das infecções fúngicas, liberando substâncias oxidantes e enzimas lisossomais (DAVID, 1998; PERFECT *et al.*, 2001).

Esses fungos são agentes etiológicos de infecções nosocomiais oportunistas, menos comumente isolados que as espécies de *Candida*, porém apresentam índices de mortalidade superiores, chegando a mais de 80% nos transplantados de medula óssea (KLASTERSKY; AOOUN, 2004).

As micoses causadas por fungos filamentosos são extremamente importantes devido à grande incidência de infecções invasivas ocasionadas por esses microrganismos em portadores de doenças hematológicas malignas, sendo espécies de *Aspergillus* frequentemente envolvidas (PAGANO *et al.*, 2006) e relacionadas a uma alta taxa de morbidade e mortalidade (RIHARDSON; LASS-FLÖRL, 2008).

2.1.2.1 Aspergilose

O primeiro caso de aspergilose foi relatado no ano de 1953, ocorrendo em imunodeprimido, sendo associado ao uso de corticosteróides e quimioterapia citotóxica (RANKING, 1953).

O gênero *Aspergillus* contém aproximadamente 200 espécies, mas apenas uma minoria infecta o homem (DENNING, 1998). Essas são fungos filamentosos hialinos de distribuição universal, normalmente presentes no solo, plantas, alimentos, ar, água e ocasionalmente no ser humano (CHEN *et al.*, 2001), onde pode ser evidenciada a presença

de hifas hialinas, com septos e ramificações em ângulo agudo (LIN; SCHRANZ; TEUTSCH, 2001).

Os conídios são facilmente dispersos pelo ar e após serem inalados pelo homem, essas espécies tornam-se sapróbios do trato respiratório alto; no entanto, algumas vezes estes propágulos podem atingir as vias aéreas inferiores onde, em imunocompetentes, são fagocitados e destruídos por macrófagos alveolares (ANAISSE; PENZAK; DIGNANI, 2002; CHEN *et al.*, 2001).

As infecções em humanos são causadas principalmente por *A. fumigatus*, um fungo termotolerante que cresce em temperatura de até 50°C, seguido por *A. flavus*, *A. niger*, *A. nidulans* e *A. terreus* (STEINBACH *et al.*, 2004).

Essas espécies são frequentemente descritas em pacientes com neoplasias hematológicas, que realizaram transplantes de órgãos e submetidos à hemodiálise intermitente crônica (DENNING, 1998), as quais estão associadas com construções no ambiente hospitalar e/ou sistemas de ventilação contaminados (OREN *et al.*, 2001).

Caillot *et al.* (2001) relatam casos de aspergilose invasiva (AI) em portadores de doenças hematológicas malignas. Desses, 92% eram portadores de leucemia aguda, sendo a duração e a severidade da neutropenia fator associado à ocorrência dessa micose.

Essa patologia ocorre mais comumente em episódios de neutropenia prolongada (particularmente por mais de três semanas) ou disfunção dos neutrófilos, ocorrendo em 13% dos transplantados de medula óssea (MARR *et al.*, 2002) e em 14-18% dos de órgãos sólidos, sendo pacientes que realizaram transplante de pulmão os que apresentam maior risco (HAGERTY *et al.*, 2003).

No entanto, evidências da literatura indicam que espécies de *Aspergillus* podem causar doença invasiva em outras categorias de doentes, sem imunodeficiência grave aparente, como portadores de doenças críticas como doença pulmonar obstrutiva crônica (VANDEWOUDE *et al.*, 2004).

De acordo com Garnica e Nucci (2005), portadores de leucemia linfocítica crônica são mais acometidos por aspergilose durante o tratamento quimioterápico.

Vários estudos destacam o aumento da incidência de infecções invasivas por *Aspergillus* associadas com a medicina de cuidados intensivos. Doentes críticos apresentam uma mudança complexa na resposta imune, caracterizada pela desativação dos macrófagos e resposta celular alterada devido à gravidade da doença. Este distúrbio

imunológico explica a ocorrência de aspergilose em pacientes gravemente doentes que não apresentam fatores predisponentes clássicos (GARNACHO-MONTERO *et al.*, 2005; VANDEWOUNIDE *et al.*, 2006).

Cornillet *et al.* (2006) avaliaram 88 casos de AI, sendo 47% diagnosticados na UTI e 40% em unidades de hematologia. A ocorrência de neutropenia foi o fator de risco predisponente em 52 pacientes (59%) e a maioria desses tinham neoplasias hematológicas ou sólidas.

Vandewounide *et al.* (2006) relataram uma taxa de mortalidade de 80% em pacientes com AI suspeita ou comprovada, que apresentavam pelo menos uma dessas condições subjacentes, apesar da terapia antifúngica.

A ocorrência dessa micose depende mais dos fatores do hospedeiro do que da virulência ou patogenicidade das espécies envolvidas, sendo mais de 60% dos pacientes acometidos portadores de doenças hematológicas subjacentes ou submetidos a transplante de medula óssea (LASS-FLÖRL; GRIF; KONTOYIANNIS, 2007; SEGAL; WALSH, 2006), estando essa infecção também relacionada à terapia com corticosteróides e a imunodeficiências adquiridas ou congênitas (TSAI *et al.*, 2006; ZMEILI; SOUBANI, 2007).

A aspergilose apresenta um amplo espectro de manifestações clínicas dependendo da resposta imunológica do hospedeiro. O pulmão é o órgão mais comumente afetado por essa infecção e é onde ocorre prevalentemente a infecção primária (DELONE *et al.*, 1999; FRANQUET *et al.*, 2001; IWEN *et al.*, 1998).

As espécies de *Aspergillus* são capazes de invadir as paredes dos vasos sanguíneos, causarem infarto, necrose de tecidos e disseminar-se amplamente (LIN; SCHRANZ; TEUTSCH, 2001), podendo causar um amplo espectro de doenças incluindo alergia, infecção superficial relacionada a trauma e doença invasiva (LATGE, 2001).

Em alguns casos pode ocorrer formação de bola fúngica ou aspergiloma sendo esta estrutura constituída por micélio fúngico, células inflamatórias, fibrina, muco e restos de tecido, desenvolvendo-se geralmente em uma cavidade pulmonar preexistente formada pela tuberculose, sarcoidose, cistos brônquicos, espondilite anquilosante e neoplasia pulmonar, sendo a tuberculose a condição mais frequentemente associada (SOUBANI; CHANDRASEKAR, 2002).

A traqueobronquite é uma forma incomum, restrita à traquéia e aos brônquios, encontrada principalmente em pacientes com aids e transplantados pulmonares. As manifestações sugestivas verificadas através da imagem, quando presentes, são sutis e o diagnóstico requer broncoscopia com biópsia (HELMI *et al.*, 2002).

A forma pulmonar alérgica ou saprobiótica é raramente encontrada em imunocomprometidos. Essa consiste em uma reação de hipersensibilidade à presença de *Aspergillus* nas vias aéreas, ocorrendo principalmente em pacientes com asma (FRANQUET *et al.*, 2004).

A aspergilose crônica necrotizante ou semi-invasiva é outro tipo raro de infecção que afeta pacientes com imunossupressão leve, como portadores de diabetes *mellitus*, doença pulmonar obstrutiva crônica, com idade avançada, desnutrição, alcoolismo e que fazem uso de corticosteróides e antibioticoterapia prolongada (FRANQUET *et al.*, 2004).

A infecção pulmonar é uma representação fenotípica da interação entre os mecanismos de defesa do hospedeiro e a virulência fúngica, sendo os seios nasais ou o trato respiratório inferior portas de entrada comuns (MEERSSEMAN *et al.*, 2004).

Danos nos mecanismos de defesa locais e sistêmicos tornam o pulmão vulnerável aos propágulos de microrganismos inalados. A invasão do parênquima pulmonar se desenvolve ao longo de dias ou semanas após a exposição, normalmente em pacientes com distúrbios imunológicos graves (KLASTERSKY; AOUN, 2004).

Após a colonização do trato respiratório inferior pelos conídios, esses germinam e invadem tecidos adjacentes, produzindo pneumonia aguda necrotizante, ocorrendo frequentemente infiltração das paredes vasculares levando ao infarto pulmonar seguido de cavitação e hemorragias (Meersseman *et al.*, 2004).

As manifestações clínicas incluem febre persistente, apesar do uso de antibióticos de largo espectro; hemoptise, dor pleurítica e tosse seca, podendo aparecer posteriormente dispnéia e hipoxemia que indica invasão pulmonar extensa e prognóstico ruim; secreção nasal, epistaxe e inchaço facial que estão associadas ao envolvimento dos seios paranasais (KLASTERSKY; AOUN, 2004).

As doenças invasivas das vias aéreas são responsáveis por cerca de 15% dos casos de aspergilose pulmonar (LATGE, 1999), sendo caracterizada por invasão tecidual limitada às vias aéreas ou associada à invasão vascular, sendo esta última a forma mais

grave de doença pulmonar por *Aspergillus* (FRANQUET *et al.*, 2001; OH; EFFMANN; GODWIN, 2000).

A aspergilose pulmonar invasiva é a forma mais comum da doença, ocorrendo tradicionalmente de 10 a 14 dias após a realização de transplante de células-tronco hematopoéticas, sendo associada à granulocitopenia severa (POUND; DREW; PERFECT, 2002).

Após a invasão das vias aéreas, propágulos fúngicos podem invadir arteríolas pulmonares adjacentes, causando trombose, necrose tecidual e disseminação, sendo mais de 90% dos casos de AI iniciados ou limitados aos pulmões (POUND; DREW; PERFECT, 2002).

A doença disseminada tem uma tendência a associar-se a determinados órgãos, ocorrendo no cérebro em 44% dos casos (YOUNG *et al.*, 1970). A invasão dos vasos sanguíneos pelo fungo ocorre em qualquer órgão envolvido, resultando em diferentes graus de trombose vascular, infarto, hemorragia, necrose e abscessos, sendo o comprometimento cerebral comumente fatal em indivíduos imunocomprometidos, mesmo com terapia antifúngica adequada (BODEY; VARTIVARIAN, 1989).

As características clínicas da aspergilose do sistema nervoso central incluem febre, alterações do estado mental e déficits neurológicos, sendo o uso de altas doses de esteróides ou antibióticos de largo espectro, imunossupressores e neutropenia fatores predisponentes (BOES *et al.*, 1994).

Segundo Kurita; Shiokawa; Furuya (1995), a aspergilose rino-cerebral tem sido descrita quando o sistema nervoso é comprometido a partir de uma infecção nasal primária, mas nesses casos, se formam abscessos ou granulomas nos seios paranasais ou lobo frontal e temporal.

O sistema nervoso central pode ser afetado de diferentes formas por espécies de *Aspergillus* incluindo a formação de abscessos ou granulomas no parênquima cerebral, aracnoidite difusa, acidente vascular cerebral ou da medula espinhal, aneurisma micótico ou abscesso epidural espinhal (PARKER *et al.*, 1996).

Quando a infecção do sistema nervoso ocorre a partir de um foco primário pulmonar ou cardíaco, o envolvimento neurológico é geralmente sob a forma de aracnoidite difusa, acidente vascular cerebral ou abscessos múltiplos. Caso a aspergilose

esteja relacionada a um procedimento neurocirúrgico, a infecção está localizada no local da inoculação fúngica (BRUTTO, 2000).

O fungo tem uma predisposição especial para invadir a parede do vaso sanguíneo e causar necrose coagulativa intracraniana, a qual, por sua vez, é causa da trombose arterial e acidente vascular cerebral (HIBBERD, 1996).

Kleinschmidt-DeMasters (2002), em estudo retrospectivo, detectaram que aspergilose cerebral esteve presente em 0,4% das necropsias realizadas em um hospital universitário do Colorado, EUA, no período de 1981-1990 e em 1,4% no período de 1991-2000, sendo *A. fumigatus* a espécie isolada em quase todos os pacientes, exceto em um que apresentou infecção por *A. flavus*.

Kleinschmidt-DeMasters (2002) avaliaram uma série de 71 autópsias em pacientes com aspergilose invasiva, detectando que 42 tiveram aspergilose cerebral.

Segundo Jantunen *et al.* (2003), essa aspergilose cerebral ocorre em 14% a 42% dos pacientes com aspergilose invasiva portadores de leucemia aguda ou que realizaram transplante alogênico de células-tronco. Klastersky e Aoun (2004) relatam que o envolvimento cerebral ocorre em 10-15% dos casos.

Em estudo realizado avaliando retrospectivamente 81 pacientes, 54% portadores de doenças hematológicas, com aspergilose cerebral “comprovada” ou “provável”, foi constatado que a realização de neurocirurgia como craniotomia, drenagem e ressecção do abscesso, associada à terapia antifúngica com voriconazol, melhora o prognóstico dos pacientes, sendo a conduta terapêutica mais adequada (SCHWARTZ *et al.*, 2005).

Tsai *et al.* (2006) descreveram um caso de AI em portador de púrpura trombocitopênica idiopática que durante o curso do tratamento com corticosteróides e imunossupressor desenvolveu aspergilose pulmonar invasiva e abscesso cerebral.

Iwen *et al.* (1998) em estudo retrospectivo analisaram casos de aspergilose ocorridos em doze anos detectando a ocorrência de 133 casos de AI. Desses, 67 foram causados por *A. flavus*, 51 *A. fumigatus*, 13 *A. terreus* e *A. niger* e *A. ustus* em um caso cada, verificando também que a forma disseminada ocorreu em 67 casos, sendo em 56 foram secundária a infecção pulmonar primária.

A AI emergiu como uma das principais causas de morbidade e mortalidade em pacientes imunocomprometidos. *A. fumigatus* é a espécie mais frequentemente isolada, seguido de *A. flavus*, *A. niger* e *A. terreus* reconhecida por causar infecções

frequentemente letais em portadores de leucemia mielóide crônica (HACHEM *et al.*, 2004).

Oliveira, Marchiori e Souza Jr (2004) relatam a ocorrência de três casos de aspergilose pulmonar por *A. fumigatus* em portadores de leucemia.

Em alguns estudos, *A. flavus* é mais comum do que o *A. fumigatus*. Essa espécie emergente produz aflatoxinas, os mais tóxicos e potentes compostos naturais hepatocarcinogênicos já caracterizados, sendo infecções causadas por novas espécies de *Aspergillus* cada vez mais relatadas (BALAJEE *et al.*, 2006).

Ali *et al.* (2006) descrevem um caso de aspergilose pulmonar invasiva em portador de leucemia aguda promielocítica, sendo o diagnóstico realizado através da detecção de infiltrado pulmonar no lobo inferior esquerdo e no isolamento de *A. flavus* em espécime cirúrgico obtido de lesão pulmonar cavitária.

Chamilos *et al.* (2006) avaliaram casos de infecção fúngica invasiva em portadores de doenças hematológicas malignas em um centro de tratamento de câncer e detectaram que a prevalência de AI variou entre 16 a 19%, sendo 62% dos casos causados por *A. flavus* e *A. terreus*.

A. terreus tem se tornado uma causa frequente de infecções oportunistas e é motivo de grande preocupação, devido à sua resistência *in vivo* e *in vitro* à anfotericina B (STEINBACH *et al.*, 2004).

Steinbach *et al.* (2004) realizaram estudo retrospectivo com casos de infecções invasivas por *A. terreus*, sendo analisados 83 casos dos quais 47% de AI “comprovada” e 53% de “provável”, detectando que AI apresentou 55,8% de mortalidade no grupo de pacientes que realizaram terapia antifúngica com voriconazol e 73,4% no grupo que recebeu terapia com outros antifúngicos, constatando que o voriconazol é considerada a melhor escolha de tratamento para infecção por *A. terreus*.

A utilização de técnicas moleculares com espécies de *Aspergillus* tem se mostrado útil em muitas situações epidemiológicas (BADDLEY *et al.*, 2003).

Baddley *et al.* (2003) procederam estudo epidemiológico em um hospital universitário com isolados clínicos de *A. terreus* de 41 pacientes, desses, 23 foram avaliados quanto à similaridade genética através da técnica de RAPD, sendo verificado 19 linhagens diferentes o que afasta a possibilidade de fonte de infecção comum entre os pacientes.

De acordo com Lass-Flörl, Grif e Kontoyiannis (2007), os resultados obtidos através de análise genética pela técnica de RAPD indicam que a aquisição nosocomial de uma linhagem clonal de *A. terreus* é altamente improvável devido à diversidade genética dos isolados clínicos e ambientais.

No entanto, em estudo realizado em outro hospital, Lass-Flörl *et al.* (2000) detectaram que alguns pacientes apresentaram cepas de *A. terreus* idênticas às isoladas em vasos de plantas do ambiente nosocomial, indicando a necessidade de monitoramento ambiental constante em unidades hospitalares com pacientes de alto risco, como os portadores de doenças hematológicas malignas.

Blum *et al.* (2008) realizaram estudo com cepas de *A. terreus* provenientes do ar do interior de um hospital universitário, do ar exterior e de amostras clínicas (de pacientes colonizados ou infectados). O perfil genotípico foi avaliado verificando grande diversidade genômica dos isolados, não sendo possível relacionar a possível fonte de infecção.

O prognóstico da AI está relacionado ao grau de envolvimento dos órgãos. A doença pulmonar localizada tem menor mortalidade, de 42%, enquanto a aspergilose disseminada ou cerebral apresenta uma mortalidade de aproximadamente 100% (CHANDRASEKAR; WEINMANN; SHEARER, 1995; LIN; SCHRANZ; TEUTSCH, 2001).

De acordo com Lin, Schranz e Teutsch (2001) a taxa de mortalidade associada à AI é de 58%, sendo esse número elevado para 86,7% em transplantados de medula óssea e para 88,1% nos casos de aspergilose cerebral e disseminada.

AI deve ser considerada como uma doença infecciosa emergente em UTI, mesmo na ausência de imunodeficiência predisponente aparente, apresentando incidência de 2,7% confirmada após autópsia (DIMOPOULOS *et al.*, 2003).

Em um estudo multicêntrico realizado na Espanha, observou-se uma incidência de AI em 11/1000 internações, apresentando mortalidade de 80% em pacientes infectados e 50% nos colonizados (GARNACHO-MONTERO *et al.*, 2005).

Pode-se especular que a incidência de AI em UTIs é subestimada, pois a maioria das instituições não tem uma política de protocolo de autópsia, e a sensibilidade da cultura é de apenas 30% (VANDEWOUDE *et al.*, 2006).

O diagnóstico dessa micose permanece problemático. A biópsia com evidências de invasão tecidual é preferível, mas não é facilmente obtida em imunossuprimidos e

trombocitopênicos. Por outro lado, nesses pacientes, uma cultura positiva de escarro ou lavado broncoalveolar é altamente associada com doença invasiva e fornece evidência concreta para iniciar a terapia (PERFECT *et al.*, 2001).

A sensibilidade das amostras de escarro e de lavado broncoalveolar para diagnóstico micológico é cerca de 30% e 50%, respectivamente. Em pacientes com broncopneumonia por *Aspergillus*, a sensibilidade do lavado broncoalveolar é maior do que em pacientes com a forma angioinvasiva da doença. No entanto, a da biópsia pulmonar guiada por tomografia computadorizada se aproxima dos 70%, sendo ainda maior para biópsia cirúrgica com até 90% (PAGANO *et al.*, 2001).

O exame microscópico direto é importante para a valorização da cultura positiva, devido à visualização de hifas septadas dicotômicas aumentar a probabilidade de doença invasiva (UFFREDI *et al.*, 2003).

Em um estudo retrospectivo abordando a importância do isolamento de *Aspergillus* em amostras respiratórias em pacientes não granulocitopênicos, a detecção de hifas septadas foi significativamente maior nos pacientes infectados do que nos colonizados (UFFREDI *et al.*, 2003).

A combinação de uma cultura positiva e a presença de hifas septadas em amostras do trato respiratório inferior foi usada para discriminar a colonização da infecção em pacientes não granulocitopênicos, sendo verificado uma taxa de mortalidade de 77% versus 40% dos pacientes considerados colonizados (MEERSSEMAN *et al.*, 2004).

Apesar da cultura de amostras do trato respiratório positiva para espécies de *Aspergillus* não ser sensível, nem específica, muitas vezes é o primeiro indício para o diagnóstico de pacientes em estado crítico. Excluindo a possibilidade de contaminação durante a fase pré-analítica da amostra, o isolamento de *Aspergillus* no trato respiratório pode representar infecção, colonização ou um marcador para o desenvolvimento futuro de doença invasiva (VANDEWOUDE *et al.*, 2006).

Nesse contexto, o diagnóstico sorológico da infecção por *Aspergillus* deve ser realizado, a fim de contribuir na confirmação e detecção da infecção. Esse se baseia na detecção de galactomanana, um polissacarídeo presente na parede celular do fungo e liberado nos fluidos biológicos. O método ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) apresenta alta sensibilidade e especificidade, permitindo detecção de níveis muito baixos de galactomanana circulante. Esse teste sorológico normalmente é positivo dias antes dos

resultados de cultura, permitindo confirmação do diagnóstico precocemente. Além disso, exames seriados são úteis na avaliação da resposta ao tratamento (MAERTENS *et al.*, 1999).

Resultados falso-positivos, da detecção de galactomanana, ocorrem principalmente em prematuros e crianças pequenas, tornando seu uso inapropriado na população pediátrica. Em um estudo com adultos neutropênicos graves, o índice de falso-positivos chegou a 14%. Esses podem ser resultado da detecção de galactomanana normalmente presente em alguns alimentos e antibióticos de uso parenteral (MAERTENS *et al.*, 2001).

Em um estudo com pacientes críticos sem malignidade, o teste de galactomanana foi duas vezes positivo em 53% dos pacientes com AI comprovada ou provável, comprovando ser esse método promissor para o diagnóstico da AI (MEERSSEMAN *et al.*, 2004).

A detecção desse exoantígeno de *Aspergillus* tem sido mostrada como um teste útil para o diagnóstico precoce da AI com sensibilidade de 94% e especificidade de 98% (HALLIDAY *et al.*, 2005).

Sorologia para detecção de galactomanana deve ser incorporada no diagnóstico de aspergilose em pacientes imunocomprometidos, no entanto a liberação desse antígeno pode ser influenciada pelo estado imunológico do paciente, podendo ocorrer resultados falsos positivos em pacientes que receberam piperacilina tazobactam e outros antibióticos beta-lactâmicos (VANDEWOUDE; VOGELAERS; BLOT, 2006).

A detecção de glucana no soro de pacientes, proveniente da parede celular fúngica, é outra forma de diagnosticar sorologicamente infecção invasiva por fungos (OSTROSKY-ZEICHNER, 2005). No entanto, a glucana não é específica para *Aspergillus* e testes falso-positivos ocorrem em pacientes após hemodiálise, circulação extracorpórea, altas doses de tratamento com imunoglobulina e após a exposição de gases contendo glicol (VANDEWOUDE; VOGELAERS; BLOT, 2006).

Dessa forma, a utilização de galactomanana e glucana como marcadores sorológicos não pode ser a única forma de diagnóstico em pacientes com cuidados intensivos, e a interpretação dos resultados positivos ou negativos requer cautela (VANDEWOUDE; VOGELAERS; BLOT, 2006).

A utilização de exames radiológicos pode auxiliar na detecção de AI. A tomografia computadorizada de alta resolução do tórax tem assumido uma crescente importância no

diagnóstico precoce da infecção fúngica invasiva em grupos de pacientes de alto risco, levando a redução da mortalidade, sendo a tomografia computadorizada dos seios da face e a ressonância magnética do encéfalo úteis na determinação da extensão da invasão da órbita facial e do cérebro respectivamente (CAILLOT *et al.*, 1997; DENNING, 1998; LIN; SCHRANZ; TEUTSCH, 2001).

Essa técnica também detecta várias lesões nodulares solitárias ou múltiplas, infiltrados periféricos triangulares com tendência a cavitação, infiltrado pulmonar difuso, o sinal do halo e crescente aéreo, que são típicos dessa micose e muitas vezes não são evidenciados na radiografia de tórax (CAILLOT *et al.*, 2001).

A imagem radiológica associada à detecção do antígeno galactomanana por técnicas sorológicas favorecem o diagnóstico precoce (BECKER *et al.*, 2003).

Maertens *et al.* (2005) afirmam que a detecção desse antígeno, realização de tomografia computadorizada e broncoscopia precocemente são uma forma de prevenção mais efetiva que o uso de terapia antifúngica empírica.

Leão *et al.* (2006) detectaram 19 casos de aspergilose pulmonar angioinvasiva em portadores de leucemia aguda, sendo verificado em 12 casos na tomografia computadorizada a ocorrência de um halo com atenuação em vidro fosco ao redor do nódulo, massa ou consolidação.

O sinal do halo desempenha um importante papel no paciente neutropênico no início do curso da doença. Infelizmente, a tomografia computadorizada na UTI é de pouco benefício, pois nenhuma lesão específica para AI é identificada nessa população (MEERSSMAN *et al.*, 2007).

A impossibilidade de realizar procedimento invasivo em todos os pacientes, muitos deles criticamente doentes e com distúrbios hematológicos graves, e a demora na obtenção de resultados de cultura ressalta a importância de critérios que indiquem tratamento na ausência de diagnóstico definitivo. Neste contexto, análise dos fatores de risco é fundamental, e quando associada a dados clínicos, permite a categorização do diagnóstico de AI em “provável” e “possível” (ANDREAS *et al.*, 2000; PFALLER *et al.*, 1998).

O diagnóstico definitivo só pode ser obtido por exame micológico direto, cultura ou estudo anatomopatológico de espécime de biópsia pulmonar ou de material obtido de sítios estéreis, como líquido pleural (ANDREAS *et al.*, 2000).

Na prática clínica, o diagnóstico de AI “comprovada” raramente é estabelecido anteriormente ao óbito, devido ao estado crítico dos pacientes impossibilitar coletas invasivas. Uma vez que os testes de diagnóstico não invasivos são pouco sensíveis ou insuficientemente específicos para estabelecer o diagnóstico definitivo, as categorias de AI “provável” e “possível” têm sido usadas, baseadas na combinação de fatores de risco, sintomas clínicos, imagem radiológica e critérios microbiológicos (ASCIOGLU *et al.*, 2002).

As técnicas moleculares podem ser utilizadas para o diagnóstico da AI em amostras de sangue e de lavado brônquico alveolar, no entanto, essa metodologia não é aplicada em diversos centros devido ao seu elevado custo (PHAM *et al.*, 2003; RAAD *et al.*, 2002).

Em estudo realizado por Vandewoude *et al.* (2006) com 25.216 pacientes internados em UTI foram obtidas amostras positivas para *Aspergillus* em 172 pacientes. Desses, 83 casos foram classificados como aspergilose pulmonar invasiva, sendo 17 “comprovada” e 68 “provável” e nos 89 pacientes restantes, a presença de *Aspergillus* foi considerada como colonização.

O tratamento da AI é uma combinação de antibióticos, antifúngicos e procedimentos cirúrgicos (DENNING, 1998), sendo o voriconazol o agente antifúngico mais indicado (Segal *et al.*, 2006), no entanto, na ausência desse fármaco o itraconazol deve ser instituído em pacientes que não possam fazer uso de anfotericina B (PEIXINHO *et al.*, 2003).

Aspergilose é a micose por fungos filamentosos hialinos mais incidente na UTI, contudo entanto, outras espécies podem acometer o homem, mais raramente, como as de *Penicillium*, estando envolvidas em quadros infecciosos fatais (SAFDAR; SINGHAL; MEHTA, 2004).

2.2 SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA

A incidência de infecções fúngicas oportunistas tem aumentado concomitantemente com o surgimento de cepas resistentes a terapêutica antifúngica (BALKIS *et al.*, 2002), sendo a utilização de tratamentos empíricos e profiláticos em pacientes neutropênicos um dos principais fatores relacionados à emergência de espécies resistentes (MELLADO *et al.*, 2002; SANGLARD, 2002).

Dessa forma, a necessidade de se realizar ensaios de susceptibilidade antifúngica *in vitro* que permitam prever a evolução clínica dos pacientes com infecção sistêmica, tem sido crescente. Para algumas drogas, no entanto, dificuldades de detecção de resistência e baixa correlação clínica são as maiores limitações dos métodos disponíveis atualmente (CUENCA-ESTRELLA; RODRÍGUEZ-TUDELA, 2002).

A resistência clínica frequentemente é associada a concentrações inibitórias mínimas (CIMs) elevadas, embora baixos valores de CIMs não estão sempre relacionados a boa resposta terapêutica, principalmente em pacientes imunocomprometidos (SANGLARD, ODDS, 2002), sendo as principais causas de esquema terapêutico ineficaz a utilização de doses inadequadas, interações medicamentosas e neutropenia grave (CANUTO; RODERO, 2002).

Roilides *et al.* (2004) afirmam que amostras de *Candida* isoladas de pacientes internados em UTIs apresentam susceptibilidade diminuída aos agentes antifúngicos devido ao seu uso empírico excessivo.

A determinação da susceptibilidade antifúngica dos agentes etiológicos é importante na escolha da conduta terapêutica e eficácia do tratamento (PFALLER; DIEKEMA, 2004). A instituição da terapêutica antifúngica tardia e inadequada é associada a maior mortalidade e probabilidade de contaminação cruzada (AVILA-AGUERO *et al.*, 2005).

Entre os principais grupos de antifúngicos destacam-se os polienos que promovem alterações a nível de membrana interagindo com o ergosterol presente na célula fúngica, sendo representantes desse grupo a anfotericina B e suas formulações lipídicas e a nistatina; os azólicos que inibem a síntese do ergosterol, representados pelo cetoconazol, fluconazol, voriconazol e mais recentemente pelo posaconazol; e as equinocandinas de que fazem parte a caspofungina, anidulafungina e micafungina, atuando na parede celular fúngica (BERGOLD; GEORGIADIS, 2004).

No Brasil, segundo as recomendações do Consenso Brasileiro de Medicina, anfotericina B, fluconazol e caspofungina constituem opções para o tratamento de candidemia. Além dessas drogas, o voriconazol e a anidulafungina aparecem como opção de tratamento para espécies resistentes ao fluconazol e quando a condição clínica do paciente não permite a utilização de drogas com elevada toxicidade (HAZEN; HOWELL, 2007).

Atualmente, anfotericina B e fluconazol são as duas drogas mais comumente utilizadas para o tratamento de infecções invasivas por leveduras do gênero *Candida*. No entanto, o uso rotineiro de agentes antifúngicos empiricamente tem sido associado ao desenvolvimento de espécies de *Candida* resistentes e aumentado às infecções por espécies de *Candida* não-*albicans*. Estimando-se que cerca de 10% dos isolados de *C. albicans* provenientes de amostras de sangue são resistentes ao fluconazol (FERREIRA *et al.*, 2012).

O polieno anfotericina B, produzido naturalmente pelo actinomiceto *Streptomyces nodosus*, foi inicialmente isolado em 1955 (GOLD *et al.*, 1956) e, desde então, tem sido amplamente utilizado no tratamento das infecções fúngicas sistêmicas devido sua ação fungicida (BOLARD *et al.*, 1993).

A anfotericina B é considerada o padrão ouro para o tratamento de infecções sistêmicas por espécies de *Candida* (CARRILO-MUÑOZ *et al.*, 2006). No entanto, esse fármaco apresenta baixa seletividade, sendo potencialmente tóxico às células humanas, apresentando nefrotoxicidade elevada (HA *et al.*, 2011).

Visando à diminuição da toxicidade deste antifúngico têm sido desenvolvidas formulações lipossomais, porém o custo destas é elevado e a penetração renal pode ser menor (ZAOUTIS *et al.*, 2005).

Apesar de ocasionar inúmeros efeitos colaterais e da introdução de antifúngicos azólicos sistêmicos, esse antifúngico é amplamente utilizado devido a raridade de espécies resistentes (AKINS, 2005) e aos quase 50 anos de experiência clínica, permanecendo como a droga de escolha no tratamento da maioria das micoses sistêmicas (DISMUKES, 2000).

A emergência de resistência a este fármaco começa a ter relevância clínica (ZAOUTIZ *et al.*, 2005), sendo associada a CIMs superiores a 2 µg/ml (ESPINEL-INGROFF *et al.*, 2007).

Alguns autores relatam a ocorrência de resistência em isolados de *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* (PFALLER *et al.*, 2002), *C. lusitaniae* (CHAPMAN, 2007), *Paecilomyces lilacinus*, *Scedosporium apiospermum*, *S. prolificans*, *Aspergillus terreus*, *A. ustus*, *Sporothrix schenckii*, *Penicillium marneffei* e espécies de *Alternaria*, *Fusarium* e *Phialophora* (ESPINEL-INGROFF *et al.*, 2007).

Pfaller *et al.* (2002) avaliaram a resistência de isolados de *Candida* a anfotericina B, provenientes de pacientes hospitalizados em todo o continente norte americano,

detectando que *C. albicans* foi à espécie mais suscetível, com CIM de 1,0 µg/mL, seguida de cepas resistentes de *C. glabrata* (4,0 µg/mL), *C. parapsilosis* (4,0 µg/mL) e *C. krusei* (8,0 µg/mL).

Em estudos brasileiros Antunes *et al.* (2004) e Colombo *et al.* (2006) avaliaram a suscetibilidade de isolados de *Candida* provenientes de amostras de sangue, verificando que todos os isolados foram sensíveis a anfotericina B com CIMs < 1µg/mL.

Na década de 80 os antifúngicos azólicos sistêmicos foram introduzidos no mercado como drogas alternativas para o tratamento das micoses invasivas, principalmente em indivíduos debilitados, cujo tratamento com anfotericina B não era possível devido sua toxicidade (Akins, 2005). Esses antifúngicos apresentam ação fungistática, atuando na inibição do crescimento celular (CHAPMAN, 2007).

O Fluconazol é um derivado azólico pertencente a família dos triazóis de primeira geração, o qual age através da inibição da enzima 14- α -esterol demetilase, necessária para a produção de ergosterol, componente importante da membrana celular fúngica (CHAPMAN, 2007).

Esse antifúngico é bastante utilizado para o tratamento de candidíase orofaríngea e sistêmica, e nos últimos anos tem sido empregado em esquemas antimicrobianos profiláticos em pacientes internados em UTIs e portadores de neoplasias malignas durante a realização da quimioterapia (MANZONI *et al.*, 2007).

Uma preocupação em relação ao uso desta droga é o surgimento de resistência, principalmente entre as espécies de *Candida* não-*albicans* como *C. krusei* e *C. glabrata* (SABATELLI *et al.*, 2006), sendo também relatada em menor proporção a ocorrência de resistência em isolados de *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* (CHAPMAN, 2007).

Pfaller *et al.* (2005) afirmam que isolados de *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* apresentam sensibilidade ao fluconazol. No entanto a ocorrência de resistência em isolados de *C. tropicalis* pode ser detectada e cepas de *C. glabrata* apresentam resistência considerável a este fármaco.

O voriconazol é outro derivado azólico, triazól de segunda geração, que foi desenvolvido com o objetivo de ampliar o espectro de atividade desse grupo de drogas (PFALLER *et al.*, 2000).

Esse antifúngico apresenta boa eficácia contra espécies de *Candida*, envolvidas em infecções invasivas (PFALLER *et al.*, 2005), no entanto seu uso deve ser moderado em

pacientes expostos previamente aos azóis, devido ao potencial de resistência cruzada, especialmente com cepas de *C. glabrata* resistentes ao fluconazol (Alexander *et al.*, 2005). Embora a maioria dos isolados resistentes sejam de *C. glabrata*, a ocorrência de resistência cruzada em isolados de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* também foi verificada (ALEXANDER *et al.*, 2005; PANACKAL *et al.*, 2006).

Segundo Martinez (2006) o voriconazol é indicado como a droga de escolha para o tratamento de aspergilose invasiva, sendo a formulação endovenosa recomendada para pacientes graves. Esse fármaco também é amplamente utilizado no tratamento das micoses invasivas por fungos filamentosos, apresentando melhor eficácia que o fluconazol (WALSH *et al.*, 2008).

O tratamento de infecções causadas por *A. terreus* deve ser realizado com derivados triazólicos, principalmente voriconazol, em virtude da resistência desse fungo à anfotericina B (WALSH *et al.*, 2008).

Ensaio clínico realizado por Walsh *et al.* (2008) mostrou que o voriconazol, quando comparado à anfotericina B, apresenta melhor resposta terapêutica, melhor sobrevida e maior segurança para o tratamento da aspergilose invasiva, devido sua elevada ação antifúngica contra espécies de *Aspergillus* e baixa toxicidade.

Mais recentemente, as equinocandinas foram introduzidas no Brasil como outra droga alternativa para o tratamento das micoses invasivas. Esses antifúngicos se destacam pela sua baixa toxicidade devido a sua especificidade, atuando em nível de parede celular, por inibição específica da síntese da 1,3- β -D-glucana, um dos principais componentes da parede celular fúngica, não ocorrendo interação com as células dos mamíferos observada nos azólicos e polienos (WIEDERHOLD; LEWIS, 2003).

As equinocandinas começaram a ser comercializadas no Brasil em 2000, com a chegada da caspofungina. Posteriormente em 2009, a anidulafungina foi introduzida como uma alternativa para o tratamento de candidíase invasiva em pacientes adultos não-neutropênicos (BORMANN; MORRISON, 2009).

A utilização desse antifúngico é promissora para o tratamento das infecções invasivas por espécies de *Candida* devido sua baixa toxicidade, custo reduzido do tratamento e pouca resistência (WIEDERHOLD; LEWIS, 2003).

A resistência a anidulafungina é rara, mesmo em isolados resistentes ao fluconazol ou a anfotericina B (ODIO *et al.*, 2004). Reboli *et al.* (2007) afirmam que essa droga apresenta 15,4% melhor eficácia contra espécies de *Candida* do que o fluconazol.

Esse antifúngico possui ação elevada contra isolados de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. kefyr*. No entanto, menor sensibilidade é detectada em isolados de *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii*, possivelmente associada à composição da parede celular dessas espécies (PFALLER *et al.*, 2005). Ensaio *in vitro* detectaram CIMs elevadas ($> 2 \mu\text{g/ml}$) para cepas dessas duas espécies, sendo associadas a falhas no tratamento (HAKKI; STAAB; MARR, 2006). Dessa forma a utilização da anidulafungina em casos de candidíase onde a espécie envolvida não é conhecida deve ser cautelosa (PFALLER *et al.* 2008).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS CLÍNICAS

As coletas das amostras clínicas foram realizadas em pacientes que apresentarem suspeita clínica de infecção nosocomial no período de março de 2008 a junho de 2011. As diferentes amostras clínicas foram obtidas na Unidade de Terapia Intensiva de hospitais públicos da Recife-PE de acordo com solicitação médica.

O procedimento para obtenção das amostras clínicas foi realizado de acordo com a localização da lesão. Espécimes clínicos como sangue, líquido céfalo raquidiano, materiais obtidos por biópsia e punção foram coletados pelos profissionais de saúde do referido hospital.

3.2 REALIZAÇÃO DO DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO

Após a obtenção das amostras foram preparadas lâminas sem adição de corante ou clarificante e, quando necessário, clarificadas com solução aquosa de hidróxido de potássio a 20%, coradas com Giemsa e contrastadas com tinta da China. Concomitantemente, as amostras clínicas foram semeadas em duplicata na superfície do meio ágar Sabouraud dextrose (Difco) adicionado de 50 mg/L de cloranfenicol contido em placas de Petri, mantidas à temperatura de 28° C e 37° C por até 15 dias. Após o surgimento das colônias estas serão purificadas e identificadas.

3.3 PURIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DOS ISOLADOS

Fragmentos das colônias foram colocados em água destilada esterilizada adicionada de 50 mg/L cloranfenicol. Desta suspensão 0,2mL foram semeados por esgotamento na superfície do meio ágar Sabouraud dextrose acrescido de antibiótico contido em placas de Petri. Posteriormente, as colônias foram semeadas em tubos de ensaio contendo meio específico, de acordo com o fungo isolado, para posterior identificação. Após serem obtidas culturas puras, estas foram identificadas de acordo com as características macroscópicas, microscópicas e quando necessária fisiológica (RAPPER; FENNEL, 1977;

KURTZMAN; FELL, 1998; BARNETT; PAINE; YARROW *et al.*, 2000; DE HOOG; GUARRO, 2000).

Identificação clássica

- Fungos filamentosos

A identificação microbiológica dos fungos filamentosos foi realizada através das características morfológicas de acordo com Rapper e Fennell (1977) e De Hoog e Guarro (2000). Características macroscópicas como coloração e textura da colônia, formação de exudato e produção de pigmentos foram avaliadas. Microscopicamente foram avaliadas a ornamentação da parede conidial, morfologia do conídio, textura da estirpe, desenvolvimento da célula pé, disposição das fiálides e aspecto da cabeça aspergilar.

- Leveduras

Morfologia das células vegetativas crescidas em meio líquido e sólido

A forma das células vegetativas como critério taxonômico foram verificadas através de lâminas contendo fragmentos da cultura (crescimento em meio ágar Sabouraud) corados com azul de Aman (lactofenol *blue*) e observadas quanto as diferentes morfologias (esferoidais, subglobulosa, elipsoidal, ovóide, cilíndrica, botuliforme, alongada, apiculada, ogival ou lunata). Para visualização das características das células vegetativas, material de cultura jovem foi inoculado em 30 mL de extrato de malte e após 2-3 dias de incubação a 28 °C, a cultura foi examinada. O comprimento e a largura das células foram medidos e os valores obtidos da medição de pelo menos 20 células foram determinados. (LODDER, 1970).

Formação de pseudomicélio, micélio verdadeiro e clamidosporo

A verificação da formação de pseudomicélio, micélio verdadeiro e clamidiosporos foram realizadas de acordo com a técnica de Dalmau (1929), na qual 3 mL de ágar-fubá (CornMeal agar) foi depositado em lâmina contida sobre um suporte de vidro em forma de U dentro de uma placa de Petri. Após solidificação do meio, a levedura foi semeada com auxílio de uma agulha em “L”, fazendo-se duas estrias paralelas, as quais foram recobertas

com lamínula esterilizada. Para evitar a dessecação do meio, o procedimento foi realizado em câmara úmida, acrescentando-se 2 mL de água destilada esterilizada na placa durante o período de incubação do teste. A visualização das estruturas através de microscopia foi feita após 24h, 48h e 72h (LODDER, 1970).

Crescimento em meio líquido

As leveduras foram semeadas em extrato de malte e incubadas a 28°C durante 10 dias. Ao fim deste período foi avaliada a formação de sedimento, anel, ilhota ou película pela massa celular crescida (KURTZMAN; FELL, 1998).

Crescimento em meio sólido

As amostras foram cultivadas em ágar malte e após três dias de incubação a 28°C, a textura da colônia foi analisada (mucóide, friável, coesa, butirosa ou seca) (LODDER, 1970).

Produção de ascos e ascosporos

As amostras foram cultivadas em ágar Gorodkowa a 28°C por 15 dias. Ao fim deste período foi avaliada a produção de ascos e ascósporos, bem como suas características taxonômicas (BARNETT; PAINE; YARROW *et al.*, 2000).

Fermentação de fontes de carbono (Zimograma)

Para a realização do teste, tubos longos de 150 por 12mm, contendo tubos menores de Durham invertidos de 50mm x 6mm foram preenchidos com água peptonada acrescida das fontes de carbono a serem testadas na concentração de 4%. Foram utilizadas 8 fontes de carbono. Em seguida, foi adicionado 100µL da suspensão de leveduras ajustada de acordo com a escala 0,5% de MacFarland. Os tubos foram incubados a 28°C por 10 dias e observados diariamente para verificar a produção de dióxido de carbono (BARNETT; PAINE; YARROW *et al.*, 2000).

Assimilação de fontes de carbono e nitrogênio (Auxonograma)

Para execução do teste, foram realizadas suspensões de cada espécie de levedura em água com extrato de levedura (YE) de acordo com a escala 0,5 de MacFarland. Em seguida, essas foram semeadas *pour plate* em meio isento de carboidratos. Após

solidificação, foram adicionadas fontes de carbono e nitrogênio, as placas mantidas a 28°C por três dias, sendo realizada leitura diária para verificar em quais fontes de carbono e nitrogênio houve crescimento da levedura, caracterizando a sua capacidade assimilativa de acordo com Barnett; Paine; Yarrow (2000).

Requerimento vitamínico (crescimento em meio isento de vitamina)

As amostras de levedura foram semeadas concomitantemente em tubos controles contendo meio líquido quimicamente definido com todos os nutrientes necessários, exceto vitaminas, e em tubos isentos de uma vitamina apenas contendo todas as outras (ácido para-aminobenzoico, biotina, ácido fólico, myo-inositol, ácido nicotínico, pantotenato, piridoxina, riboflavina e tiamina). Os tubos foram incubados a 25±3 °C durante sete dias. Havendo crescimento no tubo controle, a levedura foi capaz de sintetizar todas as vitaminas de que necessita (LOODER, 1970; BARNETT; PAINE; YARROW, 2000).

Crescimento a elevadas temperaturas

As leveduras foram avaliadas quanto ao crescimento em diferentes temperaturas. Para isto, as amostras foram semeadas em placas contendo meio ágar malte e posteriormente incubadas a 25 °C, 30 °C, 35 °C, 37 °C, 40 °C, 42 °C e 45 °C segundo Barnett; Paine; Yarrow (2000).

Produção de ácido

As leveduras foram semeadas em meio sólido contendo 5% de glicose e 0,5% de carbonato de cálcio. Posteriormente, as placas foram incubadas a temperatura de 25±3°C e avaliadas por até cinco dias. A produção de ácido foi considerada positiva se a formação de ácido for suficiente para clarificar o meio opaco (BARNETT; PAINE; YARROW, 2000).

Hidrolise da Uréia

As amostras com até 48h de crescimento foram semeadas em ágar uréia e incubadas a 37°C. Os tubos foram examinados a cada meia hora por até quatro horas a fim de verificar a mudança de cor (amarelo para vermelho), indicando produção de urease (BARNETT; PAINE; YARROW, 2000; LACAZ *et al.*, 2002).

Identificação molecular e análise da similaridade genética

Obtenção de biomassa e extração do DNA

Para análise molecular foi obtida massa celular das culturas crescidas em 2mL de meio extrato de levedura, peptona e dextrose (GUTHRIE; FINK, 1991) a 30°C sob agitação de 220 rpm, por 16 h, até a densidade de 2×10^8 células/mL. A extração do DNA e a verificação da qualidade e quantidade do DNA extraído foram realizadas de acordo com Xu *et al.* (2000).

Amplificação com primer espécie-específico e genotipagem

A amplificação foi realizada sob as seguintes condições: desnaturação inicial a 94°C durante 5min, seguido por 30 ciclos de desnaturação a 94°C durante 30s, anelamento a 50°C durante 60s, e extensão a 72°C durante 90s, com uma extensão final a 72°C durante 10min, sendo essas etapas realizadas em termociclador (Techne). Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1% com 1 X tampão TAE (Tris-acetato-EDTA) durante 40min a 3V/cm. O gel foi corado com *GelRed*TM e fotografado sob luz ultravioleta.

A amplificação com os *primers* espécie-específicos foi realizada utilizando os iniciadores: *C. albicans* (CAL5: 5' TGT TGC TCT CTC GGG GGC GGC CG 3'; NL4CAL 5' AAG ATC ATT ATG CCA ACA TCC TAG GTA AA 3'), *C. parapsilosis* (CPA4: 5' GCA TCA GTT TGA GCG GTA GGA TAA GC 3'; NL4LEL1: 5' AGA TCA TTA TGC CAA CAT CCT AGG CCG 3') e *C. tropicalis* (CTR22: 5' TGG GCG GTA GGA GAA TTG CGT TA 3'; NL4CTR1: 5' TAA GAT CAT TAT GCC AAC ATC CTA GGT ATA 3') (SANTIWONGKARN *et al.*, 2012).

Para a obtenção dos perfis de fragmentos de DNA, o DNA genômico das espécies analisadas foi amplificado através da reação em cadeia da polimerase (PCR) com os primers (GACA)₄ e (GTG)₅ que têm sido utilizados para genotipar espécies de *Candida* (ÁSMUNSDÓTTIR *et al.*, 2008; TAY *et al.*, 2009).

Análise Bioinformática

As sequências foram editadas, invertidas e ligadas para sua devida análise usando-se as ferramentas do EXPASY. Sequências de nucleotídeos, foram submetidas a uma busca

por similaridade no *GenBank* (*National Center of Biotechnology Information*, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) usando-se o programa BLASTN.

Sequenciamento dos produtos da PCR

Os produtos purificados após amplificação foram sequenciados bidirecionalmente utilizando-se o kit *Taq DyeDeoxy Terminator v3.1 Cycle Sequencing* (Applied Biosystems, Gouda, Holanda), de acordo com as instruções do fabricante. Os iniciadores utilizados para o sequenciamento foram os mesmos empregados na amplificação, com dois iniciadores a mais para a região ITS (ITS1 e ITS4). A reação de sequenciamento foi realizada em uma placa de 96 poços, cada um contendo um produto de PCR purificado diluído em água tratada com dietilpirocarbonato (DEPC) e um *mix* preparado especificamente para cada iniciador. O volume final em cada poço da placa foi de 15 μL na qual continha 40–80 ng de DNA (4 μL de DNA diluído em 2 μL de água DEPC), 2 μL de pré-mix *Taq DyeDeoxy*, 4 μL de tampão de sequenciamento e 3 μL de iniciador a 2 $\text{pmol}/\mu\text{L}$. A placa preparada foi ciclada num termociclador Perkin-Elmer 2400 (Cetus Corporation, Emeryville, California, EUA), em 25 ciclos de 20 segundos a 95°C, 15 segundos a 50°C e 1 minuto a 60°C.

Após a ciclagem, os produtos da reação de sequenciamento foram precipitados a fim de eliminar o excesso de iniciadores, sais, dNTPs e ddNTPs não incorporados.

Resumidamente, 2,0 μL de EDTA 125 mM e 3,0 μL de acetato de sódio 3 M foram adicionados a cada orifício ou poço da placa de 96 wells. Em seguida, 55 μL de etanol absoluto foram adicionados a cada poço da placa de sequenciamento, sendo esta vedada, homogeneizada e incubada por 15 minutos ao abrigo da luz em temperatura ambiente. Após a incubação, a placa foi centrifugada por 35 minutos a 3700 rpm e 20°C. Nesta etapa ocorreu a precipitação das moléculas de DNA. Após a centrifugação, o etanol foi descartado e os *pellets* foram lavados com 70 μL de etanol 70% e a placa novamente foi homogeneizada e centrifugada por 15 minutos a 3700 rpm e 4°C. Em seguida, o etanol foi descartado por inversão e o excesso retirado por evaporação a 95°C.

Após a precipitação, os fragmentos foram submetidos a uma etapa de desnaturação. Para tanto, 15 μL de formamida *HiDi* (*Applied Biosystems, Gouda, The Netherlands*) foram adicionados a cada um dos poços da placa. A placa foi vedada com uma *septa* específica para separação eletroforética em capilar, homogeneizada por 20 segundos e incubada a 94°C por 3 minutos, seguida de um choque térmico em gelo por 1 minuto. O

sequenciamento foi realizado por separação eletroforética em capilar em um sequenciador modelo *ABI Prism 3130 Genetic Analyzer* (Applied Biosystems).

Os dados do sequenciamento foram coletados com o *software AutocAssembler* (Applied Biosystems). Após a coleta, os dados passaram por uma inspeção de qualidade por meio do *Sequencing Analysis Software* (Applied Biosystems). No eletroferograma, acima de cada pico foi apresentada uma base que o computador “considera” correta para esta posição. Acima de cada base é mostrado um valor de qualidade, representado por uma barra colorida. Este parâmetro de qualidade, também chamado de QV (*quality value*) é dado pela seguinte equação: $QV = -10\log_{10}(Pe)$, onde Pe é a probabilidade de erro de incorporação. Se a barra era azul, significava que o QV para esta base é > 20 , o que significa que o $Pe < 1\%$. Uma barra completamente azul em sua extensão indicava um QV de ao menos 60% e um $Pe < 0.0001\%$. Tipicamente, a parte confiável da seqüência foi a região onde todas as bases apresentam $QV > 20$. As regiões com baixos QVs não foram consideradas confiáveis, o que significa dizer que a probabilidade de incorporação errada de nucleotídeo foi elevada nestes locais, neste caso o sequenciamento foi repetido.

Posteriormente, a edição e análise manual das seqüências foram realizadas no *Sequencher DNA Sequence Assembly Software 4.1.4* (Gene Codes Corporation, EUA) e no *SeqMan* (Lasergene, Madison, WI). A seqüência gerada por cada um dos iniciadores utilizados no sequenciamento de um dado fragmento de DNA foi analisada, a princípio separadamente e, em seguida, agrupada com as demais seqüências do mesmo fragmento, a fim de gerar seu *contig* ou sua seqüência consenso. Então, as seqüências passaram por uma inspeção na qual foram corrigidas as ambiguidades. A partir de então, as seqüências foram investigadas quanto à sua composição de bases.

Após edição completa dos *contigs*, estes foram submetidos ao BLAST na base de dados do *GenBank* através da página *web* do NCBI a fim de investigar a correspondência na identificação das espécies.

3.4 TESTE DE SENSIBILIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO*

- Leveduras

Os testes de sensibilidade antifúngica *in vitro* foram realizados de acordo com o protocolo descrito no documento M27-A3 (CLSI, 2008). Os isolados de *C. krusei* ATCC

6528 e *C. parapsilosis* ATCC 22019 foram utilizados como controle. O meio de cultura utilizado foi o RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, EUA) com L-glutamina e sem bicarbonato de sódio, pH $7,0 \pm 0,1$, com ácido morfolino propano sulfônico (MOPS; $0,165 \text{ mol.L}^{-1}$; Sigma-Aldrich). O meio de cultura foi esterilizado em membranas de $0,22 \text{ }\mu\text{m}$ (Millipore, Darmstadt, Alemanha). Os agentes antifúngicos testados foram a anfotericina B (UnitedMedical), anidulafungina (Pfizer), voriconazol (Pfizer) diluídos em DMSO e o fluconazol (Pfizer), preparado em água destilada. Concentrações diferentes dos antifúngicos foram preparadas e usadas nos intervalos de $0,03\text{-}16 \mu\text{g/mL}$ para anfotericina B; $0,015\text{-}8 \mu\text{g/mL}$ anidulafungina; $0,03\text{-}16 \mu\text{g/mL}$ voriconazol e $0,125\text{-}64 \mu\text{g/mL}$ fluconazol.

As espécies de *Candida* foram mantidas em meio Sabouraud Dextrose Ágar (SDA) e incubadas a 35°C . As suspensões dos isolados foram preparadas em solução salina, e sua densidade ajustada de acordo com a escala 0.5 de MacFarland em 90% da transmitância utilizando um espectrofotômetro a 530 nm. O volume do inóculo foi ajustado para 5,0 mL de solução salina esterilizada e, posteriormente, diluído em RPMI 1640 para uma concentração de $2\text{-}5 \times 10^3$ céls/mL.

Para os testes de sensibilidade, foram utilizadas placas de microtitulação planas de 96 poços (TPP; Trasadingen, Suíça). O inóculo foi adicionado aos poços com as drogas a serem testadas, e as placas foram incubadas a 35°C durante 24 ou 48 horas, de acordo com a droga testada, para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). As CIMs para anfotericina B foi determinada para 100% e as demais drogas para $\geq 50\%$ de inibição em relação aos poços controles. As placas foram incubadas a 35°C durante três dias para determinar a viabilidade fúngica. A Concentração fungicida mínima foi confirmada pela ausência de crescimento fúngico.

- Fungos filamentosos

A metodologia utilizada seguiu as condições descritas no protocolo M38-A2 do *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI, 2008). Os isolados controle utilizados foram os descritos anteriormente. O meio de cultura utilizado foi o RPMI 1640 nas mesmas condições descritas para levedura, assim como as concentrações dos agentes antifúngicos.

O isolado de *Aspergillus* foi repicado em Batata Dextrose Ágar (BDA) em tubos e incubado por sete dias a 35°C. Sequencialmente, 1mL de solução salina a 0,85% esterilizada foi adicionado às colônias fúngicas, e the suspension was homogenized with the tip of a transfer pipet. Posteriormente, a mistura resultante foi transferida para tubos de ensaio esterilizados, adicionando 10 µL de Tween 20 para facilitar a dispersão dos esporos. Após cinco minutos de repouso, o sobrenadante foi transferido para outro tubo de ensaio esterilizado e agitado por 15 segundos em vórtex. A densidade da suspensão foi ajustada por espectrofotômetro a 530nm para obter uma transmitância de 80%. Em seguida, as suspensões foram diluídas (1:50) em RPMI 1640, obtendo-se uma concentração final de $0,4 \times 10^4$ a 5×10^4 UFC/mL.

Em placas de microtitulação de fundo chato com 96 poços (TPP, Trasadingen, Suíça) foram dispostos 100 µL de cada uma das diluições das drogas a serem testadas (anfotericina B e fluconazol) nas colunas de 1 a 10. Em seguida, 100 µL de meio RPMI 1640 foram distribuídos nas colunas 11 e 12, as quais foram utilizadas como controle de crescimento e de esterilização, respectivamente. Posteriormente, 100 µL do inóculo padronizado foram adicionados aos poços das colunas 1 a 11, sendo as microplacas incubadas a 35°C por 48 horas.

A determinação da CIM foi realizada através da observação visual do poço que mostrou redução de crescimento fúngico, considerando o crescimento total do poço controle para anfotericina B a $CIM \leq 1\mu\text{g/mL}$ foi considerada sensível e para o fluconazol $CIM \leq 8\mu\text{g/mL}$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO

No período de março de 2008 a junho de 2011, foram coletadas 1.040 amostras clínicas provenientes de 337 pacientes, entre essas amostras de sangue, secreção traqueal, urina, vegetações cardíacas e líquido pleural, nas UTIs de quatro hospitais de Recife-PE, sendo diagnosticados 65 casos de Infecção fúngica.

O diagnóstico micológico dos isolados de *Candida* foi baseado na detecção ao exame direto de células de levedura ovais e hialinas e em alguns casos hifas hialinas septadas (Figura 1), e no isolamento de espécies de *Candida* em cultura pura de todas as amostras. Foram obtidos 61 isolados de *Candida*, em sua maioria, provenientes de amostras de sangue (42), confirmando que aproximadamente 68,85% dos casos foram de candidemia.

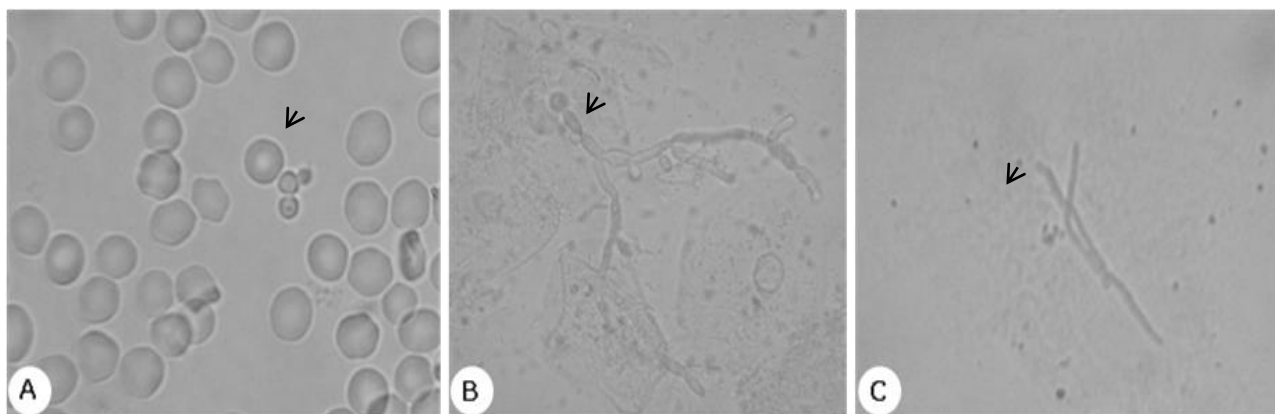


Figura 1. Microscopia direta revelando células de levedura ovais, hialinas e brotantes em amostra de sangue (A), hifas hialinas septadas na secreção traqueal (B) e na urina (C) (400X).

Endocardite por *C. parapsilosis* foi detectada em quatro pacientes. Em dois desses o diagnóstico foi confirmado pela verificação de estruturas fúngicas ao exame direto e isolamento de em cultura pura da amostra da vegetação em valva cardíaca (Figura 2); em um paciente o diagnóstico foi *postmortem* e obtido através do exame direto e cultura de

amostras do sangue, vegetação cardíaca e tecido pulmonar (Figura 3); e em outro paciente o diagnóstico foi confirmado pela imagem vegetativa do ecocardiograma transesofágico e hemocultura.

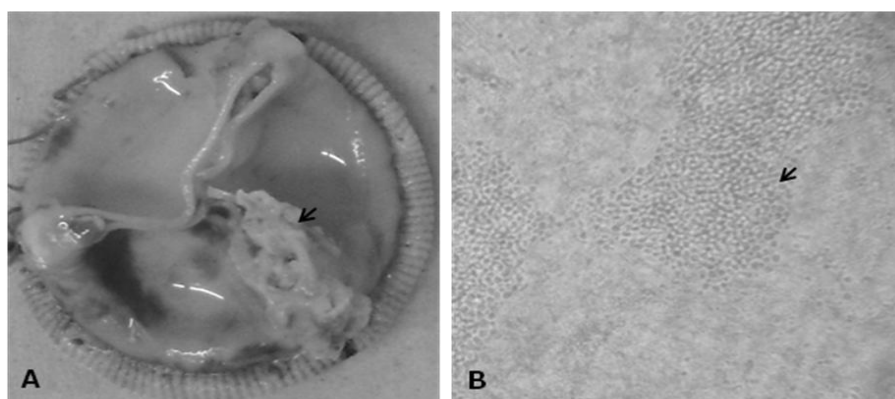


Figura 2. Vegetações na valva cardíaca (A). Exame direto da vegetação revelando numerosas células de leveduras hialinas após ação do clarificante hidróxido de potássio a 20%, X400 (B).

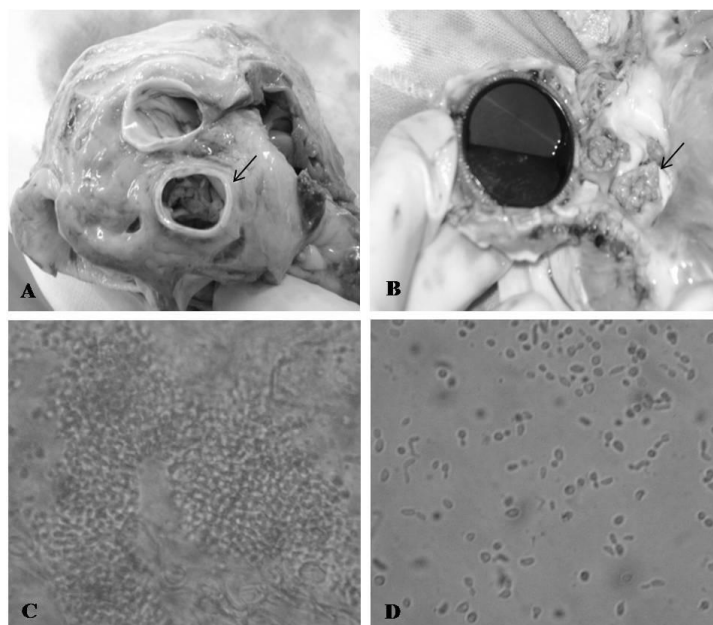


Figura 3. No exame macroscópico foi detectada vegetação na válvula aórtica (A) e prótese valvar (B). Exame direto revelando numerosas células de levedura hialinas na vegetação (C) e no tecido pulmonar (D).

Todos os pacientes que tiveram espécies de *Candida* isoladas em amostras de urina e/ou secreção traqueal apresentavam clínica e exames radiológicos ou ultrassonográficos sugestivos de infecção do trato urinário e respiratório respectivamente.

A identificação dos isolados foi compatível em todos os métodos utilizados (taxonomia classica, automatizada e molecular).

Tabela 1. Espécies de *Candida* isoladas de diferentes amostras clínicas obtidas de pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva de hospitais públicos da cidade de Recife-PE.

Espécies isoladas	Amostras clínicas	Nº de isolados
<i>Candida albicans</i>	Sangue	17
	Secreção traqueal	5
	Urina	2
<i>C. glabrata</i>	Sangue	1
<i>C. guilliermondii</i>	Sangue	4
	Líquido cefalorraquidiano	1
<i>C. krusei</i>	Sangue	4
	Líquido cavitário	1
	Secreção traqueal	1
<i>C. lusitaniae</i>	Sangue	1
<i>C. parapsilosis</i>	Sangue	4
	Secreção traqueal	1
	Vegetação em valva cardíaca	3
	Tecido pulmonar	1
<i>C. sake</i>	Sangue	1
<i>C. tropicalis</i>	Sangue	10
	Secreção traqueal	2
	Urina	2
Total		61

Candidíase invasiva foi mais frequente em portadores de doenças hematológicas malignas, destacando-se leucemia mielóide aguda com maior número de pacientes acometidos por essa levedurose (Tabela 2).

Tabela 2. Pacientes acometidos por candidíases internados em Unidades de Terapia Intensiva de hospitais públicos da cidade de Recife-PE.

Doença de base	Total do número de pacientes
Leucemia Mielóide Aguda	9
Leucemia Linfóide Aguda	4
Leucemia Mielóide Crônica	6
Síndrome Mielodisplásica	2
Mieloma Múltiplo	2
Linfoma	3
Rabdomiossarcoma	2
Osteossarcoma	1
Tumor SNC	1
Sarcoma de Ewing	1
Carcinoma de colo de útero	1
Tumor abdominal	1
Hepatopata	1
Insuficiência do trato urinário	3
Cardiopatía	4
Desnutrição grave	3
Pneumonia	9
Meningoencefalite	1
Malformação congênita	7
Total	61

Candidíase invasiva pode representar 15% das infecções nosocomiais na UTI, com taxa de mortalidade de 25 a 60 % (ZAOUTIS *et al.*, 2005), sendo o quarto patógeno mais comumente envolvido em infecções da corrente sanguínea na América do Norte (WISPLINGHOFF *et al.*, 2004).

Na Europa o gênero *Candida* está entre os agentes causais mais comuns de infecções da corrente sanguínea (BOUZA; MUÑOZ, 2008), sendo associado ao aumento da taxa de mortalidade e a maior permanência na UTI (PROWLE *et al.*, 2011).

Infecções da corrente sanguínea por espécies de *Candida* são mais comuns na UTI do que nas outras alas e podem afetar cerca de 10% dos pacientes internados (MAGNASON *et al.*, 2008).

Em nosso estudo, candidíases invasivas acometeram 18.10% dos pacientes internados em UTIs.

Durante as duas últimas décadas, tem ocorrido uma mudança progressiva no perfil epidemiológico das espécies de *Candida* isoladas na UTI. No passado, quase todos os isolados responsáveis por infecções da corrente sanguínea eram *C. albicans*; entretanto recentemente, uma proporção crescente de episódios de candidemia têm sido causados por outras espécies de *Candida* (CHOW *et al.*, 2008; HAHN *et al.*, 2008). Contudo, *C. albicans* continua a ser a espécie predominante na maioria dos países (CALANDRA; MARCHETTI, 2004) isolada em infecções invasivas em diferentes sítios anatômicos (FURLANETO-MAIA *et al.*, 2007; LEROY *et al.*, 2009).

Em 1963, eram conhecidas apenas cinco espécies de *Candida* capazes de causar doença humana, sendo posteriormente conhecidas cerca de dezessete espécies causadoras de micoses superficiais ou invasivas, destacando-se *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* (COLEMAN *et al.*, 1998; DIGNANI; SOLOMKIN; ANAISSIE, 2003).

Hahn *et al.* (2008) citam *C. tropicalis* como a espécie mais incidente em diversas amostras clínicas na UTI adulto, detectada em 20-24% dos casos, seguida por *C. albicans* e *C. parapsilosis*.

No Brasil *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* são as espécies de *Candida* não-*albicans* mais frequentemente isoladas e este perfil epidemiológico difere dos Estados Unidos que aponta *C. glabrata* como sendo a segunda espécie mais frequente (Nucci; Colombo *et al.*, 2003). Corroborando com esses autores, nós detectamos que 38,7% dos isolados foram de *C. albicans* e 61,3% foram de espécies de *Candida* não-*albicans*, sendo *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* as mais prevalentes.

A severidade da doença de base que comumente acomete os pacientes internados em UTIs os tornam altamente susceptíveis às infecções de etiologia fúngica como

consequência da diminuição na imunidade humoral e celular, e pela exposição a outros fatores predisponentes (BOLIGNANO; CRISEO, 2003).

A permanência hospitalar na UTI está relacionada ao desenvolvimento de infecção nosocomial e a estadia durante sete a trinta dias conduz ao elevado risco, por conseguinte a maioria dos pacientes que permaneceram por mais de trinta dias são infectados (LISBOA *et al.*, 2007).

Em portadores de leucemia, essa levedurose representa 58% das infecções fúngicas sendo indivíduos com leucemia mielóide aguda os mais acometidos (PAGANO *et al.*, 2006). A leucemia foi a doença de base que acometeu 32,20% dos nossos pacientes, dos quais 47,37% eram portadores de leucemia mielóide aguda e apresentaram diferença no perfil de susceptibilidade antifúngica.

Endocardite fúngica é uma doença pouco comum (FALCONE *et al.*, 2009) e mesmo correspondendo a apenas 1,3-6% de todos os casos de endocardite infecciosa, traz um grande risco de mortalidade (GARZONI; NOBRE; GARBINO, 2007).

Espécies de *Candida* correspondem a 94,1% dos casos de endocardite fúngica, muitas delas se desenvolvem após cirurgia cardíaca (OTAKI *et al.*, 1992). *C. parapsilosis* corresponde a 17% dos casos identificados, fazendo com que esta seja a segunda espécie mais comum logo após *C. albicans* (GARZONI; NOBRE; GARBINO, 2007).

Os fatores predisponentes mais comuns para ocorrência de endocardite por *C. parapsilosis* incluem: próteses valvares, uso de medicamentos intravenosos, nutrição parenteral, cirurgia abdominal, imunossupressão, tratamento com antibióticos de amplo-espectro, doença valvar prévia (FALCONE *et al.*, 2009), uso de cateteres intravenosos, (KALOTERAKIS *et al.*, 2003), e realização de transplante de medula óssea (CANCELAS *et al.*, 1994).

Infecção por *C. parapsilosis* é mais comum em pacientes com próteses valvares (FALCONE *et al.*, 2009). Dos 56 casos de endocardite por *C. parapsilosis* revisados em 1992, 60% tinham uma doença valvar preexistente (WEEMS, 1992). Endocardite por esta levedura tem uma taxa de mortalidade e frequência de disseminação similar aos casos de fungemia por *C. albicans*. Taxas de mortalidade global variam de 41,7% (GACSER; SALOMON; SCHAFER, 2005) a 65% (WEEMS, 1992). Neste relato, o paciente era usuário de prótese valvar e desenvolveu endocardite por *C. parapsilosis* com curso fatal.

Endocardite por esta levedura é difícil de ser tratada particularmente por ser uma infecção de curso lento (TONOMO; TSUJINO; FUJIOKO, 2004) e em muitos casos a recorrência e morte após o tratamento são relatadas (RUBINSTEIN; LANG, 1995).

Adicionalmente as candidíases outras infecções de etiologia fúngica também foram diagnosticadas durante a realização do estudo.

Infecção pulmonar por *Pseudozyma aphidis* foi detectada em portador de linfoma não-Hodgkin após análise do líquido pleural obtido por toracocentese. Após sete dias do semeio da amostra foi verificado o crescimento de colônias que na observação microscópicas foram sugestivas de *Pseudozyma* (Figura 4).

A taxonomia do isolado de *P. aphidis* foi procedida através de métodos clássicos e pelo sequenciamento das regiões ITS1 e ITS2. A pesquisa BLAST reproduziu 100% de concordância em todas as sequências de ITS rDNA de *P. aphidis* da database GenBank. A sequência de DNA foi submetida ao GenBank com número de acesso (JQ743064). O isolado foi estocado na coleção de culturas do Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, com o número de registro 6351.

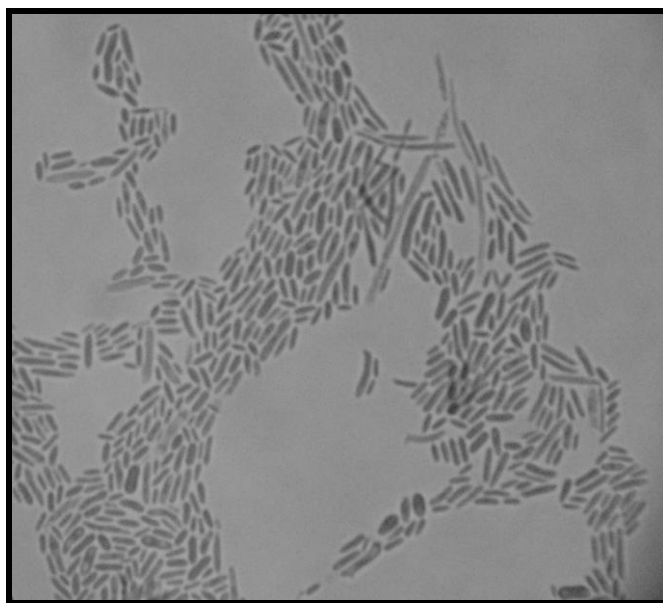


Figura 4. Exame microscópico da cultura em ágar Sabouraud dextrose após 7 dias de incubação a 37°C mostrando blastoconídios alongados e fusiformes compatíveis com espécies de *Pseudozyma*.

P. aphidis é uma levedura heterobasidiomicética anamórfica que está incluída na ordem Ustilaginales e é isolada principalmente de plantas (SUGITA *et al.*, 2003).

Infecções humanas invasivas por esta espécie são raras e pouco se sabe sobre sua patogenicidade (LIN *et al.*, 2008). SUGITA *et al.* (2003) relataram o isolamento de *P. aphidis* em hemocultura proveniente de paciente tailandês e Lin *et al.* (2008) descreveram um caso de infecção associada ao uso de cateter venoso central (CVC) em uma criança com síndrome do intestino curto. Infecções por espécies de *Ustilago* têm sido relatadas em pacientes com erupção cutânea crônica (TEO; TAY, 2006); e em outros com infecção relacionada ao CVC (PATEL *et al.*, 1995).

De acordo com o nosso conhecimento, nosso paciente foi o primeiro relato de caso de infecção pulmonar por *P. aphidis*. Acreditamos que este paciente foi infectado através da inalação de conídios. Devido à imunossupressão causada pela quimioterapia que reduziu o número de neutrófilos, ocorreu à germinação de conídios no trato respiratório e subsequente infecção.

Infecção urinária por *Saprochaete capitata* em potador de leucemia mielóide aguda também foi detectada durante a realização da pesquisa. O diagnóstico foi baseado na detecção de artroconídios em três amostras de urina do paciente e na obtenção de cultura com característica de levedura artrosporada nas três amostras (Figura 5). A taxonomia do isolado foi realizada através da taxonomia clássica e pelo sequenciamento de fragmentos da região espaçadora transcrita interna (ITS) do DNAr utilizando primers ITS-1 e ITS-4 (GONÇALVES *et al.*, 2012). A pesquisa BLAST exibiu 100% de concordância com todas as sequências de ITS de *Dipodascus capitatus* (*S. capitata* ou *Magnusiomyces capitatus*) presentes no banco de dados do GenBank. A sequência do DNA foi submetida ao GenBank com número de acesso (JN573270). O isolado foi armazenado na coleção de culturas do Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, sob o número URM6260.

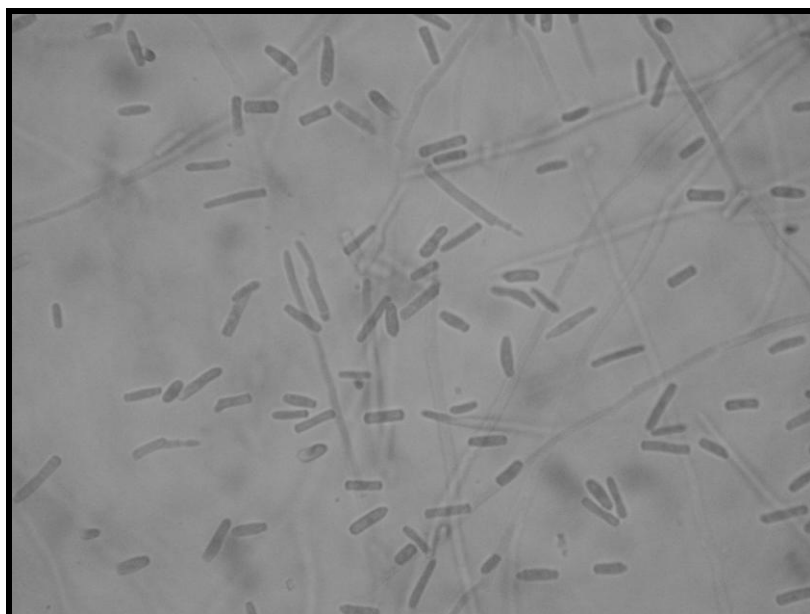


Figura 5. Lâmina da cultura produzida a partir de amostra de *Saprochaete capitata* obtida após sete dias de crescimento a 37°C em meio ágar Sabouraud dextrose (B).

S. capitata, anteriormente conhecida como *Geotrichum capitatum* ou *Trichosporon capitatum* ou *Blastoschizomyces capitatus* (teleomorfo *D. capitatus*) foi incluída em uma revisão taxonômica baseada na estrutura ribossomal e de acordo com esta nova taxonomia foi renomeada para *S. capitata* (teleomorfo *M. capitatus*) (DE HOOG; SMITH, 2004).

Em pacientes imunocomprometidos infecções sistêmicas por *S. capitata* tem sido relatadas. Estas infecções podem afetar pulmões, fígado, baço, rins, medula óssea, sistema nervoso central e coração. No entanto, infecção sanguínea é a manifestação clínica mais relatada (SCHUERMANS *et al.*, 2011).

Dois casos de infecção disseminada fatal, devido a esse patógeno, associados com leite contaminado em uma unidade hematológica foram relatados (GURGI *et al.*, 2011).

Em um estudo retrospectivo multicêntrico publicado em 2005 (GIRMENIA *et al.*, 2005) os autores descreveram 35 casos de infecção por *S. capitata* diagnosticados em um período de 20 anos em pacientes italianos com doenças hematológicas malignas. Destas 74.3% ocorreram em pacientes com LMA e fungemia foi diagnosticada em 26 casos e apenas um caso de provável infecção do trato urinário foi documentado através de múltiplas culturas positivas e evidências ultrassonográficas de lesões renais.

Outro estudo realizado por Pimentel *et al.* (2005) descreveu um caso de infecção disseminada por *S. capitata* em um paciente australiano com leucemia linfoblástica aguda. Os autores detectaram hifas ramificadas e septadas ao exame microscópico dos rins, fígado e baço durante o exame *postmortem* e culturas de sangue consistentes com esta espécie foram obtidas antes do óbito.

Isolado clínico de *Aspergillus flavus* também foi obtido, durante o nosso estudo, em três amostras da secreção traqueal de paciente portador de Leucemia Linfóide Aguda, sendo verificado ao exame direto numerosas hifas hialinas septadas em ângulo agudo de ramificação dicotômica (Figura 6A). As colônias apresentaram textura velutínea, coloração oliva, com micélio castanho e reverso sem coloração (Figura 6B). O exame microscópico das culturas mostrou conidióforos de comprimentos variados, vesículas esféricas e conídios globosos (Figura 6C).

A identificação microbiológica do *Aspergillus flavus* proveniente de amostras da secreção traqueal foi realizada pela taxonomia tradicional através de características morfológicas (Raper; Fennell, 1965), e pelo seqüenciamento de fragmentos da região espaçadora transcrita interna (ITS) do rDNA utilizando os primers ITS-1 e ITS-4 (GONÇALVES *et al.*, 2012).

Uma pesquisa BLAST detectou 100% de similaridade com as sequências da região ITS do rDNA de *A. flavus* presentes no banco de dados GenBank. A sequência do DNA foi submetida à GenBank com o número de acesso (HQ693703).

A cepa está estocada sob óleo mineral na Coleção de Cultura URM do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, reconhecida internacionalmente, sob o número 5915.

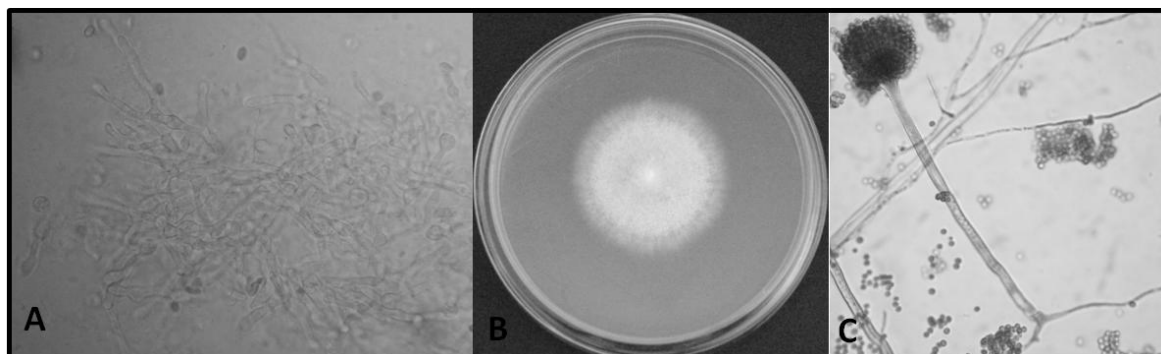


Figura 6. **A** Hifas septadas dicotômicas em ângulo agudo evidenciadas no exame direto (sem adição de corante ou clarificante, X400). **B** Colônia de *Aspergillus flavus* após cinco dias de crescimento no meio Ágar Sabouraud. **C** Características microscópicas de *A. flavus* apresentando vesícula ligeiramente esférica, estipes lisas e numerosos conídios globosos (Amann lacto-fenol, X 400).

A incidência de aspergilose invasiva (AI) tem aumentado durante as duas últimas décadas, devido à utilização generalizada de quimioterapia e agentes imunossupressores, e é uma complicação frequentemente letal em pacientes com leucemia aguda (CHAMILOS *et al.*, 2006).

De acordo com estudos anteriores foi estabelecido que os pacientes com leucemia aguda ou síndrome mielodisplásica têm elevado risco de serem acometidos por infecções por *Aspergillus* (DENNING, 1998).

Espécies de *Aspergillus* são ubíquos no ambiente com mais de 180 espécies identificadas, no entanto apenas algumas são consideradas como patogênicas do ser humano como *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus* e *A. nidulans* (ALI; OZCELIK, 2006). *A. flavus* é a segunda mais comum espécie de *Aspergillus* envolvida em infecções humanas (HADRICH *et al.*, 2011).

O pulmão continua a representar o sítio corpóreo mais frequentemente envolvido. A infecção pulmonar pode ser entendida como uma representação fenotípica da interação entre os mecanismos de defesa reduzidos no hospedeiro e a virulência do fungo (PAGANO *et al.*, 2008).

Aspergilose pulmonar invasiva é uma importante causa de morbidade e mortalidade em pacientes imunocomprometidos (JORIEN D'HAESE *et al.*, 2012), especialmente

naqueles com doenças hematológicas malignas e aplasia medular (HORGER *et al.*, 2005). O risco de API em pacientes neutropênicos é estimado em 1% por dia de neutropenia durante as primeiras 3 semanas, aumentando para a 4% por dia após esse período (GERSON *et al.*, 1984). No nosso caso, o paciente permaneceu neutropênico por 45 dias e estava realizando quimioterapia, o que pode ter favorecido o desenvolvimento da AI.

O diagnóstico de AI é difícil. Espécies de *Aspergillus* isoladas em culturas de sítios corpóreos não estéreis não representam doença. No entanto, para pacientes de alto risco, tais como receptores de transplante de medula óssea alogénico (60%), pessoas com neoplasia hematológica maligna (50%), e aqueles com sinais de neutropenia (60%) ou má nutrição (30%), a cultura positiva geralmente está associada com doença invasiva (VANDEWOUE *et al.*, 2006).

As amostras de tecido permanecem o padrão ouro de diagnóstico; no entanto, a obtenção dessas em pacientes criticamente doentes são muitas vezes difícil por causa do alto grau de ventilação e deficiências na coagulação (VANDEWOUE *et al.*, 2006).

O exame microscópico direto é importante na avaliação de uma amostra com cultura positiva; a demonstração de hifas septadas aumenta a probabilidade de doença (VANDEWOUE *et al.*, 2006).

Alta mortalidade ocorre entre os pacientes com AI, apesar do tratamento e das condições clínicas. Apenas cerca de um terço dos pacientes infectados e tratados com ANF convencional sobrevivem (LIN; SCHRANZ; TEUTSCH, 2001), sendo voriconazol a droga de escolha (WALSH *et al.*, 2008) associada a uma melhor sobrevivência (HERBRECHT *et al.*, 2002). Aqui, apesar do uso de terapêutica antifúngica apropriada nosso paciente morreu devido à gravidade da doença e extensão do dano causado pelo fungo.

O pior prognóstico ocorre em formas extrapulmonares, com sucesso terapêutico em 34% dos pacientes com aspergilose SNC (HOLDING *et al.*, 2000). A terapia antifúngica e o diagnóstico tardio estão associados a um pior prognóstico, levando em muitos casos à morte (HERBRECHT *et al.*, 2002).

Todos isolados foram estocados na Coleção de Culturas do Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil.

4.2 SENSIBILIDADE ANTIFÚNGICA

A análise do perfil de susceptibilidade antifúngica mostrou que todos os isolados testados foram sensíveis a AMB. A resistência ao FLZ foi detectada em oito isolados de *C. albicans*, um de *C. parapsilosis* e em dois de *C. tropicalis*. Resistência cruzada ao FLZ e VRZ foi detectada em três isolados de *C. albicans* e em seis de *C. tropicalis*. Todos os isolados que apresentaram resistência ao azóis foram provenientes de pacientes que haviam realizado tratamento empírico com FLZ (Tabela 3 e 4).

Tabela 3. Perfil de susceptibilidade antifúngica de isolados provenientes de pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva a anfotericina B e fluconazol.

Espécies	Sensibilidade antifúngica (Concentração Inibitória Mínima)	
	Anfotericina B	Fluconazol
<i>Candida albicans</i>	0,25 µg/mL	1 µg/mL
<i>C. albicans</i>	1 µg/mL	16 µg/mL
<i>C. albicans</i>	1 µg/mL	8 µg/mL
<i>C. albicans</i>	1 µg/mL	64 µg/mL
<i>C. albicans</i>	0,06 µg/mL	64 µg/mL
<i>C. albicans</i>	1 µg/mL	64 µg/mL
<i>C. albicans</i>	1 µg/mL	64 µg/mL
<i>C. albicans</i>	0,25 µg/mL	0,25 µg/mL
<i>C. albicans</i>	0,25 µg/mL	1 µg/mL
<i>C. albicans</i>	0,25 µg/mL	64 µg/mL
<i>C. albicans</i>	0,5 µg/mL	64 µg/mL
<i>C. albicans</i>	1 µg/mL	64 µg/mL
<i>C. albicans</i>	0,5 µg/mL	64 µg/mL
<i>C. glabrata</i>	1 µg/mL	2 µg/mL

Tabela 3. (continuação) Perfil de susceptibilidade antifúngica de isolados provenientes de pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva a anfotericina B e fluconazol.

Espécies	Sensibilidade antifúngica (Concentração Inibitória Mínima)	
	Anfotericina B	Fluconazol
<i>C. guilliermondii</i>	1 µg/mL	8µg/mL
<i>C. guilliermondii</i>	1 µg/mL	4 µg/mL
<i>C. guilliermondii</i>	0,25 µg/mL	4 µg/mL
<i>C. guilliermondii</i>	1 µg/mL	16 µg/mL
<i>C. krusei</i>	2 µg/mL	32 µg/mL
<i>C. parapsilosis</i>	0,5 µg/mL	0,5µg/mL
<i>C. parapsilosis</i>	2 µg/mL	16 µg/mL
<i>C. parapsilosis</i>	1 µg/mL	1 µg/mL
<i>C. parapsilosis</i>	1 µg/mL	64 µg/mL
<i>C. tropicalis</i>	0,05 µg/mL	64 µg/mL
<i>C. tropicalis</i>	0,25 µg/mL	64 µg/mL
<i>Aspergillus flavus</i>	1 µg/mL	0.03 µg/mL

Tabela 4. Perfil de susceptibilidade antifúngica de isolados provenientes de pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva a anfotericina B, anidulafungina, fluconazol e voriconazol.

Espécie	Susceptibilidade antifúngica (Concentração Inibitória Mínima)			
	Anfotericina B	Fluconazol	Voriconazol	Anidulafungina
<i>Candida albicans</i>	0.03 µg/mL	64 µg/mL	16 µg/mL	0.015 µg/mL
<i>C. albicans</i>	0.03 µg/mL	0.5 µg/mL	16 µg/mL	0.015 µg/mL
<i>C. albicans</i>	0.12 µg/mL	64 µg/mL	16 µg/mL	0.06 µg/mL
<i>C. albicans</i>	0.03 µg/mL	64 µg/mL	16 µg/mL	0.015 µg/mL
<i>C. albicans</i>	0.25 µg/mL	32µg/mL	8 µg/mL	0.015 µg/mL
<i>C. guilliermondii</i>	0.12 µg/mL	16 µg/mL	1 µg/mL	2 µg/mL
<i>C. krusei</i>	0.12 µg/mL	16µg/mL	4 µg/mL	0.015 µg/mL
<i>C. parapsilosis</i>	0.03 µg/mL	1 µg/mL	0.25 µg/mL	0.03 µg/mL
<i>C. parapsilosis</i>	0.03 µg/mL	1 µg/mL	0.25 µg/mL	0.03 µg/mL
<i>C. parapsilosis</i>	0.03 µg/mL	1 µg/mL	0.25 µg/mL	0.03 µg/mL
<i>C. parapsilosis</i>	0.03 µg/mL	1 µg/mL	0.25 µg/mL	0.03 µg/mL
<i>C. parapsilosis</i>	0.03 µg/mL	1 µg/mL	0.25 µg/mL	0.03 µg/mL
<i>C. parapsilosis</i>	0.03 µg/mL	1 µg/mL	0.25 µg/mL	0.03 µg/mL
<i>C. parapsilosis</i>	0.03 µg/mL	1 µg/mL	0.25 µg/mL	0.03 µg/mL
<i>C. parapsilosis</i>	0.03 µg/mL	1 µg/mL	0.25 µg/mL	0.03 µg/mL
<i>C. tropicalis</i>	0.12 µg/mL	64 µg/mL	16 µg/mL	0.12 µg/mL
<i>C. tropicalis</i>	0.03 µg/mL	64 µg/mL	16 µg/mL	0.06 µg/mL
<i>C. tropicalis</i>	0.03 µg/mL	64 µg/mL	16 µg/mL	0.06 µg/mL
<i>C. tropicalis</i>	0.03 µg/mL	64 µg/mL	16 µg/mL	0.06 µg/mL
<i>C. tropicalis</i>	0.03 µg/mL	64 µg/mL	16 µg/mL	0.015 µg/mL
<i>C. tropicalis</i>	0.06µg/mL	64 µg/mL	16 µg/mL	0.06 µg/mL
<i>Pseudozyma aphidis</i>	0.25 µg/mL	16 µg/mL	1µg/ml	NR
<i>Saprochaete capita</i>	0.06µg/mL	32µg/mL	1µg/ml	8µg/mL

*NR (não realizada)

Atualmente, AMB e FLZ são as duas drogas mais comumente utilizadas para o tratamento de infecções invasivas por leveduras do gênero *Candida* (FERREIRA *et al.*, 2012). O uso empírico excessivo de antifúngicos no tratamento da candidíase tem conduzido a resistência, sobretudo, em pacientes internados em UTIs (ROILIDES *et al.*, 2004) e aumentado a incidência de infecções por espécies de *Candida* não-*albicans*, estimando-se que cerca de 10% dos isolados de *C. albicans* provenientes de amostras de sangue são resistentes ao fluconazol (FERREIRA *et al.*, 2012).

O voriconazol é outro antifúngico azólico utilizado no tratamento de infecções sistêmicas por espécies de *Candida* (PFALLER *et al.*, 2005), no entanto seu uso deve ser moderado em pacientes expostos previamente a outros azóis, devido ao potencial de resistência cruzada (ALEXANDER *et al.*, 2005). Embora a maioria dos isolados resistentes sejam de *C. glabrata*, a ocorrência de resistência cruzada em isolados de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* já foi verificada (ALEXANDER *et al.*, 2005; PANACKAL *et al.*, 2006). Nesse estudo foi detectada resistência ao FLZ em isolados de *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*; e resistência cruzada ao FLZ e VRZ em isolados de *C. albicans* e *C. tropicalis*.

Uma preocupação em relação ao uso da AMB é o surgimento de resistência, principalmente entre as espécies de *Candida* não-*albicans* como *C. krusei* e *C. glabrata* (SABATELLI *et al.*, 2006), sendo também relatada a ocorrência de resistência em isolados de *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* (CHAPMAN, 2007).

Apesar de ocasionar inúmeros efeitos adversos a AMB continua sendo a droga de escolha para o tratamento de micoses invasivas (AKINS, 2005). Nós verificamos que todos os isolados de *Candida* dos nossos pacientes não apresentaram resistência a esse antifúngico.

A utilização de equinocandinas é promissora para o tratamento das infecções invasivas por espécies de *Candida* devido sua baixa toxicidade, custo reduzido do tratamento e pouca resistência (WIEDERHOLD; LEWIS 2003). Esses antifúngicos possuem ação elevada contra isolados de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. kefyr*. No entanto, menor sensibilidade é detectada em isolados de *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii*, possivelmente associada à composição da parede celular dessas espécies (PFALLER *et al.*, 2005).

Ensaio *in vitro* detectaram CIMs elevadas superiores a 2 µg/ml em cepas de *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii*, sendo associadas a falhas no tratamento (HAKKI; STAAB; MARR, 2006). Contudo, a utilização da anidulafungina em casos de candidíase onde a espécie envolvida não é conhecida deve ser cautelosa (PFALLER *et al.* 2008). Detectamos em nosso estudo CIM de 2 µg/ml em isolado de *C. guilliermondii*.

4.3 ANÁLISE DA SIMILARIDADE GENÉTICA

Foi procedida à análise da similaridade genética de 36 espécimes de *Candida* isolados de amostras clínicas como sangue, secreção traqueal, urina, vegetação presente em valva cardíaca e tecido pulmonar, provenientes de pacientes internados em UTIs de quatro hospitais públicos da cidade de Recife, Pernambuco, Brasil (Tabela 5).

Tabela 5. Isolados de *Candida* obtidos na unidade de terapia intensiva de quatro hospitais públicos da cidade do Recife, Pernambuco, Brasil.

Procedência	Espécies	Número de isolados
Hospital 1 (UTI pediátrica)	<i>Candida albicans</i>	4
Hospital 2 (UTI adulto)	<i>C. tropicalis</i>	4
Hospital 3 (UTI pediátrica)	<i>C. albicans</i>	9
	<i>C. parapsilosis</i>	6
	<i>C. tropicalis</i>	5
Hospital 4 (UTI cardiológica)	<i>C. parapsilosis</i>	8

A identificação microbiológica foi confirmada através da taxonomia clássica segundo os critérios descritos por Barnett, Payne e Yarrow (2000), pela utilização do meio cromogênico, seletivo e diferencial CHROMagar *Candida* (CHROMagar Company Ltd), e pelo uso de primers espécie-específicos para *C. albicans* (CAL5: 5' TGT TGC TCT CTC GGG GGC GGC CG 3'; NL4CAL 5' AAG ATC ATT ATG CCA ACA TCC TAG GTA AA 3'), *C. parapsilosis* (CPA4: 5' GCA TCA GTT TGA GCG GTA GGA TAA GC 3'; NL4LEL1: 5' AGA TCA TTA TGC CAA CAT CCT AGG CCG 3') e *C. tropicalis*

(CTR22: 5' TGG GCG GTA GGA GAA TTG CGT TA 3'; NL4CTR1: 5' TAA GAT CAT TAT GCC AAC ATC CTA GGT ATA 3') (SANTIWONGKARN *et al.*, 2012).

A identificação dos isolados foi compatível em todos os métodos utilizados. A identificação molecular com primers espécie-específicos dos isolados de *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* está expressa nas figuras 7A, 8A e 9A.

A análise genotípica dos 13 isolados de *C. albicans* utilizando o marcador (GTG)₅ (Figura 7B) evidenciou alta homogeneidade, com 100% de similaridade do tamanho dos fragmentos em três isolados dos hospital 1 (1, 2 e 4) e em sete do hospital 3 (5, 6, 7, 8, 9, 10, 13). Já para o marcador (GACA)₄ (Figura 7C) apenas dois isolados do hospital 1 (3 e 4) apresentaram 100% de similaridade e no hospital 3 houve a formação de dois grupos com 100% de similaridade, o primeiro composto de três isolados (5, 12 e 13) e o segundo de dois isolados (9 e 10).

Para os 14 isolados de *C. parapsilosis* o marcador (GTG)₅ (Figura 8B) evidenciou 100% de similaridade entre os oito isolados do hospital 4 e alta variabilidade genética entre os isolados do Hospital 3. A análise com o primer (GACA)₄ (Figura 8C) mostrou a formação de dois grupos nos isolados do Hospital 4 com 100% de similaridade no tamanho dos fragmentos, o primeiro composto de 6 isolados (1, 4, 5, 6, 7, e 8) e o segundo de 2 isolados (2 e 3), sendo igualmente verificada grande heterogeneidade genética entre os isolados do Hospital 3.

Para os nove isolados de *C. tropicalis* o marcador (GTG)₅ demonstrou similaridade de 100% nos tamanhos dos fragmentos em todos os isolados testados (Figura 9B). No entanto, para o marcador (GACA)₄ verificou-se que houve separação de dois grupos com 100% de similaridade, o primeiro contendo todos os isolados do hospital 2 (1, 2, 3 e 4) e o segundo com todos os isolados do hospital 3 (5, 6, 7, 8 e 9), evidenciando a existência de uma população homogênea nos dois hospitais (Figura 9C).

Técnicas moleculares, entre essas a análise das seqüências internas simples repetidas do genoma (ISSR) com os primers (GTG)₅ e (GACA)₄, são simples, rápidas, estáveis, sensíveis, altamente reprodutíveis e bem adaptadas para genotipagem de espécies de *Candida* (LATOUCHE *et al.*, 1997). A utilização desses iniciadores em análises genotípicas pode auxiliar na indicação da possível fonte de infecção (ROILIDES *et al.* (2003).

Surtos e transmissão cruzada em pacientes de UTI podem ser atribuídos à contaminação extrínseca através do cateter venoso central, soluções de nutrição parenteral total, dispositivos intravasculares e medicamentos contaminados (HUANG *et al.*, 1999).

C. parapsilosis tem sido responsável por surtos hospitalares, sendo as mãos dos profissionais de saúde consideradas uma possível fonte ambiental de contaminação (BONASSOLI; BERTOLI; SVIDZINSKI, 2005). Surto clonal de infecções por *C. parapsilosis* foi detectado através da análise molecular de isolados provenientes de diferentes amostras clínicas de pacientes internados na UTI neonatal de um hospital da Finlândia (Sarvikivi *et al.* 2005). Tal achado também foi relatado por Dizbay *et al.* (2008) em pacientes internados na UTI de um hospital da Turquia, onde foi detectado o mesmo padrão de bandas em quatro isolados de pacientes distintos.

A utilização do primer (GACA)₄ foi empregada para detecção do perfil genotípico de isolados de *C. tropicalis* em dois casos de fungemia ocorridos na UTI neonatal, verificando que um paciente foi infectado e colonizado pelo mesmo subtipo, considerando a colonização prévia como uma fonte de infecção em casos de fungemia (ROILIDES *et al.* 2003).

Chong *et al.* (2006) procederam o isolamento e estudo da epidemiologia molecular de oito isolados de *C. tropicalis* provenientes de hemoculturas de um único paciente no período de três meses. As linhagens foram submetidas à genotipagem e a similaridade dos isolados foi verificada indicando mesma fonte de infecção microbiana.

A genotipagem dos nossos isolados mostrou alta homogeneidade genética entre os isolados de *C. parapsilosis* do hospital 4 e entre os isolados de *C. tropicalis* do hospital 2 e 3. Foi verificado que a tipagem molecular com o primer (GACA)₄ se mostrou mais eficaz na detecção de populações similares, sendo esse marcador indicado para avaliação de surtos no ambiente hospitalar.

Esses resultados indicam uma provável propagação clonal entre os isolados de *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*. Sugerindo uma possível infecção hospitalar com contaminação cruzada de paciente para paciente ou dos profissionais de saúde para os pacientes.

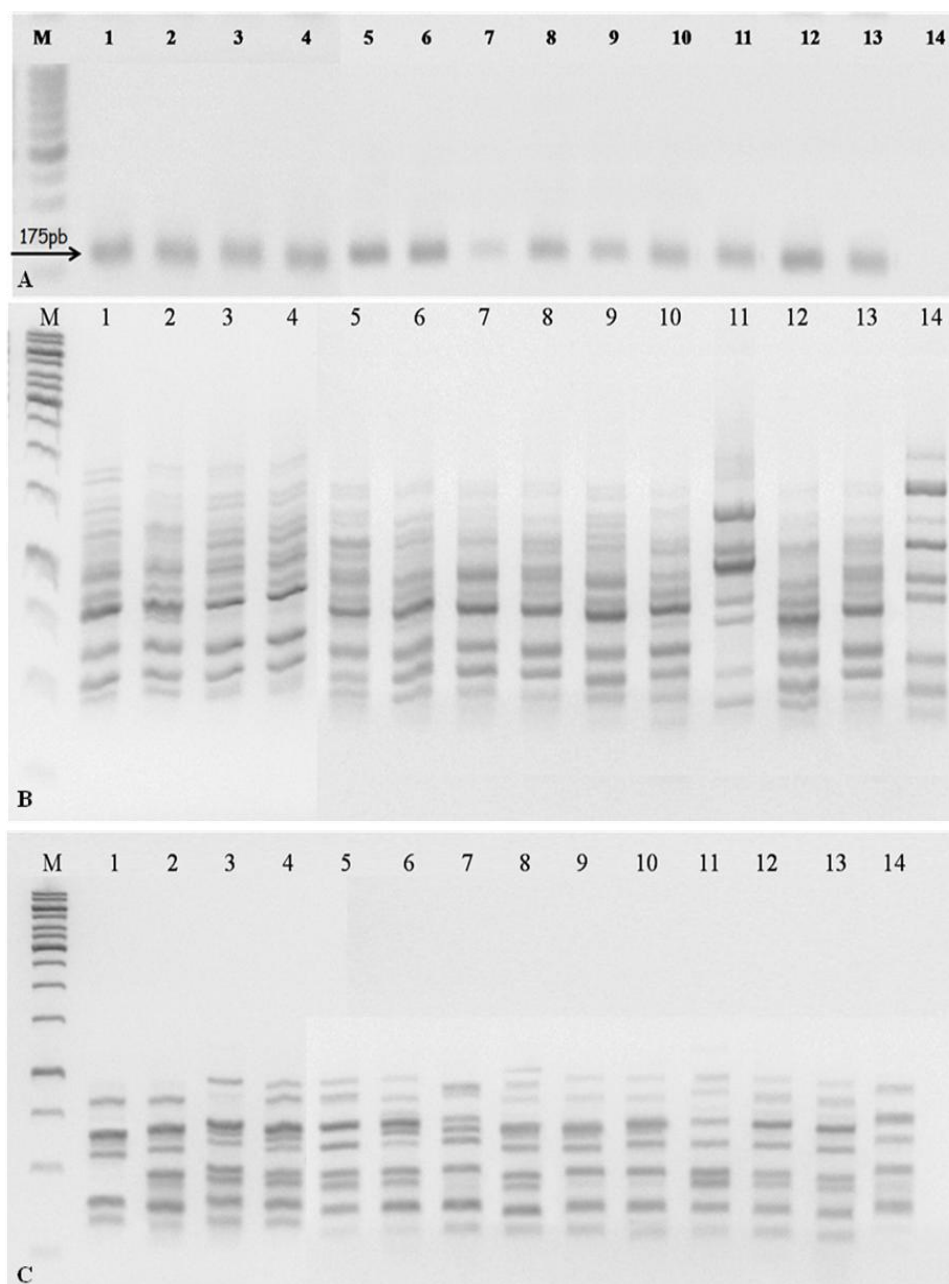


Figura 7. Gel de agarose obtido após eletroforese de produtos de amplificação por PCR de isolados de *Candida albicans* obtidos de amostras clínicas de pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva com primers espécie-específicos CAL5 e NL4CAL (A) e com os marcadores (GTG)₅ (B) e (GACA)₄ (C). Colunas de 1 a 13 correspondem aos isolados 1, 2, 3, 4 (hospital 1), 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 (hospital 3). Coluna 14 a ATCC750 *C. tropicalis*. M: Marcador de peso molecular 100pb em A e 1Kb plus em B e C.

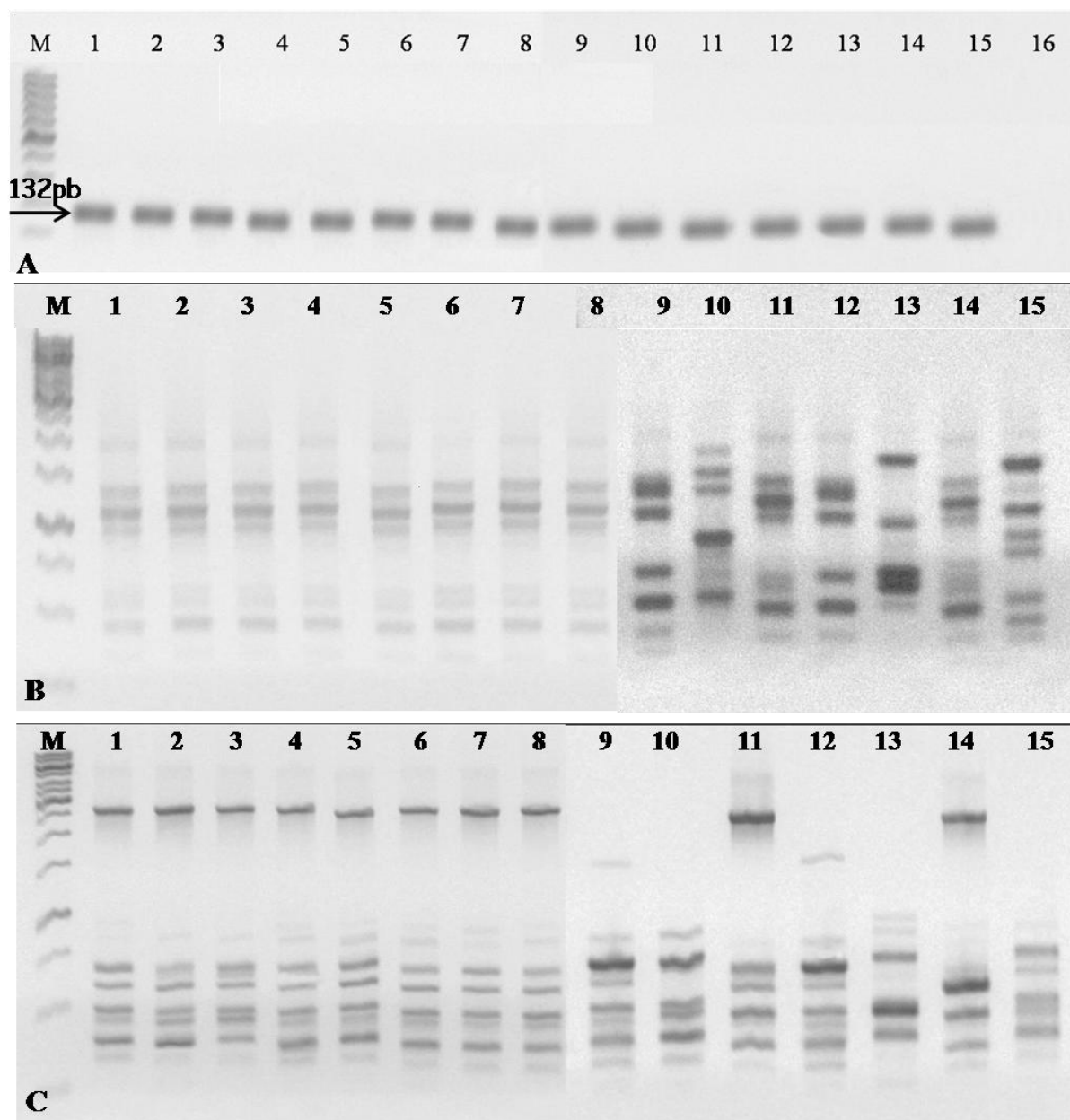


Figura 8. Gel de agarose obtido após eletroforese de produtos de amplificação por PCR de isolados de *Candida parapsilosis* obtidos de amostras clínicas de pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva com primers espécie-específicos CPA4 e NL4LEL1 (A) e com os marcadores (GTG)₅ (B) e (GACA)₄ (C). Colunas de 1 a 13 correspondem aos isolados 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 (hospital 4), 9, 10, 11, 12, 13, 14 (hospital 3). Coluna 15 isolado de *C. guilliermondii*. M: Marcador de peso molecular 100pb em A e 1Kb plus em B e C.

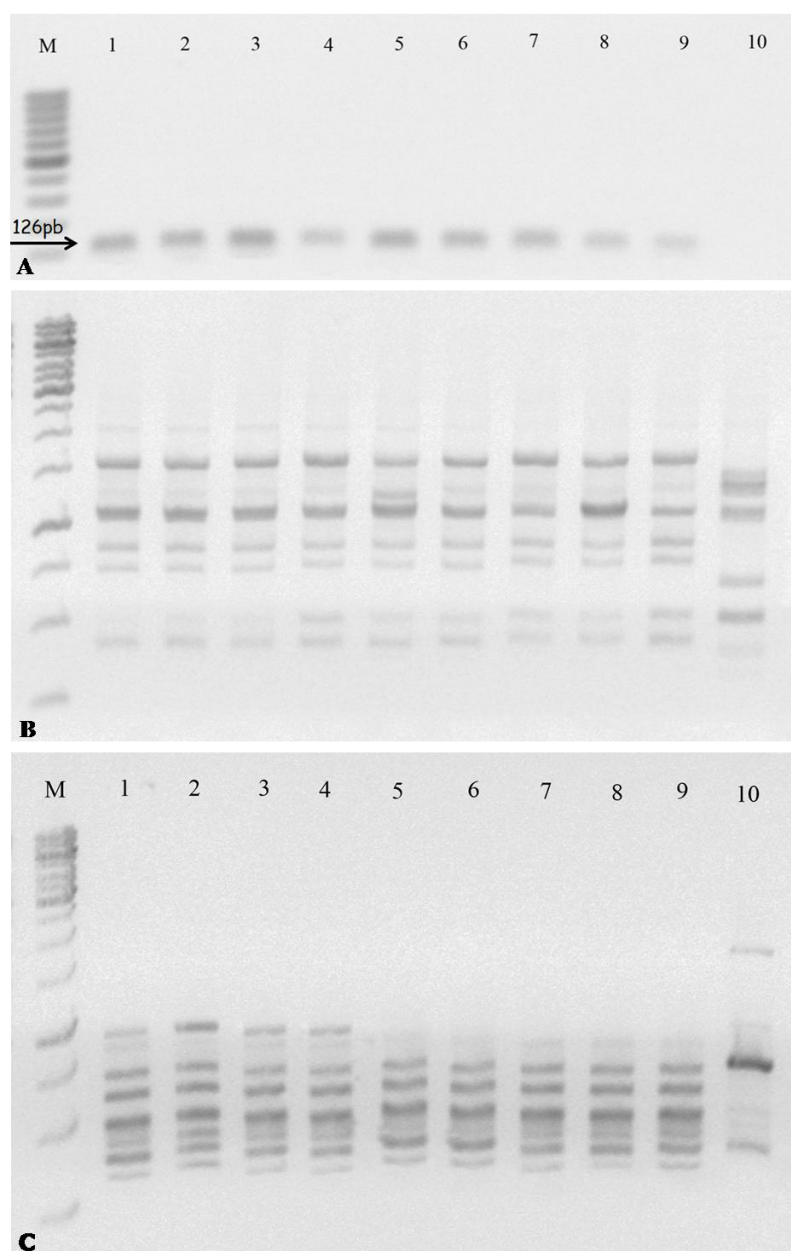


Figura 9. Gel de agarose obtido após eletroforese de produtos de amplificação por PCR de isolados de *Candida tropicalis* obtidos de amostras clínicas de pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva com primers espécie-específicos CTR22 e NL4CTR1 (A), e com os marcadores (GTG)₅ (B) e (GACA)₄ (C). Colunas de 1 a 9 correspondem aos isolados 1, 2, 3, 4 (hospital 2), 5, 6, 7, 8 e 9 (hospital 3). Coluna 10 isolado de *C. guilliermondii*. M: Marcador de peso molecular 100pb em A e 1Kb plus em B e C.

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que:

- Infecções fúngicas nosocomiais acometem pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva, com maior incidência de fungemia.
- Portadores de doenças hematológicas malignas, principalmente leucemia mielóide aguda, internados em Unidades de Terapia Intensiva são os mais acometidos por infecções fúngicas.
- A candidíase é a micose mais prevalente em Unidades de Terapia Intensiva e *C. albicans* é o agente etiológico mais frequentemente.
- *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis*, *C. sake* e *C. tropicalis*, são as espécies que infectam pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva.
- Leveduroses por *Saprochaete capitata* e *Pseudozima aphidis* acometem imunocomprometidos internados em Unidades de Terapia Intensiva.
- *Aspergillus flavus* causa micose invasiva em portadores de leucemia.
- Infecções fúngicas invasivas são mais prevalentes em portadores de doenças hematológicas malignas.
- Isolados de *Candida albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* apresentam resistência a antifúngicos azólicos.
- *Candida parapsilosis* ocasiona surto de endocardite nosocomial.
- *Candida parapsilosis* e *C. tropicalis* estão envolvidas em infecções hospitalares com origem clonal.
- O primer (GACA)₄ diferencia melhor intraespecificamente isolados de *Candida*, podendo ser usado na análise de clonalidade.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALA, E.; LOPES, R.I.; CHAVES, C.N.; HEINS-VACCARI, E.M.; SHIKANAI-YASUDA, M.A.. *Trichosporon asahii* fatal infection in a non-neutropenic patient after orthotopic liver transplantation. **Transplant Infectious Disease**, v. 7, p. 162-165, 2005.

ABELSON, J.A.; MOORE, T.; BRUCKNER, D.; DEVILLE, J.; NIELSEN, K. Frequency of Fungemia in Hospitalized Pediatric Inpatients Over 11 Years at a Tertiary Care Institution. **Pediatrics**, v. 116, p. 61-67, 2005.

ABI-SAID, D.; ANAÏSSIE, E.; UZUN, O.; RAAD, I.; PINZCOWSKI, H.; VARTIVARIAN, S. The epidemiology of hematogenous candidíases caused by different *Candida* species. **Clinical Infectious Diseases**, v. 24, p. 1122-1128, 1997.

ABRAHAM, R.B.; TOREN, A.; ONO, N.; WEINBROUM, A.A.; VARDI, A.; BARZILAY, Z.; PARET, G. Predictors of outcome in the pediatric intensive care units of children with malignancies. **Journal of pediatric hematology/oncology**, v. 24, n. 1, p. 23-27, 2002.

ABUKHABAR, H.; ATTA, S.; BEDEWY, K.; YOUSSEF, A.; MOUSTAFA, A. Ventilator associated pneumonia: The role of typical, atypical bacteria and fungi; comparison between endotracheal aspirate and bronchoalveolar lavage. **Egyptian Journal of Bronchology**, v.1, n. 1, p. 53-61, 2007.

AGIRBASLI, H.; BILGEN, H.; ÖZCAN, S.K.; OTLU, B.; SINIK, G.; ÇERİKÇIOĞLU, N.; DURMAZ, R.; CAN, E.; YALMAN, N.; GEDİKOĞLU, G.; SUGITA, T. Two possible cases of *Trichosporon* infectious in bone-marrow transplanted children: the first case of *T. japonicum* isolated of clinical specimens. **Japanese Journal of Infectious Diseases**. v. 61, p. 130-132, 2008.

AHMAD, S.; AL-MAHMEED, M.; KHAN, Z.U. Characterization of *Trichosporon* species isolated from clinical specimens in Kuwait. **Journal of Medical Microbiology**, v. 54, p. 639-646, 2005.

AKALIN , H.; ENER, B.; KAHVECI, F.; AKÇAGLAR, S.; GÜRCAN, S.; TÖRE, T. Persistence of candiduria in ICU catheterized patients is not linked to adherence and proteolytic activities of *Candida* strains. **Intesive Care Medicine**, v. 30, p. 972-975, 2004.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

AKINS, R.A. An update on antifungal agents and mechanism of resistance in *Candida albicans*. **Medical Mycology**, v. 42, p.285-318, 2005.

ALBERTI, C.; BRUN-BUISSON, C.; BURCHARDI, H.; MARTIN, C.; GOODMAN, S.; ARTIGAS, A.; SICIGNANO, A.; PALAZZO, M.; MORENO, R.; BOULMÉ, R.; LEPAGE, E.; LE GALL, R. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. **Intensive Care Medicine**, v. 28, p.108-121, 2002.

ALEXANDER, W.S.; WALSH, T.J.; FREIFELD, A.G.; PIZZO, P.A. Infectious complications in pediatric cancer patients. In: Pizzo PA, Poplack DG. **Principles and practice of pediatric oncology**, 4^a ed., Philadelphia, Lippincott-Raven, p.1239-1284, 2002.

ALI, R.; OZKALEMKAS, F.; OZCELIK, T.; OZKOCAMAN, V.; OZKAN, A.; BAYRAM, S.; ENER, B.; URSAVAS, A.; OZAL, G.; TUNALI, A. Invasive pulmonary aspergillosis: role of early diagnosis and surgical treatment in patients with acute leukemia. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 5, n. 17, p. 1-6, 2006.

ALIFF, T.B.; MASLAK, P.G.; JURCIC, J.G.; HEANEY, M.L.; CATHCART, K.N.; SEPKOWITZ, K.A.; WEISS, M.A.. Refractory *Aspergillus* Pneumonia in Patients with Acute Leukemia. **Cancer**, v. 97, p. 1025-1032, 2003.

ALMIRANTE, B.; RODRÍGUEZ, D.; CUENCA-ESTRELLA, M.; ALMELA, M.; SANCHEZ, F.; AYATS, J.; ALONSO-TARRES, C.; RODRIGUEZ-TUDELA, J.L.; PAHISSA, A.; THE BARCELONA CANDIDEMIA PROJECT STUDY GROUP. Epidemiology, Risk Factors, and Prognosis of *Candida parapsilosis* Bloodstream Infections: Case-Control Population-Based Surveillance Study of Patients in Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 5, p. 1681-1685, 2006.

ALMIRANTE, B.; RODRÍGUEZ, D.; PARK, B.J.; CUENCA-ESTRELLA, M.; PLANES, A.M.; ALMELA, M.; MENSA, J.; SANCHEZ, F.; AYATS, J.; GIMENEZ, M.; SABALLS, P.; FRIDKIN, S.K.; MORGAN, J.; RODRIGUEZ-TUDELA, J.L.; WARNOCK, D.W.; PAHISSA, A.; THE BARCELONA CANDIDEMIA PROJECT STUDY GROUP. Epidemiology and Predictors of Mortality in Cases of *Candida* Bloodstream Infection: Results from Population-Based Surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 4, p. 1829-1835, 2005.

ALONSO-VALLE, H.; ACHA, O.; GARCIA-PALOMO, J.D.; FARINAS-ÁLVAREZ, C.; FERNANDEZ- MAZARRASA, C.; FARINAS, M.C. Candidemia in terciary care hospital:

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

epidemiology and factors influencing mortality. **European Clinical Microbiology Infectious Diseases**, v. 22, p. 254-257, 2003.

ALP, E.; GÜVEN, M.; YILDIZ, O.; AYGEN, B.; VOSS, A.; DOGANAY, M. Incidence, risk factors and mortality of nosocomial pneumonia in intensive care units: a prospective study. **Annals of Clinical Microbiology Antimicrobials**, v. 3, p. 17, 2004.

ALVAREZ-LERMA, F.; NOLLA-SALAS, J.; LEON, C.; PALOMAR, M.; JORDA, R.; CARRASCO, N.; BOBILLO, F.; EPCAN STUDY GROUP. Candiduria in critically ill patients admitted to intensive care medical units. **Journal of Intensive Care Medicine**, v. 29, p. 1069-1076, 2003.

AMERICAN THORACIC SOCIETY, INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated and healthcare-associated pneumonia. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 171, p. 388-416, 2005.

AMFT, N.; MIADONNA, A.; VIVIANI, M.A.; TEDESCHI, A. Disseminated *Geotrichum capitatum* infection with predominant liver involvement in a patient with non hodgkin's lymphoma. **Haematologica**, v. 81, p. 352-355, 1996.

ANAISSE, E.J.; PENZAK, S.R.; DIGNANI, M.C. The hospital water supply as a source of nosocomial infections: a plea for action. **Archives of Internal Medicine**, v. 162, n.13, p.1483-1492, 2002.

ANDREAS, S.; HEINDL, S.; WATTKY, C.; MOLLER, K.; RUCHEL, R. Diagnosis of pulmonary aspergillosis using optical brighteners. **European Respiratory Journal**, v. 15, n. 2, p. 407-411, 2000.

ANGUS, D.C.; LINDE-ZWIRBLE, W.T.; LIDECKER, J. CLERMONT, G.; CARCILLO, J.; PINSKY, M.R. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome and associated costs of care. **Critical Care Medicine**, v. 29, p.1303-1310, 2001.

AQUINO, V.R.; LUNARDI, L.W.; GOLDANI, L.Z.; BARTH, A.L. Prevalence, susceptibility profile for fluconazole and risk factors for candidemia in a tertiary care hospital in Southern Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.9, p. 411-418, 2005.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

ARAUJO, C.R.; MIRANDA, K.C.; PASSOS, X.S.; SOUZA, L.K.H.; LEMOS, J.A.; KHRAIS, C.H.A.; COSTA, C.R.; SILVA M.R.R.; FERNANDES, O.F.L. Identificação das leveduras do gênero *Candida* por métodos manuais convencionais e pelo método cromógeno Chromagar™ *Candida*. **Revista de Patologia Tropical**, v. 34, n. 1, p. 37-42, 2005.

ASADA, N.; URYU, H. KOSEKI, M.; TAKEUCHI, M.; KOMATSU, M.; MATSUE, K. Successful treatment of breakthrough *Trichosporon asahii* fungemia with voriconazole in a patient with acute myeloid leukemia. **Clinical Infectious Diseases**, v. 43, p.39-41, 2006.

ASCIOGLU, S.; REX, J.H.; DE PAUW, B.; BENNETT, J.E.; BILLE, J.; CROKAERT, F.; DENNING, D.W.; DONNELLY, J.P.; EDWARDS, J.E.; ERJAVEC, Z.; Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. **Clinical Infectious Diseases**, v. 34, p. 7-14, 2002.

ÁSMUNDSDÓTTIR, L.R.; ERLENDSDÓTTIR, H.; HARALDSSON, G.; GUO, H.; XU, J.; GOTTFREDSSON, M. Molecular Epidemiology of Candidemia: Evidence of Clusters of Smoldering Nosocomial Infections. **Clinical Infectious Diseases**, v. 47, p. 17-24, 2008.

AVILA-AGUERO, M. L.; CANAS-COTO, A.; ULLOA-GUTIERREZ, R.; CARO, M. A.; ALFARO, B.; PARIS, M. M. Risk factors for *Candida* infections in a neonatal intensive care unit in Costa Rica, **International Journal of Infectious Disease**, v. 9, p. 90-95, 2005.

BADDLEY, J.H.; PAPPAS, P.G.; SMITH, A.C.; MOSER, S.A. Epidemiology of *Aspergillus terreus* at a University Hospital. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 12, p. 5525-5529, 2003.

BADDLEY, J.W.; SMITH, A.M.; MOSER, S.A.; PAPPAS, P.G. Trends in frequency and susceptibilities of *Candida glabrata* bloodstream isolates at a university hospital. **Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases**, v. 39, p. 199-201, 2001.

BAKIR, M.; CERIKCIOGLU, N.; BARTON, R.; YAGCI, A. Epidemiology of candidemia in a Turkish tertiary care hospital. **APMIS Journal**, v.111, p. 601-610, 2006.

BALAJEE, S.A.; GRIBSKOV, J.L.; HANLEY, E.; NICKLE, D.; MARR, K.A. *Aspergillus lentulus* sp. nov., a new sibling species of *A. fumigatus*. **Eukaryotic Cell**, v. 4, p. 625-632, 2006.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

BALKIS M.M.; LEIDICH S.D.; MUKHERJEE, P.K.; GHANNOUM, M.A. Mechanisms of Fungal Resistance: An Overview. **Drugs**, v. 62, p. 1025-1040. 2002.

BANDERÓ-FILHO, V.C.; RESCHKE, C.R.; HÖRNER, R. Perfil epidemiológico das infecções hospitalares na Unidade de terapia intensiva infantil do Hospital de Caridade e Beneficência de Cachoeira do Sul, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 38, p. 267-270, 2006.

BARCUS, A.L.; BURDETTE, S.D.; HERCHLINE, T.E. Intestinal invasion and disseminated disease associated with *Penicillium chrysogenum*. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 4, n. 21, 2005.

BARKAUSKAS, C.E.; PERFECT, J.R. *Candida* pneumonia: What we know and what we don't. **Current Fungal Infection Reports**, v. 3, 21-31, 2009.

BARNETT, J.A.; PAINE, R.W.; YARROW, D. **Yeasts: Characteristics and Identification**. Cambridge, Cambridge University Press, 2000.

BASSETTI, M.; BISIO, F.; DI BIAGIO, A.; PIERRI, I.; BALOCCO, M.; SORO, O.; CRUCIANI, M.; BASSETTI, D. *Trichosporon asahii* infection treated with caspofungin combined with liposomal amphotericin B. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 54, p. 575-577, 2004.

BASSETTI, M.; RIGHI, E.; COSTA, A.; FASCE, R.; MOLINARI, M.P.; ROSSO, R.; PALLAVICINI, F.B.; VISCOLI, C. Epidemiological trends in nosocomial candidemia in intensive care. **BMC Infectious Diseases**, v. 6, p. 1-6, 2006.

BAYRAMOGLU, G.; SONMEZ, M.; TOSUN, I.; AYDIN, K.; AYDIN, F. Breakthrough *Trichosporon asahii* fungemia in neutropenic patient with acute leukemia while receiving caspofungin. **Infection**, v. 36, p. 68-70, 2008.

BECKER, M.J.; LUGTENBURG, E.J.; CORNELISSEN, J.J.; VAN DER SCHEE, C.; HOOGSTEDEN, H.C.; DE MARIE, S. Galactomannan detection in computerized tomography-based broncho-alveolar lavage fluid and serum in haematological patients at risk for invasive pulmonary aspergillosis. **British Journal of Haematology**, v. 121, p. 448-457, 2003.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

BECK-SAGUÉ, M.; JARVIS, S. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1999. **Journal of Infectious Diseases**, v. 167, p. 1247-1251, 1993.

BERGOLD, A.M., GEORGIADIS, S. New antifungic drugs: A review. **Visão acadêmica**, v. 5, p.159-172, 2004.

BINELLI, C.A.; MORETTI, M.L.; ASSIS, R.S.; SAUAIA, N.; MENEZES, P.R.; RIBEIRO, E.; GEIGER, D.C.P.; MIKAMI, Y.; MIYAJI, M.; OLIVEIRA, M.S.; BARONE, A.A.; LEVIN, A.S. Investigation of the possible association between nosocomial candiduria and candidaemia. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 12, p. 538-543, 2006.

BLOT, S.I.; VANDEWOUDE, K.H.; HOSTE, E.A.; COLARDYN, F.A. Effects of nosocomial candidemia on outcome of critically ill patients. **American Journal of Medicine**, v. 113, p. 480-485, 2002.

BLUM, G.; PERKHOFER, S.; GRIF, K.; MAYR, A.; KROPSHOFER, G.; NACHBAUR, D.; KAFKA-RITSCH, R.; DIERICH, M.P.; LASS-FLÖRL, C. A 1-year *Aspergillus terreus* surveillance study at the University Hospital of Innsbruck: molecular typing of environmental and clinical isolates. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 14, p. 1146-1151, 2008.

BLUMBERG, H.M.; JARVIS, W.R.; SOUCIE, J.M.; EDWARDS, J.E.; PATTERSON, J.E.; PFALLER, M.A.; RANGEL-FRAUSTO, M.S.; RINALDI, M.G.; SAIMAN, L.; WIBLIN, R.T.; WENZEL, R.P.; NATIONAL EPIDEMIOLOGY OF MYCOSES SURVEY(NEMIS) STUDY GROUP. Risk factors for candidal bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: the NEMIS prospective multicenter study. **Clinical Infectious Diseases**, v. 33, p. 177-186, 2001.

BODEY, G.P.; VARTIVARIAN, S. Aspergillosis. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 8, p.413-437, 1989.

BOES, B.; BASHIR, R.; BOES, C.; HAHN, F.; MCCONNELL, J.R.; MCCOMB, R. Central nervous system aspergillosis: Analysis of 26 patients. **Journal of Neuroimaging**, v. 4, p. 123-129, 1994.

BOLARD, J., JOLY, V., YEN, I. P. Mechanism of action of amphotericin B at the cellular level. It's modulation by delivery system. **Journal of Liposome Research**, v. 3, p.409-427, 1993.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

BOLIGNANO, G.; CRISEO, G. Disseminated nosocomial fungal infection by *Aureobasidium pullulans* var. *melanigenum*: a case report. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, p.4483-4485, 2003.

BONASSOLI, L.A.; BERTOLI, M.; SVIDZINSKI, T.I.E. High frequency of *Candida parapsilosis* on the hands of healthy hosts. **Journal of Hospital Infection**, v. 59, p. 159-162, 2005.

BONVENTO, M. Acessos Vasculares e Infecção Relacionada a Cateter. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 19, n. 2, p. 227-230, 2007.

BORMANN, A.M., MORRISON, V.A. Review of the pharmacology and clinical studies of micafungin. **Drug Design Development and Therapy** 3: 295-302, 2009.
BOUZA, E., MUÑOZ, P. Epidemiology of candidemia in intensive care units. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 32, p. 87-91, 2008.

BRUTTO, O.H. Infecciones micóticas del sistema nervioso central. **Revista de Neurologia**, v. 30, p. 5, p. 447-459, 2000.

BURKE, J.P. Infection control - a problem for patient safety. **The New England Journal of Medicine**, v. 348, p.651-656, 2003.

CAILLOT, D.; CASASNOVAS, O.; BERNARD, A.; COUAILLIER, J.F.; DURAND, C.; CUISENIER, B.; SOLARY, E.; PIARD, F.; PETRELLA, T.; BONNIN, A.; COUILLAUT, G.; DUMAS, M.; GUY, H. Improved management of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients using early thoracic computed tomographic scan and surgery. **Journal of Clinical Oncology**, v. 15, p. 139-147, 1997.

CAILLOT, D.; COUAILLIER, J.H.; BERNARD, A.; CASASNOVAS, O.; DENNING, D.W.; MANNONE, L.; LOPEZ, J.; COUILLAUT, G.; PIARD, F.; VAGNER, O.; GUY, H. Increasing Volume and Changing Characteristics of Invasive Pulmonary Aspergillosis on Sequential Thoracic Computed Tomography Scans in Patients With Neutropenia. **Journal of Clinical Oncology**, v. 19, n. 1, p. 253-259, 2001.

CANUTO, M.M., RODERO, F.G. Antifungal drug resistance to azole and polyenes. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 2, p. 550-563, 2002.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

CARRILHO, C.M.D.M.; GRION, C.M.C.; CARVALHO, L.M.; GRION, A.S.; MATSUO, T. Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica em Unidade de Terapia Intensiva Cirúrgica. **Revista Brasileira Terapia Intensiva**, v. 18, n. 1, p. 38-44, 2006.

CARRILLO-ESPER, R.; CARRILLO-CÓRDOVA, J.R.; CARRILLO-CÓRDOVA, L.D. Estudio epidemiológico de la sepsis en unidades de terapia intensiva mexicanas. **Cirugía y Cirujanos**, v. 77, n. 4, p. 301-308, 2009.

CARVALHO, A.M.R.; MELO, L.R.B.; MORAES, V.L.; NEVES, R.P. Invasive *Trichosporon cutaneum* infection in an infant with Wilms' tumor. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 59-60, 2008.

CARVALHO, L.P.; BACELLAR, O.; NEVES, N.A.; CARVALHO, E.M.; JESUS, A.R. Avaliação da resposta imune celular em pacientes com candidíase recorrente. **Revista Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n.5, p. 571-576, 2003.

CARVALHO-PARAHYM, A.M.R.; MELO, L.R.B.; MORAIS, V.L.L.; NEVES, R.P. Candidiasis in pediatric patients with cancer interned in a university hospital. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, p. 321-324, 2009.

CHAGAS-NETO, T.C.; CHAVES, G.M.; COLOMBO, A.L. Update on the genus *Trichosporon*. **Mycopathologia**, v. 166, p. 121-132, 2008.

CHAGAS-NETO, T.C.; CHAVES, G.M.; MELO, A.S.A.; COLOMBO, A.L. Bloodstream Infections Due to *Trichosporon* spp.: Species Distribution, *Trichosporon asahii* Genotypes Determined on the Basis of Ribosomal DNA Intergenic Spacer 1 Sequencing, and Antifungal Susceptibility Testing. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 1074-1081, 2009.

CHAMILOS, G.; LUNA, M.; LEWIS, R.E.; BODEY, G.P.; CHEMALY, R.; TARRAND, J.J.; SAFDAR, A.; RAAD, I.I.; KONTOYIANNIS, D.P. Invasive fungal infections in patients with hematologic malignancies in a tertiary care cancer center: an autopsy study over a 15-year period (1989-2003). **Haematologica**, v. 91, p. 986-989, 2006.

CHANDRASEKAR, P.H.; WEINMANN, A.; SHEARER, C. Autopsy-identified infections among bone marrow transplant recipients: a clinicopathologic study of 56 patients. **Bone Marrow Transplant**, v. 16, n. 5, p. 675-681, 1995.

CHAPMAN, R.L. Prevention and Treatment of *Candida* Infections in Neonates. **Seminars in Perinatology**, v. 31, p. 39-46. 2007.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

CHARLES, P.E.; DALLE, F.; AUBE, H.; DOISE, J.M.; QUENOT, J.P.; AHO, L.S.; CHAVANET, P.; BLETTERY, B. *Candida* spp. Colonization significance in critically ill medical patients: a prospective study. **Journal of Intensive Care Medicine**, v. 31, p. 393-400, 2005.

CHEN, K.Y.; KO, S.C.; HSUEH, P.R.; LUH, K.T.; YANG, P.C. Pulmonary fungal infection: emphasis on microbiological spectra, patient outcome, and prognostic factors. **Chest**, v. 120, n.1, p. 177-184, 2001.

CHENG, M.; YANG, Y.; YAO, T.; LIN, C.; LIU, J.; TANG, R.; YU, K.; FAN, Y.; HSIEH, K.; HO, M.; LO, H. Risk factors for fatal candidemia caused by *Candida albicans* and non-*albicans* *Candida* species. **BMC Infectious Diseases**, v. 5, n. 22, p. 1-5, 2005.

CHENG, Y.; LIN, L.; YOUNG, T.; LIU, C.; CHEN, C.; TSAY, R. Risk factors for candidemia-related mortality at a medical Center in Taiwan. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 39, p. 155-161, 2006.

CHONG, P.P.; CHIENG, D.C.S.; LOW, L.Y.; HAFEEZ, A.; SHAMSUDIN, M.N.; SEOW, H.F.; AND NG, K.P. Recurrent candidaemia in a neonate with Hirschsprung's disease: fluconazole resistance and genetic relatedness of eight *Candida tropicalis* isolates. **Journal of Medical Microbiology**, v. 55, p. 423-428, 2006.

CHOW, J.K.; GOLAN, Y.; RUTHAZER, R.; KARCHMER, A.W.; CARMELI, Y.; LICHTENBERG, D.A.; CHAWLA, V.; YOUNG, J.A.; HADLEY, S. Risk factors for *albicans* and non-*albicans* candidemia in the intensive care unit. **Critical Care Medicine**, v.36, p. 1993-1998, 2008.

CHOWDHARY, A.; AHMAD, S.; KHAN, Z.U.; DOVAL, D.C.; RANDHAWA, H.S. *Trichosporon asahii* as an emerging etiologic agent of disseminated trichosporonosis: A case report and an update. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 22, p. 16-22, 2004.

CHOWDHARY, A.; BECKER, K.; FEGELER, W.; GUGNANI, H.C.; KAPOOR, L.; RANDHAWA, V.S.; MEHTA, G. An outbreak of candidemia due to *Candida tropicalis* in a neonatal intensive care unit. **Mycoses**, v. 46, p. 287-292, 2003.

CLARK, T.A.; SLAVINSKI, S.A.; MORGAN, J.; LOTT, T.; ARTHINGTON-SKAGGS, B.A.; BRANDT, M.E.; WEBB, R.M.; CURRIER, M.; FLOWERS, R.H.; FRIDKIN, S.K.; HAJJEH, R.A. Epidemiologic and molecular characterization of an outbreak of *Candida*

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

parapsilosis bloodstream infections in a community hospital. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, p. 4468-4472, 2004.

COCKERILL, F.R.; SMITH, T.F. Response of the clinical microbiology laboratory to emerging (new) and reemerging infectious diseases. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, p. 2359-2365, 2004.

COLEMAN, D.C.; RINALDI, M.G.; HAYNES, K.A.; REX, J.H.; SUMMERBELL, R.C.; ANAÏSSIE, E.J.; LI, A.; SULLIVAN, D.J. Importance of *Candida* species other than *Candida albicans* as opportunistic pathogens. **Medical Mycology**, v. 36, p.156-165, 1998.

COLOMBO, A.L. **Contribuições para o entendimento da epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. e para sua abordagem terapêutica.** Tese para obtenção do título de livre-docência apresentada a Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, 2003.

COLOMBO, A.L.; GUIMARAES, T. Candidúria: Uma abordagem clínica e terapêutica. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 3, p. 332-337, 2007.

COLOMBO, A.L.; GUIMARAES, T. Epidemiology of hematogenous infections due to *Candida* spp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, p. 599-607, 2003.

COLOMBO, A.L.; GUIMARAES, T.; SILVA, L.R.B.F.; MONFARDINI, L.P.A.; CUNHA, A.K.B.; RADY, P.; ALVES, T.; ROSAS, R.C. Prospective Observational Study of Candidemia in São Paulo, Brazil: Incidence Rate, Epidemiology, and Predictors of Mortality. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 28, n. 5, 2007.

COLOMBO, A.L.; NUCCI, M.; PARCK, B.J.; COGER, S.A.; RINTHINGTON-SKAGGS, B.; DA MATA, D.A.; WARNOCK, D.; MORGAN, J. Epidemiology of candidemia in Brazil: A Nationwide Sentinel Surveillance of candidemia in eleven medical centers. **Journal of Clinical Microbiology**, p. 2816-2833, 2006.

COLOMBO, A.L.; NUCCI, M.; SALOMÃO, R.; BRANCHINI, M.L.; RICHTMANN, R.; DEROSI, A.; WEY, S.B. High rate of non-*albicans* candidemia in Brazilian tertiary care hospitals. **Diagnostic Microbiology & Infectious Disease**, v.34, p. 281-286, 1999.

COLOMBO, A.L.; PERFECT, J.; DINUBILE, M.; BARTIZAL, K.; MOTYL, M.; HICKS, P.; LUPINACCI, R.; SABLE, C.; KARTSONIS, N. Global distribution and outcomes for

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

Candida species causing invasive candidiasis: results from an international randomized double-blind study of caspofungin versus amphotericin B for the treatment of invasive candidiasis. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 22, p. 470-474, 2003.

COMERT, F.; KULAH, C.; AKTAS, E.; EROGLU, O.; OZLU, N. Identification of *Candida* species isolated from patients in intensive care unit and in vitro susceptibility to fluconazole for a 3-year period. **Mycoses**, v. 50, p. 52-57, 2007.

CONSENSO LATINOAMERICANO DE PNEUMONIA DO PACIENTE ADULTO HOSPITALIZADO, San Juan, Porto Rico, 1998.

CORNILLET, A.; CAMUS, C.; NIMUBONA, S.; GANDEMER, V.; TATTEVIN, P.; BELLEGUIC, C.; CHEVRIER, S.; MEUNIER, C.; LEBERT, C.; AUPE'E, M.; CAULET-MAUGENDRE, S.; FAUCHEUX, M.; LELONG, B.; LERAY, E.; GUIGUEN, C.; GANGNEUX, J.P. Comparison of Epidemiological, Clinical, and Biological Features of Invasive Aspergillosis in Neutropenic and Nonneutropenic Patients: A 6-Year Survey. **Clinical Infectious Diseases**, v. 43, p. 577-584, 2006.

CUENCA-ESTRELLA, M.; GOMEZ-LOPEZ, A.; MELLADO, E.; BUITRAGO, M.J.; MONZON, A.; RODRIGUEZ-TUDELA, J.L. Head-to-head comparison of the activities of currently available antifungal agents against 3,378 Spanish clinical isolates of yeasts and filamentous fungi. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, p. 917-921, 2006.

CUENCA-ESTRELLA, M.; RODRÍGUEZ-TUDELA, J.L. Should antifungal treatments be based upon results of antifungal susceptibility testing? **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 19, n. 3, p. 133-138, 2002.

D'ANTONIO, D.; PICCOLOMINI, R.; FIORITONI, G.; IACONE, A.; BETTI, S.; FAZII, P.; MAZZONI, A. Osteomyelitis and intervertebral discitis caused by *Blastoschizomyces capitatus* in a patient with acute leukemia. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 32, p. 224-227, 1994.

DAVID, C.M.N. Infecção em UTI. **Medicina, Ribeirão Preto**, v. 31, p. 337-348, 1998.
DEESOMCHOK, A.; TANPRAWATE, S. A 12-Case Series of *Penicillium marneffei* Pneumonia. **Journal of the Medical Association of Thailand**, v. 89, n. 4, p. 441-447, 2006.

DE HOOG, G.S.; GUARRO, J. **Atlas of Clinical Fungi**. Baarn and Delft: Centraalbureau voor Schimmelcultures and Reus, Universitat Rovira i Virgili, 1995.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

DELISLE, M.S.; WILLIAMSON, D.R.; PERREAULT, M.M.; ALBERT, M.; JIANG, X.; HEYLAND, D.K. The clinical significance of *Candida* colonization of respiratory tract secretions in critically ill patients. **Journal of Critical Care**, v. 23, p. 11-17, 2008.

DELONE, D.R.; GOLDSTEIN, R.A.; PETERMANN, G.; SALAMAT, M.S.; MILES, J.M.; KNECHTLE, S.J.; BROWN, W.D. Disseminated aspergillosis involving the brain: distribution and imaging characteristics. **American Journal of Neuroradiology**, v. 20, p. 597-604, 1999.

DENNING, D.W. Invasive aspergillosis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 26, p. 781-805, 1998.

DE PAUW, B.; WALSH, T.J.; DONNELLY, J.P.; STEVENS, D.A.; EDWARDS, J.E.; CALANDRA, T.; PAPPAS, P.G.; MAERTENS, J.; LORTHOLARY, O.; KAUFFMAN, C.A.; DENNING, D.W.; PATTERSON, T.F.; MASCHMEYER, G.; BILLE, J.; DISMUKES, W.E.; HERBRECHT, R.; HOPE, W.W.; KIBBLER, C.C.; KULLBERG, B.J.; MARR, K.A.; MUÑOZ, P.; ODDS, F.C.; PERFECT, J.R.; RESTREPO, A.; RUHNKE, M.; SEGAL, B.H.; SOBEL, J.D.; SORRELL, T.C.; VISCOLI, C.; WINGARD, J.R.; ZAOUTIS, T.; BENNETT, J.E. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. **Clinical Infectious Diseases**, v. 46, p. 1813-1821, 2008.

DIAZ-GUERRA, T.M.; MARTINEZ-SUAREZ, J.V.; LAGUNA, F.; RODRIGUEZ-TUDELA, J.L. Comparison of Four Molecular Typing Methods for Evaluating Genetic Diversity among *Candida albicans* Isolates from Human Immunodeficiency Virus-Positive Patients with Oral Candidiasis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n.4, p. 856-861, 1997.

DIEKEMA, D.J.; DODGSON, K.L.; SIGURDARDOTTIR, B.; PFALLER, M.A. Rapid detection of antimicrobial-resistant organism carriage: an unmet clinical need. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, p. 2879-2883, 2004.

DIEKEMA, D.J.; MESSER, S.A.; BRUEGGEMANN, A.B.; COFFMAN, S.L.; DOERN, G.V.; HERWALDT, L.A.; PFALLER, M.A. Epidemiology of candidemia: 3 year results from the Emerging Infections and the Epidemiology of Iowa Organisms study. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, p. 1298-1302, 2002.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

DIENER, J.R.C.; COUNTINHO, M.S.S.A.; ZOCCOLI, C.M. Infecções relacionadas ao cateter venoso central em terapia intensiva. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 42, n. 4, p. 205-214, 1996.

DIGNANI, M.C.; SOLOMKIN, J.S.; ANAISSIE, E. *Candida*. In: Anaissie E, McGinnis MR, Pfaller MA. **Medical Mycology**. 1ª ed, Churchill Livingstone, Filadélfia, p. 195-239, 2003.

DIMOPOULOS, G.; KARABINIS, A.; SAMONIS, G.; FALAGAS, M.E. Candidemia in immunocompromised and immunocompetent critically ill patients: a prospective comparative study. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 26, p. 377-384, 2007.

DIMOPOULOS, G.; NTZIORA, F.; RACHIOTIS, G.; ARMAGANIDIS, A.; FALAGAS, M.E. *Candida albicans* Versus Non-*albicans* Intensive Care Unit-Acquired Bloodstream Infections: Differences in Risk Factors and Outcome. **Critical Care and Trauma**, v. 106, n. 2, 2008.

DIMOPOULOS, G.; PIAGNERELLI, M.; BERRE, J.; EDDAFALI, B.; SALMON, I.; VINCENT, J.L. Disseminated aspergillosis in intensive care unit patients: an autopsy study. **Journal of Chemotherapy**, v. 15, n.1, p. 71-75, 2003.

DISALVO, A.F.; FICKLING, A.M.; AJELLO, L. Infection caused by *Penicillium marneffei*: description of first natural infection in man. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 60, p. 259-263, 1973.

DISMUKES, W.E.; PAPPAS, P.G.; SOBEL, J.D. **Clinical Mycology**. United States, Oxford University Press, 159 p., 2003.

DIZBAY, M.; KALKANCI, A.; SEZER, B.E.; AKTAS, F.; AYDOGAN, S.; FIDAN, I.; KUSTIMUR, S.; SUGITA, T. Molecular Investigation of a Fungemia Outbreak Due to *Candida parapsilosis* in an Intensive Care Unit. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 12, n. 5, p. 395-399, 2008.

DUONG, T. Infection due to *Penicillium marneffei*, an emerging pathogen: review of 155 reported cases. **Clinical Infectious Diseases**, v. 23, p. 125-130, 1996.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

EDMOND, M.B.; WALLACE, S.E.; MC CLISH, D.K.; PFALLER, M.A.; JONES, R.N.; WENZEL, R.P. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 29, p. 239-244, 1999.

EGGIMANN, P.; GARBINO, J.; PITTET, D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 3, p. 685-702, 2003.

ELLIS, M. Invasive fungal infections: evolving challenges for diagnosis and therapeutics. **Molecular Immunology**, v. 38, p. 947-957, 2001.

ENGEL, C.; BRUNKHORST, F.M.; BONE, H.G.; BRUNKHORST, R.; GERLACH, H.; GROND, S.; GRUENDLING, M.; HUHLE, G.; JASCHINSKI, U.; JOHN, S.; MAYER, K.; OPPERT, M.; OLTHOFF, D.; QUINTEL, M.; RAGALLER, M.; ROSSAINT, R.; STUBER, F.; WEILER, N.; WELTE, T.; BOGATSCH, H.; HARTOG, C.; LOEFFLER, M.; REINHART, K. Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. **Intensive Care Medicine**, v. 33, p. 606-618, 2007.

ERJAVEC, Z.; VERWEIJ, P.E. Recent progress in the diagnosis of fungal infections in the immunocompromised host. **Drug Resistance Updates**, v. 5, p. 3-10, 2002.

ESPINEL-INGROFF, A., ARTHINGTON-SKAGGS, B., IQBAL, N. Muticenter evaluation of a new disk agar diffusion method for susceptibility testing of filamentous fungi with voriconazole, posaconazole, itraconazole, amphotericin B and caspofungin. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, p.1811-1820. 2007.

ETIENNE, A.; DATRY, A.; GASPAR, N.; MOREL, V.; DELABESSE, E.; LMIMOUNI, B.; VERNANT, J.P.; DHÉDIN, N. Successful treatment of disseminated *Geotrichum capitatum* infection with a combination of caspofungin and voriconazole in an immunocompromised patient. **Mycoses**, v. 51, p. 270-272, 2008.

FAGUNDES-JÚNIOR, A.A.P.; CARVALHO, R.T.; FOCACCIA, R.; FERNANDEZ, J.G.; ARAÚJO, H.B.N.; STRABELLI, T.M.V.; KOPEL, L.; LAGE, S.G. Emergência de infecção por *Trichosporon asahii* em pacientes portadores de insuficiência cardíaca em unidade de terapia intensiva cardiológica. Relato de caso e revisão da literatura. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 20, n. 1, p. 106-109, 2008.

FALAGAS, M.E.; APOSTOLOU, K.E.; PAPPAS, V.D. Attributable mortality of candidaemia: a systematic review of matched cohort and case-control studies. **European Journal of Clinical Microbiology e Infectious Diseases**, v. 25, p. 419-425, 2006.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

FARINA, C.; VAILATI, F.; MANISCO, A.; GOGLIO, A. Fungaemia survey : a 10-year experience in Bergamo, Italy. **Mycoses**, v. 42, p. 543-548, 1999.

FEBRE, N.; SILVA, V.; MEDEIROS, E.A.S.; Wey, S.B.; Colombo, A.L.; Fischman, O. Microbiological characteristics of yeasts isolated from the urinary tract of intensive care unit patients undergoing urinary catheterization. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, p. 1584-1586, 1999.

FERREIRA, B.F.F., RAGAZZINI, L.J., ANDRADE, M.C. Investigação da Sensibilidade ao Fluconazol e Produção de Enzimas Hidrolíticas por *Candida* sp. Isoladas do Trato Respiratório de Pacientes Internados em um Hospital no Sul de Minas Gerais. **Rev Ciências Saúde**, v. 2, p. 1-9, 2012.

FIANCHI, L.; MONTINI, L.; CAIRA, M.; VOSO, M.T.; MAVIGLIA, R.; POSTERARO, B.; PAGANO, L. Combined Voriconazole Plus Caspofungin Therapy for the Treatment of Probable *Geotrichum* Pneumonia in a Leukemia Patient. **Infection**, v. 36, n. 1, p. 65-67, 2008.

FISHER, J.F. Candiduria: when and how to treat it. **Current Infectious Diseases Report**. v. 2, p. 523-530, 2000.

FORREST, L.A.; WEED, H. *Candida* laryngitis appearing as leukoplakia and gerd. **Journal of Voice**, v. 12, p. 91-95, 1998.

FOURNIER, S.; PAVAGEAU, W.; FEUILLHADE, M.; DEPLUS, S.; ZAGDANSKI, A.M.; VEROLA, O.; DOMBRET, H.; MOLINA, J.M.. Use of voriconazole to successfully treat disseminated *Trichosporon asahii* infection in a patient with acute myeloid leukaemia. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 21, p. 892-896, 2002.

FRANÇA, J.C.B.; RIBEIRO, C.E.L.; QUEIROZ-TELLES, F. Candidemia em um hospital terciário brasileiro: incidência, frequência das diferentes espécies, fatores de risco e suscetibilidade aos antifúngicos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 1, p.23-28, 2008.

FRANQUET, T.; MÜLLER, N.L.; GIMENEZ, A.; GUEMBE, P.; DE LA TORRE, J.; BAGUE, S. Spectrum of pulmonary aspergillosis: histologic, clinical, and radiologic findings. **Radiographics**, v. 21, n.4, p. 825-837, 2001.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

FRANQUET, T.; MÜLLER, N.L.; OIKONOMOU, A.; FLINT, J.D. *Aspergillus* infection of the airways: computed tomography and pathologic findings. **Journal of Computer Assisted Tomography**, v. 28, n.1, p. 10-16, 2004.

FROWNELTER, D.; DEAN, E. **Fisioterapia Cardiopulmonar: Princípios e Práticas**. 3. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2004.

FURLANETO-MAIA, L.; SPECIAN, A.F.L.; WILNERZON, D.S.T.; OLIVEIRA, M.T.; FURLANETO, M.C. Estudo da incidência de amostras clínicas do gênero *Candida* isoladas de diversos sítios anatômicos. **Acta Scientiarum Health Science**, v. 29, n. 1, p. 33-37, 2007.

GARCÍA, A.C.; RAYO, A.C.; ROMERO, M.C.M.; ORTIZ, A.V.; REYES, R.M.; GÓMEZ, R.G. Incidencia y pronóstico de candidiasis invasora en pacientes no neutropénicos de terapia intensiva, **Medicina Interna de México**, v. 23, n. 6, p. 481-485, 2007.

GAREY, K.W.; NEUHAUSER, M.M.; BEARDEN, D.T.; CANNON, J.P.; LEWIS, R.E.; GENTRY, L.O.; KONTOYIANNIS, D.P. Evaluation of antifungals in the surgical intensive care unit: a multi-institutional study. **Mycoses**, v. 49, p. 226-231, 2006.

GARNACHO-MONTERO, J.; AMAYA-VILLAR, R.; ORTIZ-LEYBA, C.; LEÓN, C.; ALVAREZ-LERMA, F.; NOLLA-SALAS, J.; IRURETAGOYENA, J.R.; BARCENILLA, F. Isolation of *Aspergillus* spp. from the respiratory tract in critically ill patients: risk factors, clinical presentation and outcome. **Critical Care**, v. 9, p. 191-199, 2005.

GARNICA, M.; NUCCI, M. Epidemiologia, tratamento e profilaxia das infecções na leucemia linfóide crônica. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**, v. 27, n. 4, p. 290-300. 2005.

GHIASIAN, S.A.; MAGHSOOD, A.H.; MIRHENDI, S.H. Disseminated, fatal *Trichosporon asahii* infection in a bone marrow transplant recipient. **The Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 39, p. 426-429, 2006.

GIAMMANCO, G.M.; LOPES, M.M.; COIMBRA, R.S.; PIGNATO, S.; GRIMONT, P.A.D.; GRIMONT, F.; FREITAS, G.; GIAMMANCO, G. Value of morphotyping for the characterization of *Candida albicans* clinical isolates. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 5, p. 483-490, 2005.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

GIRMENIA, C.; PAGANO, L.; MARTINO, B.; DOMENICO, D.; FANCI, R.; SPECCHIA, G.; MELILLO, L.; BUELLI, M.; PIZZARELLI, G.; VENDITTI, M.; MARTINO, P. Invasive infections caused by *Trichosporon* species and *Geotrichum capitatum* in patients with hematological malignancies: a retrospective multicenter study from Italy and review of the literature. **Journal of Clinical Microbiology**, v.43, p. 1818-1828, 2005.

GIRMENIA, C.; PIZZARELLI, G.; CRISTINI, F.; BARCHIESI, F.; SPREGHINI, E.; SCALISE, G.; MARTINO, P. *Candida guilliermondii* fungemia in patients with hematologic malignancies. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, p.2458-2464, 2006.

GIRMENIA, C.; PIZZARELLI, G.; D'ANTONIO, D.; CRISTINI, F.; MARTINO, P. In Vitro Susceptibility Testing of *Geotrichum capitatum*: Comparison of the E-Test, Disk Diffusion, and Sensititre Colorimetric Methods with the NCCLS M27-A2 Broth Microdilution Reference Method. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 47, p. 3985-3988, n. 12, 2003.

GROSS, J.W.; KAN, V.L. *Trichosporon asahii* infection in an advanced AIDS patient and literature review. **AIDS**, v. 22, p. 793-795, 2008.

GODOY, P.; TIRABOSCHI, I.N.; SEVERO, L.C.; BUSTAMANTE, B.; CALVO, B.; DA MATTA, D.A.; COLOMBO, A.L. Species distribution and antifungal susceptibility profile of *Candida* spp. bloodstream isolates from Latin American hospitals. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 401-405, 2003.

GOERING, R.V. Molecular strain typing for the clinical laboratory: current application and future direction. **Clinical Microbiology and Newsletter**, v. 22, p. 169-173, 2000.

GOLD, N., STOUT, H.A., PAGANO, I.F.; DONOVICK, R. Amphotericin A and B, antifungal antibiotics produced by a streptomycete. I. *In vivo* studies. **Antibiotics Annual**, p. 579-586, 1956.

GOLDANI, L.Z.; MARIO, P.S. *Candida tropicalis* fungemia in a tertiary care hospital. **Journal of Infection**, v. 46, p. 150-160, 2003.

GOODMAN, D.; PAMER, E.; JAKUBOWSKI, A.; MORRIS, C.; SEPKOWITZ, K. Breakthrough Trichosporonosis in a Bone Marrow Transplant Recipient Receiving Caspofungin Acetate. **Clinical Infectious Diseases**, v. 35, p. 35-36, 2002.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

GUDLAUGSOON, O.; GILLESPIE, S.; LEE, K.; VANDE BERG, J.; HU, J.; MESSER, S.; HERWALDT, L.; PFALLER, M.; DIEKEMA, D. Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited. **Clinical Infectious Diseases**, v. 37, p. 1172-1177, 2003.

GUEHO, E.; L. IMPROVISI, G.S.; DE HOOG, G.S.; DUPONT, B. *Trichosporon* on humans: a practical account. **Mycoses**, v. 37, p. 3-10, 1994.

GUERY, B.T.; ARENDRUP, M.C.; AUZINGER, G.; AZOULAY, E.; SA', M.B.; JOHNSON, E.M.; MÜLLER, E.; PUTENSEN, C.; ROTSTEIN, C.; SGANGA, G.; VENDITTI, M.; CRESPO, R.Z.; KULLBERG, B.J. Management of invasive candidiases and candidemia in adult non-neutropenic intensive care unit patients: Part II. Treatment. **Journal of Intensive Care Medicine**, v. 35, p. 206-214, 2009.

HA, J.F., ITALIANO, C.M., HEALTH, C.H.. Candidemia and invasive candidiasis: a review of the literature for the burns surgeon. **Burns**, v. 37, p. 181-195, 2011.

HACHEM, R.; HANNA, H.; KONTOYIANNIS, D.; JIANG, Y.; RAAD, I. The Changing Epidemiology of Invasive Candidiasis *Candida glabrata* and *Candida krusei* as the Leading Causes of Candidemia in Hematologic Malignancy. **Cancer**, v. 112, n. 11, 2008.

HACHEM, R.; KONTOYIANNIS, D.; BOKTOUR, M.; AFIF, C.; COOKSLEY, C.; BODEY, G.P.; CHATZINIKOLAOU, I.; PEREGO, C.; KANTARJIAN, H.M.; RAAD, I.I. *Aspergillus terreus* an emerging amphotericin B-resistant opportunistic mold in patients with hematologic malignancies. **Cancer**, v. 101, p. 1594-1600, 2004.

HAGERTY, J.A.; ORTIZ, J.; REICH, D.; MANZARBEITIA, C. Fungal infections in solid organ transplant patients. **The Surgical Infection (Larchmt)**, v. 4, p. 263-271, 2003.

HAJJEH, R.A.; SOFAIR, A.N.; HARRISON, L.H.; LYON, G.M.; ARTHINGTON-SKAGGS, B.A.; MIRZA, S.A.; PHELAN, M.; MORGAN, J.; LEE-YANG, W.; CIBLAK, M.A.; BENJAMIN, L.E.; SANZA, L.T.; HUIE, S.; YEO, S.F.; BRANDT, M.E.; WARNOCK, D.W. Incidence of bloodstream infections due to *Candida* species and in vitro susceptibilities of isolates collected from 1998 to 2000 in a population-based active surveillance program. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, p.1519-1527, 2004.

HAKKI M, STAAB JF, MARR KA. Emergence of a *Candida krusei* isolate with reduced susceptibility to caspofungin during therapy. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, p. 2522-2524, 2006.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

HALL, W.J. *Penicillium* endocarditis following open heart surgery and prosthetic valve insertion. **American Heart Journal**, v. 87, n. 4, p.501-506, 1974.

HALLIDAY, C.; HOILE, R.; SORREL, T.; JAMES, G.; YADAV, S.; SHAW, P.; BLEAKLEY, M.; BRADSTOCK, K.; CHEN, S. Role of prospective screening of blood for invasive aspergillosis by polymerase chain reaction in febrile neutropenic recipients of haematopoietic stem cell transplants and patients with acute leukaemia. **Brazilian Journal of Haematology**, v. 132, n.4, p. 478-486, 2005.

HANH, R.C.; PRADO, K.S.; DIAS, L.B.; BRAGA, H.R.; REZENDE, S.B.; MONTEIRO, C.N.; SILVA, P.H. Candidíase em um hospital universitário Mato-grossense: Incidência, frequência das diferentes espécies e susceptibilidade aos antifúngicos. **Prática Hospitalar**, n. 60, p. 69-72, 2008.

HAUTALA, T.; IKÄHEIMO, I.; HUSU, H.; SÄILY, M.; SIITONEN, T.; KOISTINEN, P. VUOPIO-VARKILA, J.; KOSKELA, M.; KUJALA, P. A cluster of *Candida krusei* infections in a haematological unit. **BMC Infectious Diseases**, v. 7, p. 97, 2007.

HAZEN, K.C. New and emerging yeast pathogens. **Clinical Microbiology Review**, v. 8, p. 462-478, 1995.

HAZEN, K.C., HOWELL, S.A. **Candida, Cryptococcus and other yeast of medical importance**. Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Landy, M.L., Pffaler, M.A. In: Clinical Microbiology. Washington, DC: ASM Press. p. 1762-1788, 2007.

HEINIC, G.S.; GREENSPAN, D.; MACPHAIL, L.A.; GREENSPAN, J.S. Oral *Geotrichum candidum* infection associated with HIV infection. A case report. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v. 73, n.6, p. 726-728, 1992.

HELMI, M.; LOVE, R.B.; WELTER, D.; CORNWELL, R.D.; MEYER, K.C. *Aspergillus* infection in lung transplant recipients with cystic fibrosis: risk factors and outcomes comparison to other types of transplant recipients. **Chest**, v. 123, n. 3, p. 800-808, 2003.

HENDERSON, V.J.; HIRVELA, E.R. Emerging and reemerging microbial threats. Nosocomial fungal infections. **Archives of Surgery**, v. 131, n.3, p. 330-337, 1996.

HENRICH, T.J.; MARTY, F.M.; MILNER JR D.A.; THORNER, A.R. Disseminated *Geotrichum candidum* infection in a patient with relapsed acute myelogenous leukemia

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

following allogeneic stem cell transplantation and review of the literature. **Transplant Infectious Disease**, v. 11, p. 458-462, 2009.

HIBBERD, P.L. Fungal diseases. In Shakir RA, Newman PK, Poser CM, **Tropical neurology**, London: WB Saunders, p. 195-209, 1996.

HINRICHSSEN, S.L.; FALCÃO, E.; VILELLA, T.A.S.; COLOMBO, A.L.; NUCCI, M.; MOURA, L.; RÊGO, L.; LIRA, C.; ALMEIDA, L. Candidemia em hospital terciário do nordeste do Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 4, p. 394-398, 2008.

HSUEH, P.R.; TENG, L.J.; HUNG, C.C.; HSU, J.H.; YANG, P.C.; HO, S.W.; LUH, K.T.. Molecular evidence for strain dissemination of *Penicillium marneffe*: An emerging pathogen in Taiwan. **Journal of Infectious Diseases**, v. 181, p. 1706-1712, 2000.

HUGHES, W.T.; FLYNN, P.M. **Candidiasis**. In: FEIGIN, D.; CHERRY, J.D.; DEMMLER, G.J.; KAPLAN, S.L. Textbook of pediatric infectious diseases. 14^a ed, Philadelphia, WB Saunders Co., p. 2569-2579, 2004.

HUMHREYS, H. Does molecular typing make any contribution to the care of patients with infection? **Clinical Microbiology and Infection**, v. 10, p. 269-271, 2004.

HSU, J.H.; LEE, M.S.; DAI, Z.K.; WU, J.R.; CHIOU, S.S. Life-threatening airway obstruction caused by penicilliosis in a leukemic patient. **Annals of Hematology**, v. 88, p. 393-395, 2009.

IMWIDTHAYA, P.; THIPSUVAN, K.; CHAIPRASERT, A.; DANCHAIWITTRA, S.; SUTTHENT; R.; JEARANAISILAVONG, J. *Penicillium marneffe*: types and drug susceptibility. **Mycopathologia**, v. 149, p. 109-115, 2001.

IWEN, P.C.; MARK, E.R.; LANGNAS, A.L.; REED, E.C.; HINRICHS, S.H. Invasive Pulmonary Aspergillosis Due to *Aspergillus terreus*: 12-Year Experience and Review of the Literature. **Clinical Infectious Diseases**, v. 26, p. 1092-1097, 1998.

IWEN, P.C.; MARK, E.R.; LANGNAS, A.L.; REED, E.C.; HINRICHS, S.H. Invasive Pulmonary Aspergillosis Due to *Aspergillus terreus*: 12-Year Experience and Review of the Literature. **Clinical Infectious Diseases**, v. 26, p. 1092-1097, 1998.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

IWEN, P.C.; KELLY, D.M.; REED, E.C.; HINRICHS, S.H. Invasive infection due to *Candida krusei* in immunocompromised patients not treated with fluconazole. **Clinical Infectious Diseases**, v. 20, p. 342-347, 1995.

JANTUNEN, E.; VOLIN, L.; SALONEN, O.; PIILONEN, A.; PARKKALI, T.; ANTTILA, V-J.; PAETAU, A.; RUUTU, T. Central nervous system aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients. **Bone Marrow Transplant**, v. 31, p. 191-196, 2003.

JIANG, Y.; LI, J.Y.; LI, M.; ZHOU, L.; PENG, F.; WEI, Y.Q. Clinical analysis of nosocomial pulmonary fungal infection in patients with cancer. **Ai Zheng**, v. 23, p. 1707-1709, 2004.

KALSI, J.; ARYA, M.; WILSON, P.; MUNDY, A. Hospital-acquired urinary tract infection. **Internacional Journal of Clinical Practice**, v. 57, p.388-91, 2003.

KANTARDJIEV, T.; KUZMANOVA, A.; BAIKUSHEV, R.; ZISOVA, L.; VELINOV, T. Isolation and identification of *Geotrichum candidum* as an etiologic agent of geotrichosis in Bulgaria. **Folia Medica**, v. 40, n.4, p. 42-44, 1998.

KAO, A.S.; BRANDT, M.E.; PRUITT, W.R.; CONN, L.A.; PERKINS, B.A.; STEPHENS, D.S.; BAUGHMAN, W.S.; REINGOLD, A.L.; ROTHROCK, G.A.; PFALLER, M.A.; PINNER, R.W.; HAJJEH, R.A. The epidemiology of candidemia in two United States cities: results of a population-based active surveillance. **Clinical Infectious Diseases**, v. 29, p. 1164-1170, 1999.

KARLOWSKY, J.A.; ZHANEL, G.G.; KLYM, K.A.; HOBAN, D.J.; KABANI, A.M. Candidemia in a Canadian tertiary care hospital from 1976 to 1996. **Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases**, v. 28, p.5-9, 1997.

KARLSSON, S.; VARPULA, M.; RUOKONEN, E.; PETTILÄ, V.; PARVIAINEN, I.; ALA-KOKKO, T.I.; KOLHO, E.; RINTALA, E.M. Incidence, treatment, and outcome of severe sepsis in ICU-treated adults in Finland: the Finnsepsis study. **Intensive Care Medicine**, v. 33, p. 435-443, 2007.

KARUNAKARAN, R.; RAJA, N.S.; NG, K.P.; NAVARATNAM, P. Etiology of blood culture isolates among patients in a multidisciplinary teaching hospital in Kuala Lumpur. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 40, p. 432-437, 2007.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

KASSAMALI, H.; ANAISSIE, E.; RO, J.; ROLSTON, K.; KANTARJIAN, H.; FAINSTEIN, V.; BODEY, G.P. Disseminated *Geotrichum candidum* Infection. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 25, n. 9, p. 1782-1783, 1987.

KAUFFMAN, C.A. Candiduria. **Clinical Infectious Diseases**, v. 41, p. S371-376, 2005.
KAUFFMAN, C.A.; VAZQUEZ, J.A. ; SOBEL, J.D.; GALLIS, H.A.; MCKINSEY, D.S.; KARCHMER, A.W.; SUGAR, A.M.; SHARKEY, P.K. ; WISE, G.J.; MANGI, R.; MOSHER, A.; LEE, J.Y.; DISMUKES, W.E. Prospective multicenter surveillance study of funguria in hospitalized patients. The National Institute for Allergy and Infectious Diseases (NIAID) Mycoses Study Group. **Clinical Infectious Diseases**, v. 30, p. 14-18, 2000.

KAUFFMAN, C.A.; VAZQUEZ, J.A.; SOBEL, J.D. Prospective multicenter surveillance study of funguria in hospitalized patients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 30, p.14-18, 2000.

KIBBLER, C.C.; SEATON, S.; BARNES, R.A.; GRANSDEN, W.R.; HOLLIMAN, R.E.; JOHNSON, E.M.; PERRY, J.D.; SULLIVAN, D.J.; WILSON, J.A. Management and outcome of bloodstream infections due to *Candida* species in England and Wales. **Journal of Hospital Infection**, v. 54, p. 18-24, 2003.

KLASTERSKY, J.; AOUN, M. Opportunistic infections in patients with câncer. **Annals of Oncology**, v. 4, p. 329-335, 2004.

KLEINSCHMIDT-DEMASTERS, B.K. Central nervous system aspergillosis: a 20-year retrospective series. **Human Pathology**, v. 33, p. 116-124, 2002.

KLEVENS, R.M.; EDWARDS, J.R.; RICHARDS JR, C.L.; HORAN, T.C.; GAYNES, R.P.; POLLOCK, D.A.; CARDO, D.M. Estimating health care-associated infections and deaths in U.S. hospitals. **Public Health Reports**, v. 122, p. 160- 166, 2002.

KO, S.C.; CHEN, K.Y.; HSUEH, .PR.; LUH, K.T.; YANG, P.C. Fungal empyema thoracis: an emerging clinical entity. **Chest**, v. 117, p. 1672-1678, 2000.

KOJIC, E.M.; DAROUICHE, R.O. *Candida* Infections of Medical Devices. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 17, n. 2, p. 255-267, 2004.

KOLLEF, M.H. What is ventilator-associated pneumonia and why is it important? **Respiratory Care**, v. 50, p.714-721, 2005.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

KONTOYIANNIS, D.P.; REDDY, B.T.; TORRES, H.A.; LUNA, M.; LEWIS, R.E.; TARRAND, J.; BODEY, G.P.; RAAD, I.I. Pulmonary candidiasis in patients with cancer: an autopsy study. **Clinical Infectious Diseases**, v. 34, n.3, p. 400-403, 2002.

KONTOYIANNIS, D.P.; TORRES, H.A.; CHAGUA, M.; HACHEM, R.; TARRAND, J.J.; BODEY, G.P.; RAAD, I.I. Trichosporonosis in a tertiary care cancer center: risk factors, changing spectrum, and determinants of outcome. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 36, p. 564-569, 2004.

KONTOYIANNIS, D.P.; VAZIRI, I.; HANNA, H.A.; BOKTOUR, M.; THORNBLY, J.; HACHEM, R.; BODEY, G.P.; RAAD, I.I. Risk factors for *Candida tropicalis* fungemia in patients with cancer. **Clinical Infectious Diseases**, v. 33, p. 1676-81, 2001.

KRCMERY, V.; BARNES, A.J. Non-albicans *Candida* spp. Causing fungemia: pathogenicity and antifungal resistance. **Journal of Hospital Infection**, v. 50, p. 243-260, 2002.

KUMAR, A.; ROBERTS, D.; WOOD, K.E.; LIGHT, B.; PARRILLO, J.E.; SHARMA, S.; SUPPES, R.; FEINSTEIN, D.; ZANOTTI, S.; TAIBERG, L.; GURKA, D.; KUMAR, A.; CHEANG, M. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. **Critical Care Medicine**, v. 34, p. 1589-1596, 2006.

KUMAR, C.P.G.; SUNDARARAJAN, T.; MENON, T.; VENKATADESIKALU, M. Candidosis in children with onco-hematological diseases in Chennai, South India. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, v. 58, p. 218-221, 2005.

KURITA, H.; SHIOKAWA, Y.; FURUYA, K. Parasellar *Aspergillus* granuloma extending from the sphenoid sinus: Report of two cases. **Surgical Neurology**, v. 44, p. 489-494, 1995.

LASS-FLÖRL, C.; GRIF, K.; KONTOYIANNIS, D.P. Molecular typing of *Aspergillus terreus* isolates in Houston, Texas, and Innsbruck, Austria: evidence of great genetic diversity. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, p. 2686-2690, 2007.

LASS-FLÖRL, C.; RATH, P.M.; NIEDERWIESER, D.; KOFLER, G.; WÜRZNER, R.; KREZY, A.; DIERICH, M.P. *Aspergillus terreus* infections in haematological malignancies: molecular epidemiology suggests association with in-hospital plants. **Journal of Hospital Infection**, v. 46, p. 31-35, 2000.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

LATGE, J.P. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. **Clinical Microbiology Review**, v. 12, n. 2, p.310-350, 1999.

LATGE, J.P. The pathobiology of *Aspergillus fumigatus*. **Trends in Microbiology**, v. 9, p. 382-389, 2001.

LATOUCHE, G.N.; DANIEL, H.M.; LEE, O.C.; MITCHELL, T.G.; SORRELL, T.C.; MEYER, W. Comparison of Use of Phenotypic and Genotypic Characteristics for Identification of Species of the Anamorph Genus *Candida* and Related Teleomorph Yeast Species. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n. 12, p. 3171-3180, 1997.

LEÃO, R.C.; MARCHIORI, E.; RODRIGUES, R.; SOUZA JR, A.S.; GASPARETTO, E.O.; ESCUISSATO, D.L. Tomografia computadorizada na avaliação da aspergilose pulmonar angioinvasiva em pacientes com leucemia aguda. **Radiologia Brasileira**, v. 39, p. 327-331, 2006.

LEON, C.; RUIZ-SANTANA, S.; SAAVEDRA, P.; ALMIRANTE, B.; NOLLA-SALAS, J.; ALVAREZ-LERMA, F.; GARNACHO-MONTERO, J.; LEÓN, M.A.; EPCAN STUDY GROUP. A bedside scoring system ("Candida score") for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with *Candida* colonization. **Critical Care Medicine**, v. 34, p. 730-737, 2006.

LEVY, I. Emergence of *Candida parapsilosis* as the predominant species causing candidemia in children. **Clinical Infectious Diseases**, v. 26, p. 1086-1088, 1998.

LIN, S.J.; SCHRANZ, J.; TEUTSCH, S.M. Aspergillosis case-fatality rate: systematic review of the literature. **Clinical Infectious Diseases**, v. 32, p. 358-366, 2001.

LIN, S.; PRANIKOFF, T.; SMITH, S.F.; BRANDT, M.E.; GILBERT, K.; PALAVECINO, E.L.; SHETTY, A.K. Central venous catheter infection associated with *Pseudozyma aphidis* in a child with short gut syndrome. **Journal of Medical Microbiology**, v. 57, p. 516-518, 2008.

LIRATSOPULOS, G.; ELLIS, M.; NERRINGER, R.; DENNING, D.W. Invasive Infection due to *Penicillium* Species other than *P. marneffe*. **Journal of Infection**, v. 45, p. 184-207, 2002.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

LISBOA, T.; FARIA, M.; HOHER, J.A.; BORGES, L.A.A.; GÓMEZ, J.; SCHIFELBAIN, L.; DIAS, F.S.; LISBOA, J.; FRIEDMAN, G. Prevalência de Infecção Nosocomial em Unidades de Terapia Intensiva do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 19, p. 414-420, 2007.

LIU, C.Y.; HUANG, L.J.; WANG, W.S.; CHEN, T.L.; YEN, C.C.; YANG, M.H.; HSIAO, L.T.; LIU, C.Y.; CHEN, P.M.; CHIOU, T.J. Candidemia in cancer patients: Impact of early removal of non-tunneled central venous catheters on outcome. **Journal of Infection**, v. 58, p. 154-160, 2009.

LOBUGLIO, K.F.; TAYLOR, J. Phylogeny and PCR identification of the human pathogenic fungus *Penicillium marneffei*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, p. 85-89, 1995.

LUNDSTRON, T.; SOBEL, J. Nosocomial candiduria: A review. **Clinical Infectious Diseases**, v. 32, p. 1602-1607, 2001.

MACDONALD, L.; BAKER, C.; CHENOWETH, C. Risk factors for candidemia in a children's hospital. **Clinical Infectious Diseases**, v. 26, p. 642-645, 1998.

MACPHAIL, G.L.; TAYLOR, G.D.; BUCHANAN-CHELL, M.; ROSS, C.; WILSON, S.; KUREISHI, A. Epidemiology, treatment and outcome of candidemia: a five-year review at three Can hospitals. **Mycoses**, v. 45, p.141-145, 2002.

MAERTENS, J.; THEUNISSEN, K.; VERHOF, G.; VERSCHAKELLEN, J.; LAGROU, K.; VERBEKEN, E.; WILMER, A.; VERHAEGEN, J.; BOOGAERTS, M.; VAN ELDERE, J. Galactomannan and computed tomography-based preemptive antifungal therapy in neutropenic patients at high risk for invasive fungal infection: a prospective feasibility study. **Clinical Infectious Diseases**, v. 41, p. 1242-1250, 2005.

MAERTENS, J.; VERHAEGEN, J.; DEMUYNCK, H.; BROCK, P.; VERHOEF, G.; VANDENBERGHE, P.; ELDERE, J.V.; VERBIST, L.; BOOGAERTS, M. Autopsy-controlled prospective evaluation of serial screening for circulating galactomannan by a sandwich enzyme linked immunosorbent assay for hematological patients at risk for invasive Aspergillosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, p.10, p. 3223-3228, 1999.

MAERTENS, J.; VERHAEGEN, J.; LAGROU, K.; VAN ELDERE, J.; BOOGAERTS, M. Screening for circulating galactomannan as a noninvasive diagnostic tool for invasive

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

aspergillosis in prolonged neutropenic patients and stem cell transplantation recipients: a prospective validation. **Blood**, v. 97, n. 6, p.1604-1610, 2001.

MAERTENS, J.; VREBOS, M.; BOOGAERTS, M. Assessing risk factors for systemic fungal infections. **European Journal of Cancer Care**, v.10, n.1, p. 56-62, 2001.

MAGILL, S.S.; SWOBODA, S.; JOHNSON, E.; MERZ, W.; PELZ, R.; LIPSETT, P.; HENDRIX, C. The association between anatomic site of *Candida* colonization, invasive candidiasis, and mortality in critically ill surgical patients. **Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases**, v. 55, p. 293-301, 2006.

MARCHETTI, O.; BILLE, J.; FLUCKIGER, U.; EGGIMANN, P.; RUEF, C.; GARBINO, J.; CALANDRA, T.; GLAUSER, M.P.; TAUBER, M.G.; PITTET, D. Epidemiology of candidemia in Swiss tertiary care hospitals: secular trends, 1991-2000. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, p. 311-320, 2004.

MARCO, F.; LOCKHART, S.R.; PFALLER, M.A.; PUJOL, C.; RANGEL- FRAUSTO, M.S.; WIBLIN, T.; BLUMBERG, H.M.; EDWARDS, J.E.; JARVIS, W.; SAIMAN, L.; PATTERSON, J.E.; RINALDI, M.G.; WENZEL, R.P.; THE NEMIS STUDY GROUP; SOLL, D.R. Elucidating the origins of nosocomial infections with *Candida albicans* by DNA fingerprinting with the complex probe Ca3. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, p. 2817-2828, 1999.

MAROL, S.; YÜCESOY, M. Molecular epidemiology of *Candida* species isolated from clinical specimens of intensive care unit patients. **Mycoses**, v. 51, p. 40-49, 2007.

MARR, K.A.; CARTER, R.A.; CRIPPA, F.; WALD, A.; COREY, L. Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 34, p. 909-917, 2002.

MARR, K.A.; SEIDEL, K.; WHITE, T.C.; BOWDEN, R.A. Candidemia in allogeneic blood and marrow transplant recipients: evolution of risk factors after the adoption of prophylactic fluconazole. **Journal of Infectious Diseases**, v. 181, p. 309-316, 2000.

MARTIN, G.S.; MANNINO, D.M.; EATON, S.; MOSS, M. The epidemiology of sepsis in the united states from 1979 through 2000. **The New England Journal of Medicine**, v. 348, p. 1546-1554, 2003.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

MARTINO, R.; SALAVERT, M.; PARODY, R.; TOMAS, J.F.; DE LA CAMARA, R.; VAZQUEZ, L.; JARQUE, I.; PRIETO, E.; SASTRE, J.L.; GADEA, I.; PEMAN, J.; SIERRA, J: *Geotrichum capitatum* infection in patients with leukemia: report of 26 cases. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, p. 335-341, 2004.

MARTINO, R.; SUBIRA, M. Invasive fungal infections in hematology: new trends. **Annals of Hematology**, v. 81, p. 233-243, 2002.

MARTINO, P.; VENDITTI, M.; MICOZZI, A.; MORACE, G.; POLONELLI, L.; MANTOVANI, M.P.; PETTI, M.C.; BURGIO, V.L.; SANTINI, C.; SERRA, P.; MANDELLI, F. *Blastoschizomyces capitatus*: an emerging cause of invasive fungal disease in leukemia patients. **Reviews of Infectious Diseases**, v. 12, p. 570-582, 1990.

MARTINS-DINIZ, J.N.; SILVA, R.A.; MIRANDA, E.T.; MENDES-GIANNINI, M.J. Monitoring of airborne fungus and yeast species in a hospital unit. **Revista de Saúde Pública**, v. 39, p. 398-405, 2005.

MARTY, F.M.; BAROUCH, D.H.; COAKLEY, E.P.; BADEN, L.R. Disseminated trichosporonosis caused by *Trichosporon loubieri*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, p. 5317-5320, 2003.

MATSUE, K.; URYU, H.; KOSEKI, M.; ASADA, N.; TAKEUCHI, M. Breakthrough trichosporonosis in patients with hematologic malignancies receiving micafungin. **Clinical Infectious Diseases**, v. 42, p.753-757, 2006.

MEERSSMAN, W.; LAGROU, K.; MAERTENS, J.; VAN WIJNGAERDEN, E. Invasive aspergillosis in the intensive care unit. **Clinical Infectious Diseases**, v. 45, p. 205-215, 2007.

MEERSSEMAN, W.; VANDECASTEELE, S.J.; WILMER, A.; VERBEKEN, E.; PEETERMANS, W.E.; WIJNGAERDEN, E.V. Invasive aspergillosis in critically ill patients without malignancy. **American Journal of Respiratory Critical Care Medicine**, v. 170, p. 621-625, 2004.

MELLADO, E.; CUENCA-ESTRELLA, M.; RODRIGUEZ-TUDELA, J.L. Importancia clínica de los mecanismos de resistencia de los hongos filamentosos a los antifúngicos. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 20, p. 523-530. 2002.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

MERMEL, L.A.; FARR, B.M.; SHERERTZ, R.J.; RAAD, I.I.; O'GRADY, N.; HARRIS, J.S.; CRAVEN, D.E. Guidelines for the management of intravascular catheter-related infections. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 22, p. 222-242, 2001.

MICHALOPOULOS, A.S.; GEROULANOS, S.; MENTZELOPOLOUS, S.D. Determinants of candidemia and candidemia-related deaths in cardiothoracic ICU patients. **Chest**, v. 124, p. 2244-2255, 2003.

MONTIEL, H.V. Patógenos emergentes en micosis cutáneas y sistémicas. **Dermatología Venezolana**, v. 42, n. 2, p. 4-18, 2004.

MORETTI-BRANCHINI, M.L.; FUKUSHIMA, K.; SCHREIBER, A.Z.; NISHIMURA, D.; PAPAIOORDANOU, P.M.; TRABASSO, P.; TANAKA, R.; MIYAJI, M. *Trichosporon* species in bone marrow transplanted patients. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 39, p. 161-164, 2001.

MORGAN, J.; MELTZER, M.; PLIKAYTIS, B.; SOFAIR, A.N.; HUIE-WHITE, S.; WILCOX, S.; HARRISON, L.H.; SEABERG, E.C.; HAJJEH, R.A.; TEUTSCH, S.M. Excess mortality, hospital stay, and cost due to candidemia: a case-control study using data from population-based candidemia surveillance. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 26, p. 540-547, 2005.

MORGON, F.H.; GUIRARDELLO, E.B. Validação da escala de razão das necessidades de familiares em unidade de terapia intensiva. **Revista Latino Americana de Enfermagem**, v. 12, p. 198-203, 2004.

MOYLETT, E.H.; CHINEN, J.; SHEARER, W.T. *Trichosporon pullulans* infection in 2 patients with chronic granulomatous disease: an emerging pathogen and review of the literature. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 6, p. 1370-1374, 2003.

NAKAGAWA, T.; NAKASHIMA, K.; TAKAIWA, T.; NEGAYAMA, K. *Trichosporon cutaneum* (*Trichosporon asahii*) infection mimicking hand eczema in a patient with leukemia. **Journal of The American Academy of Dermatology**, v. 42, p. 929-931, 2000.

NEVES, R.P.; CAVALCANTI, M.A.Q.; CHAVES, G.M.; MAGALHÃES, O.M.C. *Trichosporon pullulans* (Lidner) diddens & lodder isolated from the oral cavity of AIDS patient. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.33, n. 3, 2002.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

NG, K.P.; SAW, T.L., NA, S.L.; HOO, T.S. Systemic *Candida* infection in University Hospital 1997-1999: the distribution of *Candida* biotypes and antifungal susceptibility patterns. **Mycopathologia**, v. 149, p. 141-146, 2001.

NG, K.P.; SOO-HOO, T.S.; KOH, M.T.; KWAN, P.W. Disseminated *Geotrichum* infection. **The Medical Journal of Malaysia**, v. 49, n. 4, p. 424-426, 1994.

NGUYEN, M.H.; PEACOCK, J.E.JR; MORRIS, A.J.; TANNER, D.C.; NGUYEN, M.L.; SNYDMAN, D.R.; WAGENER, M.M.; RINALDI, M.G.; YU, V.L. The changing face of candidemia: emergence of non-*Candida albicans* species and antifungal resistance. **American Journal of Medicine**, v. 100, p. 617-623, 1996.

NICOLAS, A.; COZE, C.; GENTET, J.C. ; PEREZ, R.; BERNARD, J.L. *Geotrichum candidum* septicemia in a child with hepatoblastoma. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 23, p. 86, 2004.

NISHIMURA, S.K.; AKIYAMA, H.; SAKU, K.; KASHIWA, M.; MORI, S.; TANIKAWA, S. Invasive infection due to *Trichosporon cutaneum* in patients with hematologic malignancies. **American Cancer Society**, v. 82, p. 3484-3487, 1998.

NOLLA-SALAS, J.; SITGES-SERRA, A.; LEON-GIL, C.; MARTINEZ-GONZALEZ, J.; LEON-REGIDOR, M.A.; IBANEZ-LUCIA, P.; TORRES-RODRIGUEZ, J.M. Candidemia in nonneutropenic critically ill patients: analysis of prognostic factors and assessment of systemic antifungal therapy. Study Group of Fungal Infection in the ICU. **Journal of Intensive Care Medicine**, v. 23, p. 23-30, 1997.

NORIEGA-IRIONDO, M.F.; VÁZQUEZ-ELIZONDO, G.; CARRILLO-ESPER, R. El espectro de la candidiasis en la Unidad de Terapia Intensiva. **Revista de Investigación Médica Sur**, v. 15, n. 3, 2008.

NORITOMI, D.T.; BUB, G.L.; BEER, I.; SILVA, A.S.F.; DE CLEVA, R.; GAMA-RODRIGUES, J.J. Multiple brain abscesses due to *Penicillium* spp infection. **Revista do Instituto de Medicina tropical de São Paulo**, v. 47, n. 3, p. 167-170, 2005.

NUCCI, M. Candiduria in hospitalized patients: a review. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 4, p. 168-172, 2000.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

NUCCI, M.; COLOMBO, A.L. Candidemia de to *Candida tropicalis*: Clinical, epidemiologic and microbiologic characteristics of 188 episodes occurring in tertiary care hospitals. **Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases**, v. 58, p. 77-82, 2003.

NUCCI, M.; MARR, K.A. Emerging fungal diseases. **Clinical Infectious Diseases**, v.41, p. 521-526, 2005.

NUCCI, M.; SILVEIRA, M.I.; SPECTOR, N.; SILVEIRA, F.; VELASCO, E.; MARTINS, C.A.; DEROSI, A.; COLOMBO, A.L.; PULCHERI, W. Fungemia in cancer patients in Brazil: predominance of non-albicans species. **Mycopathologia**, v. 141, p. 65-68, 1998.

OH, Y.W.; EFFMANN, E.L.; GODWIN, J.D. Pulmonary infections in immunocompromised hosts: the importance of correlating the conventional radiologic appearance with the clinical setting. **Radiology**, v. 217, n.3, p. 647-656, 2000.

OLAECHEA, P.M.; PALOMAR, M.; LEÓN-GIL, C.; ALVAREZ-LERMA, F.; JORDÁ, R.; NOLLA-SALAS, J.; LEÓN-REGIDOR, M.A.; EPCAN STUDY GROUP. Economic impact of *Candida* colonization and *Candida* infection in the critically ill patient. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 23, p. 323-330, 2004.

OLIVEIRA, A.P.; MARCHIORI, E.; SOUZA JR, A.S. Comprometimento pulmonar nas leucemias: Avaliação por tomografia computadorizada de alta resolução. **Radiologia brasileira**, v. 37, p. 405-412, 2004.

OLIVEIRA, P.D.R.; MAFFEI, C.M.L.; MARLINEZ, R. INFECÇÃO URINÁRIA Hospitalar por leveduras do gênero *Candida*. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 47, n. 3, p. 231-235, 2001.

OLIVEIRA, R.G.; SOBRINHO, N.U.; SOUZA, M.V.B.; YAMAMOTO, L.; OKAY, T.S.; DEL NEGRO, G.M.B. Comparison of four random amplified polymorphic DNA (RAPD) systems to assess genetic relatedness and flucanazole susceptibility of *Candida tropicalis* pediatric isolates. **Pediatrics (São Paulo)**, v. 30, n. 2, p. 88-94, 2008.

OREN, I.; HADDAD, N.; FINKELSTEIN, R.; ROWE, J.M. Invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients during hospital construction: before and after chemoprophylaxis and institution of HEPA filters. **American Journal of Hematology**, v. 66, p. 257-262, 2001.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

OSTROSKY-ZEICHNER, L.; ALEXANDER, B.D.; KETT, D.H.; VAZQUEZ, J.; PAPPAS, P.G.; SAEKI, F.; KETCHUM, P.A.; WINGARD, J.; SCHIFF, R.; TAMURA, H.; FINKELMAN, M.A.; REX, J.H. Multicenter clinical evaluation of the (1 $\rightarrow$ 3) beta-D-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. **Clinical Infectious Diseases**, v. 41, p. 654-659, 2005.

PAGANO, L.; CAIRA, M.; CANDONI, A.; OFFIDANI, M.; FIANCHI, L.; MARTINO, B.; PASTORE, D.; PICARDI, M.; BONINI, A.; CHIERICHINI, A.; FANCI, R.; CARAMATTI, C.; INVERNIZZI, R.; MATTEI, D.; MITRA, M.E.; MELILLO, L.; AVERSA, F.; VAN LINT, M.T.; FALCUCCI, P.; VALENTINI, C.G.; GIRMENIA, C.; NOSARI, A. The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM-2004 study. **Infectious Disorders**, v. 91, n. 8, p. 1068-1075, 2006.

PAGANO, L.; CAIRA, M.; FIANCHI, L. Pulmonary fungal infection with yeasts and pneumocystis in patients with hematological malignancy. **Annals of Medicine**, v. 37, p. 259-269, 2005.

PAGANO, L.; GIRMENIA, C.; MELE, L.; RICCI, P.; TOSTI, M.; NOSARI, A.M.; BUELLI, M.; PICARDI, M.; ALLIONE, B.; CORVATTA, L.; D'ANTONIO, D.; MONTILLO, M.; MELILLO, L.; CHIERICHINI, A.; CENACCHI, A.; TONSO, A.; CUDILLO, L.; CANDONI, A.; SAVIGNANO, C.; BONINI, A.; MARTINO, P.; DEL FAVERO, A. Infections caused by filamentous fungi in patients with hematological malignancies. A report of 391 cases by GIMEMA Infection Program. **Haematologica**, v. 86, p. 862-870, 2001.

PANACKAL, A.A., GRIBSKOV, J.L., STAAB, J.F., KIRBY, K.A., RINALDI, M., MARR, K.A. Clinical significance of azole antifungal drug cross-resistance in *Candida glabrata*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, p. 1740-1743, 2006.

PANCERA, C.F.; COSTA, C.M.L.; HAYASHI, M.; LAMELAS, R.G.Y.; CAMARGO, B. Sepsis grave e choque séptico em crianças com câncer: fatores preditores de óbito. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 50, n. 4, p. 439-443, 2004.

PAPPAS, P.G.; REX, J.H.; LEE, J.; HAMILL, R.J.; LARSEN, R.A.; POWDERLY, W.; KAUFFMAN, C.A.; HYSLOP, N.; MANGINO, J.E.; CHAPMAN, S.; HOROWITZ, H.W.; EDWARDS, J.E.; DISMUKES, W.E. A prospective observational study of candidemia: Epidemiology, therapy, and influences on mortality in hospitalized adult and pediatric patients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 37, p. 634-643, 2003.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

PAPPAS, P.G.; REX, J.H.; SOBEL, J.D.; FILLER, S.G.; DISMUKES, W.E.; WALSH, T.J.; EDWARDS, J.E. Guidelines for treatment of candidiasis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, p. 161-189, 2004.

PARKER, K.M.; NICHOLSON, J.K.; CEZAYIRLI, R.C.; BIGGS, P.J. Aspergillosis of the sphenoid sinus: Presentation as a pituitary mass and postoperative gallium-67 imaging. **Surgical Neurology**, v. 45, p. 354-358, 1996.

PARKINS, M.D.; SABUDA, D.M.; ELSAYED, S.; LAUPLAND, K.B. Adequacy of empirical antifungal therapy and effect on outcome among patients with invasive *Candida* species infections. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 60, p. 613-618, 2007.

PASSOS, X.S.; SALES, W.S.; MACIEL, P.J.; COSTA, C.R.; MIRANDA, K.C.; LEMOS, J.A.; BATISTA, M.A.; SILVA, M.R.R. *Candida* colonization in intensive care unit patients' urine. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, p. 925-928, 2005.

PASQUALOTTO, A.C.; ANTUNES, A.G.V.; SEVERO, L.C. *Candida guilliermondii* as the aetiology of candidosis, Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, v.48, n. 3, p.123-127, 2006.

PASQUALOTTO, A.C.; NEDEL, W.L.; MACHADO, T.S.; SEVERO, L.C. Risk factors and outcome for nosocomial breakthrough candidaemia. **Journal of Infection**, v. 52, p. 216-222, 2006.

PATEL, M.; KUNZ, D.F.; TRIVEDI, V.M.; JONES, M.G.; MOSER, S.A.; BADDLEY, J.W. Initial management of candidemia at an academic medical center: evaluation of the IDSA guidelines. **Diagnostic Microbiology & Infectious Disease**, v. 52, p. 29-34, 2005.

PAUL, N.; MATHAI, E.; ABRAHAM, O.; MICHAEL, J.; MATHAI, D. Factors associated with candiduria and related mortality. **Journal of Infection**, v. 55, p. 450-455, 2007.

PAULA, R.C.; MONTELLI, A.C.; RUIZ, L.S.; BATISTA, G.C.M.; MATSUMOTO, F.E.; VOLPEARNONI, M.; VIANI, R.C.; KHOURI, S.; GONTIJO, V.; KREBS, V.L. Infecção Hospitalar Fúngica: Experiência em Hospitais Público de São Paulo. **Prática Hospitalar**, n. 52, p. 63-66, 2007.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

PEIXINHO, P.; SABINO, T.; DUARTE, C.; CRUZ, T.; BRAGANÇA, N. Aspergilose pulmonar invasiva. **Acta Médica Portuguesa**, v. 16, p. 97-99, 2003.

PEDROSA, T.M.G.; COUTO, R.C. **Prevenção de infecção em terapia intensiva de adultos e pediátrica**. In: Couto, R. C.; Pedrosa, T. M. G.; Nogueira, J.M. Infecção Hospitalar: epidemiologia e controle. MEDSI, Belo Horizonte, 527p, 1999.

PEMÁN, J.; BOSCH, M.; CANTÓN, E.; VIUDES, A.; JARQUE, I.; GÓMEZ-GARCÍA, M.; GARCÍA-MARTÍNEZ, J.M.; GOBERNADO, M. Fungemia due to *Candida guilliermondii* in a pediatric and adult population during a 12-year period. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 60, p. 109-112, 2008.

PERFECT, J.R.; COX, G.M.; LEE, J.Y.; KAUFFMAN, C.A.; DE REPENTIGNY, L.; CHAPMAN, S.W.; MORRISON, V.A.; PAPPAS, P.; HIEMENZ, J.W.; STEVENS, D.A. The impact of culture isolation of *Aspergillus*: a hospital-based survey of aspergillosis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 33, p. 1824-1833, 2001.

PFALLER, M.A. Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs, and modes of transmission. **Clinical Infectious Diseases**, v. 22, p. 89-94, 1996.

PFALLER, M.A.; DIEKEMA, D.J.; MENDEZ, M.; KIBBLER, C.; ERZSEBET, P.; CHANG, S.C.; GIBBS, D.L.; NEWELL, V.A. *Candida guilliermondii*, an opportunistic fungal pathogen with decreased susceptibility to fluconazole: geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK antifungal surveillance program. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 44, p. 3551-3556, 2006.

PFALLER, M.A.; DIEKEMA, D.J. Rare and emerging opportunistic fungal pathogens: concern for resistance beyond *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, p. 4419-4431, 2004.

PFALLER, M.A.; DIEKEMA, D.J. Role of sentinel surveillance of candidemia: trends in species distribution and antifungal susceptibility. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, p. 3551-3557, 2002.

PFALLER, M.; MESSER, S.; BOYKEN, L.; TENDOLKAR, S.; HOLLIS, R.; DIEKEMA, D. Geographic variation in the susceptibilities of invasive isolates of *Candida glabrata* to seven systemically active antifungal agents: a global assessment from the ARTEMIS Antifungal Surveillance Program conducted in 2001 and 2002. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, p. 3142-3146, 2004.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

PFALLER, M.A.; MESSER, S.A.; HOUSTON, A.; RANGEL-FRAUSTO, M.S.; WIBLIN, T.; BLUMBERG, H.M.; EDWARDS, J.E.; JARVIS, W.M.; MARTIN, A.; NEU, H.C.; SAIMAN, L.; PATTERSON, J.E.; DIBB, J.C.; ROLDAN, C.M.; RINALDI, M.G.; WENZEL, R.P. National epidemiology of mycoses survey: a multicenter study of strain variation and antifungal susceptibility among isolates of *Candida* species. **Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases**, v. 31, n. 1, p. 289-296, 1998.

PFALLER, M.; RINALDI, M.; DIEKEMA, D. Results from the ARTEMIS DISK global antifungal surveillance study: a 6.5-year analysis of the worldwide susceptibility of yeasts to fluconazole and voriconazole using standardized disk diffusion testing. **Journal of Clinical Microbiology**, v.43, p. 5848-5849, 2005.

PHAM, A.S.; TARRAND, J.J.; MAY, G.S.; LEE, M.S.; KONTOYIANNIS, D.P.; HAN, X.Y. Diagnosis of invasive mold infection by real-time quantitative PCR. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 119, p. 38-44, 2003.

PINTO, P.M.; RESENDE, M.A.; KOGA-ITO, C.Y.; FERREIRA, J.A.; TENDLER, M. Genetic variability analysis among clinical *Candida* spp. isolates using random amplified polymorphic DNA. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 147-152, 2004.

PLOWMAN, R.; GRAVES, N.; ESQUIVEL, J.; ROBERTS, J.A. An economic model to assess the cost and benefits of the routine use of silver alloy coated urinary catheters to reduce the risk of urinary tract infections in catheterized patients. **Journal of Hospital Infection**, v. 48, p. 33-42, 2001.

POIKONEN, E.; LYYTIKÄINEN, O.; ANTILA, V.; RUUTU, P. Candidemia in Finland, 1995-1999. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, p. 985-990, 2003.

PONCE DE LEÓN, R.S.P.; MOLINAR, R.F.; DOMÍNGUEZ, C.G.; RANGEL, F.M.S.; VÁZQUEZ, R.V.G. Prevalence of infections in intensive care units in Mexico: a multicenter study. **Critical Care Medicine**, v. 28, p.1316-1321, 2000.

POUND, M.W.; DREW, R.H.; PERFECT, J.R. Recent advances in the epidemiology, prevention, diagnosis, and treatment of fungal pneumonia. **Current Opinion of Infectious Diseases**, v. 15, n. 2, p.183-194, 2002.

PRESTERL, E.; DAXBO, C.K.F.; GRANINGER, W.; WILLINGER, B. Changing pattern of candidaemia 2001- 2006 and use of antifungal therapy at the University Hospital of Vienna, Austria. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 13, p. 1072-1076, 2007.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

RAAD, I.; HANNA, H.; BOKTOUR, M.; GIRGAWY, E.; DANAWI, H.; MARDANI, M.; KONTOYIANNIS, D.; DAROUICHE, R.; HACHEM, R.; BODEY, G.P. Management of central venous catheters in patients with cancer and candidemia. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, n. 8, p. 1119-1127, 2004.

RAAD, I.; HANNA, H.; SUMOZA, D.; ALBITAR, M. Polymerase chain reaction on blood for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in cancer patients. **Cancer**, v. 94, p. 1032-1036, 2002.

RAMAGE, G.; SAVILLE, P.S.; THOMAS, D.P.; LÓPEZ-RIBOT, J.L. *Candida* biofilms: an update. **Eukaryotic Cell**, v. 4, p. 633-638, 2005.

RANDHAWA, H.S.; CHOWDHARY, A. Medical Mycology in India (1957-2007): Contributions by the VPCI Mycoses Group. **The Indian Journal of Chest Diseases & Allied Sciences**, v. 50, p. 19-32, 2008.

RANGEL-FRAUSTO, M.S.; WIBLIN, T.; BLUMBERG, H. M.; SAIMAN, L.; PATTERSON, J.; RINALDI, M.; PFALLER, M.; EDWARDS, J. E.; JARVIS, W.; DAWSON, J.; WENZEL, R. P. National epidemiology of mycoses survey (NEM IS): variations in rates of bloodstream infections due to *Candida* species in seven surgical intensive care units and six neonatal intensive care unit. **Clinical Infectious Diseases**, v. 28, p. 253-258, 1999.

RANKING, N. Disseminated aspergillosis and moniliasis associated with agranulocytosis and antibiotic therapy. **British Medical Journal**, v. 183, p. 918-919, 1953.

RASTOGI, V.L.; NIRWAN, P.S. Invasive trichosporonosis due to *Trichosporon asahii* in a non-immunocompromised host: a rare case report. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 25, p. 59-61, 2007.

REBOLI, C.M., ROTSTEIN, C., PAPPAS, P.G., CHAPMAN, S.W., KETT, D.H., KUMAR, D. Anidulafungin versus Fluconazole for Invasive Candidiasis. **The New England Journal of Medicine**, p. 356, p. 2472-2482, 2007.

RESÉNDIZ-SÁNCHEZ, J.; MORALES-AGUIRRE, J.J. Factores asociados a mortalidad por fungemias por *Candida* sp. en niños. **Boletín Médico Del Hospital Infantil de México**, v. 64, p. 91-98, 2007.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

REX, J.H.; WALSH, T.J.; SOBEL, J.D.; FILLER, S.G.; PAPPAS, P.G.; DISMUKES, W.E.; EDWARDS, J.H. Practice guidelines for the treatment of candidiasis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 30, n. 4, p.662-678, 2000.

RHO, J.; JONG HEE SHIN, J.H.; SONG, J.W.; PARK, MI-RA; KEE, S.J.; JANG, S.J.; PARK, Y.K.; SUH, S.P.; RYANG, D.W. Molecular Investigation of Two Consecutive Nosocomial Clusters of *Candida tropicalis* Candiduria Using Pulsed-Field Gel Electrophoresis. **The Journal of Microbiology**, v. 42, n. 2, p. 80-86, 2004.

RIBEIRO, M.A.; IZQUIERDO, A.A.; LOPEZ, A.G.; RODRIGUEZ-TUDELA, J.L.; CUENCA-ESTRELLA, M. Molecular identification and susceptibility testing of *Trichosporon* isolates from a Brazilian hospital. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 25, p. 221-225, 2008.

RICHARDS, M.J.; EDWARDS, J.R.; CULVER, D.H.; GAYNES, R.P. Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States. **Infection Control Hospital Epidemiology**, v. 21, p. 510-515, 2000.

RICHARDSON, M.D. Changing patterns and trends in systemic fungal infections. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 56, p. 5-11, 2005.

RICHARDSON, M.D.; LASS-FLÖRL, C. Changing epidemiology of systemic fungal infections **Clinical Microbiology and Infection**, v. 14, p. 5-24, 2008.

RIPPON, J.W. **Medical Mycology**, Philadelphia, WB Saunders, 3 ed, pp. 728-745, 1988.

ROCHA, B.A.; DEL NEGRO, G.M.B.; YAMAMOTO, L.; SOUZA, M.V.B.; PRECIOSO, A.R.; OKAY, T.S. Identification and differentiation of *Candida* species from pediatric patients by random amplified polymorphic DNA. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 1, p. 1-5, 2008.

RODRIGUEZ, L.J.; ANAÏSSIE, E.J.; REX, J.H. *Candida*. In: SAROSI, G.A.; DAVIES, S.F. **Fungal diseases of the lung**. Philadelphia: LippincottWilliams & Wilkins, 3d ed., p. 115-22, 2000.

RODRIGUES, G.S.; DE FARIA, R.R.; GUAZZELLI, L.S.; OLIVEIRA, F.M.; SEVERO, L.C. Nosocomial infection due to *Trichosporon asahii*: clinical revision of 22 cases [in Spanish]. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 23, p. 85-89, 2006.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

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. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, p. 735-741, 2003.

ROJAS, F.M.; MAGDALENA, G.G. **Hongos levaduriformes em neonatos. Frecuencia y sensibilidad antifúngica.** Comunicaciones científicas y tecnológicas. Universidad National del Nordeste, 2004.

ROOSEN, J.; FRANS, E.; WILMER, A.; KNOCKAERT, D.C.; BOBBAERS, H. Comparison of premortem clinical diagnoses in critically ill patients and subsequent autopsy findings. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 75, p. 562-567, 2000.

ROSAS, R.C.; SALOMÃO, R.; DA MATTA, D.A.; LOPES, H.V.; PIGNATARI, A.C.; COLOMBO, A.L. Bloodstream infections in latestage acquired immunodeficiency syndrome patients evaluated by a lysis centrifugation system. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 529-532, 2003.

RUAN, S.Y.; CHIEN, J.Y.; HSUEH, P.R. Invasive Trichosporonosis Caused by *Trichosporon asahii* and Other Unusual *Trichosporon* Species at a Medical Center in Taiwan. **Clinical Infectious Diseases**, v. 49, p. 11-17, 2009.

SABATELLI, F., PATEL, R., MANN, P.A. In vitro activities of posaconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole and amphotericin B against a large collection of clinically important molds and yeasts. **Antimicrobial Agents and Chemotheapy**, v. 50: , p.2009-2015, 2006.

SAFDAR, A.; CHATURVEDI, V.; CROSS, E.W.; PARK, S.; BERNARD, E.M.; ARMSTRONG, D.; PERLIN, D.S. Prospective study of *Candida* species in patients at a comprehensive cancer center. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 45, n. 7, p. 2129-2133, 2001.

SAFDAR, A.; SINGHAL, S.; MEHTA, J. Clinical Significance of Non-*Candida* Fungal Blood Isolation in Patients Undergoing High-Risk Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation (1993-2001). **Cancer**, v. 100, n. 11, p. 2456-2461, 2004.

SAFRAN, D.B.; DAWSON, E. The effect of empiric and prophylactic treatment with fluconazole on yeast isolates in a surgical trauma intensive care unit. **Archives of Surgery**, v. 132, p. 1184-1188, 1997.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

SALES JUNIOR, J.A.L, DAVID, C.M., HATUM, R. Sepsis Brasil: Estudo epidemiológico da sepsis em unidades de terapia intensiva brasileiras. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 18, p. 9-17, 2007.

SANDVEN, P.; BEVANGER, L.; DIGRANES, A.; HAUKLAND, H.H.; MANNSÅKER, T.; GAUSTAD, P.; THE NORWEGIAN YEAST STUDY GROUP. Candidemia in Norway (1991 to 2003): Results from a Nationwide Study. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 6, p. 1977-1981, 2006.

SANGLARD, D. Clinical relevance of mechanisms of antifungal drug resistance in yeast. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 20, n. 9, p. 462-470, 2002.

SARVIKIVI, E.; LYYTIKAINEN, O.; SOLL, D.R.; PUJOL, C.; PFALLER, M.A.; RICHARDSON, M.; KOUKILA-KAHKOLA, P.; LUUKKAINEN, P.; SAXÉN, H. Emergence of Fluconazole Resistance in a *Candida parapsilosis* Strain That Caused Infections in a Neonatal Intensive Care Unit. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 6, p. 2729-2735, 2005.

SCHELENZ, S.; GRANSDEN, W.R. Candidaemia in a London teaching hospital: analysis of 128 cases over a 7-year period. **Mycoses**, v. 46, p. 390-396, 2003.

SCHELENZ, S. Management of candidiasis in the intensive care unit. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 61, p. 31-34, 2008.

SCHWARTZ, S.; RUHNKE, M.; RIBAUD, P.; COREY, L.; DRISCOLL, T.; CORNELLY, O.A.; SCHULER, U.; LUTSAR, I.; TROKE, P.; THIEL, E. Improved outcome in central nervous system aspergillosis, using voriconazole treatment, **Blood**, v. 106, p. 2641-2645, 2005.

SEGAL, B.H.; WALSH, T.J. Current approaches to diagnosis and treatment of invasive aspergillosis. **American Journal of Respiratory Critical Care Medicine**, v. 173, p.707-717, 2006.

SFAKIANAKIS, A.; KRASAGAKIS, K.; STEFANIDOU, M.; MARAKI, S.; KOUTSOPOULOS, A.; KOFTERIDIS, D.; SAMONIS, G.; TOSCA, A. Invasive cutaneous infection with *Geotrichum candidum*: sequential treatment with amphotericin B and voriconazole. **Medical Mycology**, v. 45, n.1, p. 81-84, 2007.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

SHEN, Q.; Song, X.M.; Xu, X.P.; Wang, J.M. Pulmonary fungal infection in malignant hematological diseases: an analysis of 14 cases. **Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi**, v. 13, p. 1125-1127, 2005.

SHIN, J.; KEE, S.; SHIN, M.; KIM, A.H.; SHIN, D.H.; LEE, S.K.; SUH, S.P.; RYANG, D.W. Biofilm production by isolates of *Candida* species recovered from nonneutropenic patients: comparison of bloodstream isolates with isolates from other sources. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, p. 1244-1248, 2002.

SILVA, E.; PEDRO, M.A.; SOGAYAR, A.C.; MOHOVIC, T.; SILVA, C.L.O.; JANISZEWSKI, M.; CAL, R.G.R.; SOUSA, E.F.; ABE, T.P.; ANDRADE, J.; MATOS, J.D.; REZENDE, E.; ASSUNÇÃO, M.; AVEZUM, A.; ROCHA, P.C.S.; MATOS, G.F.J.; BENTO, A.M.; CORRÊA, D.; VIEIRA, P.C.B.; KNOBEL, E. Brazilian Sepsis Epidemiological Study (BASES study). **Critical Care**, v. 8, 251-260, 2004.

SILVA, R.B.O.; FUSCO-ALMEIDA, A.M.; MATSUMOTO, M.T.; BAEZA, L.C.; BENADUCCI, T.; MENDES-GIANNINI, M.J.S. Genetic diversity and antifungal susceptibility testing of *Trichosporon asahii* isolated of intensive care units patients, **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 585-592, 2008.

SILVA, V.; HERMOSILLA, G.; ABARCA, C. Nosocomial candiduria in women undergoing urinary catheterization. Clonal relationship between strains isolated from vaginal tract and urine. **Medical Mycology**, v. 45, p. 645-651, 2007.

SINGH, A.; GOERING, R.V.; SIMJEE, S.; FOLEY, S.L.; ZERVOS, M.J. Application of Molecular Techniques to the Study of Hospital Infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, n. 3, p. 512-530, 2006.

SIRISANTHANA, T. **Penicilliosis marneffei**. In: STRICKLAND, G.T. Hunter's tropical medicine and emerging infectious diseases, 8 ed., WB Saunders, p. 564-566, 2000.

SOBEL, J.D.; KAUFFMAN, C.A.; MCKINSEY, D.; ZERVOS, M.; VAZQUEZ, J.A.; KARCHMER, A.W.; LEE, J.; THOMAS, C.; PANZER, H.; DISMUKES, W.E.; THE NATIONAL INSTITUTE OF ALLERGY AND INFECTIOUS DISEASES (NIAID) MYCOSES STUDY GROUP. Candiduria: A Randomized, Double-Blind Study of Treatment with Fluconazole and Placebo. **Clinical Infectious Diseases**, v. 30, p. 19-24, 2000.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

SÓCZÓ, G.; Kardos, G.; Varga, I.; KELENTEY, B.; GESZTELYI, R.; MJOROS, L. *In vitro* study of *Candida tropicalis* isolates exhibiting paradoxical growth in the presence of high concentrations of caspofungin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, p. 4474-4476, 2007.

SOLL, D.R. The ins and outs of DNA fingerprinting the infectious fungi. **Clinical Microbiology Review**, v. 13, p. 332-370, 2000.

SOUBANI, A.O.; CHANDRASEKAR, P.H. The clinical spectrum of pulmonary aspergilosis. **Chest**, v.121, p.1988-1999, 2002.

STAMM, A.M.N.; COUTINHO, M.S.S.A. Infecção do trato urinário relacionada ao cateter vesical de demora: incidência e fatores de risco. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 45, p. 27-33, 1999.

STEFANIAKE, M.J.; ZAUCHA-PRAZMO, A.; KACZANOWSKA, K.; KOWALCZYK, J.R. The problem of mycotic infections in children with onco-haematological diseases. **Case Reports and Clinical Practices Review** v. 2, p. 135-139, 2001.

STEINBACH, W.J.; BENJAMIN, D.K.; KONTOYIANNIS, D.P, PERFECT, J.R.; LUTSAR, I.; MARR, K.A.; LIONAKIS, M.S.; TORRES, H.A.; JAFRI, H.; WALSH, T.J. Infections due to *Aspergillus terreus*: a multicenter retrospective analysis of 83 cases. **Clinical Infectious Diseases**, v. 39, p. 192-198, 2004.

SUGITA, T.; NISHIKAWA, A.; ICHIKAWA, T.; IKEDA, R.; SHINODA, T. Isolation of *Trichosporon asahii* from environmental materials. **Medical Mycology**, v. 38, p. 27-30, 2000.

SUGITA, T.; TAKASHIMA, M.; POONWAN, N.; MEKHA, N.; MALAITHAO, K.; THUNG MUTHASAWAT, B.; PRASARN, S.; LUANGSOOK, P.; KUDO, T.. The first isolation of *ustilaginomycetous* anamorphic yeasts, *Pseudozyma* species, from patients' blood and a description of two new species: *P. parantarctica* and *P. thailandica*. **Microbiology and Immunology**, v. 47, p. 183-190, 2003.

SUPPARATPINYO, K.; KHAMWAN, C.; BAOSOUNG, V.; NELSON, K.E.; SIRISANTHANA, T. Disseminated *Penicillium marneffei* infection in Southeast Asia. **Lancet**, v. 344, p. 110-113, 1994.

TAJ-ALDEEN, S.J.; AL-ANSARI, N.; EL SHAFEI, S.; MEIS, J.F.; CURFS-BREUKER, I.; THEELEN, B.; BOEKHOUT, T. Molecular Identification and Susceptibility of *Trichosporon* Species Isolated from Clinical Specimens in Qatar: Isolation of

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

Trichosporon dohaense Taj-Aldeen, Meis & Boekhout sp. nov. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, n. 6, p. 1791-1799, 2009.

TARDIVO, T.B.; FARHAT NETO, J.; FARHAT JUNIOR, J. Infecções Sangüíneas Relacionadas aos Cateteres Venosos. **Revista Brasileira de Clínica Médica**, v. 6, p. 224-227, 2008.

TAVANTI, A.; HENSGENS, L.A.; GHELARDI, E.; CAMPA, M.; SENESI, S. Genotyping of *Candida orthopsilosis* clinical isolates by amplification fragment length polymorphism reveals genetic diversity among independent isolates and strain maintenance within patients. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, p. 1455-1462, 2007.

TAY, S.T.; NA, S.L.; CHONG, J. Molecular differentiation and antifungal susceptibilities of *Candida parapsilosis* isolated from patients with bloodstream infections. **Journal of Medical Microbiology**, v. 58, p. 185-191, 2009.

TAYLOR, J.W.; GEISER, D.M.; BURT, A.; KOUFOPANOU, V. The evolutionary biology and population genetics underlying fungal strain typing. **Clinical Microbiology Review**, v. 12, p.126-146, 1999.

THIBEAULT, R.; CHAMPAGNE, M.; REPENTIGNY, L.; FOURNET, J.C.; TAPIERO, B.; MOGHRABI, A.; OVETCHKINE, P. Fatal disseminated *Trichosporon asahii* infection in a child with acute lymphoblastic leukemia. **The Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology**, v. 19, n. 2, 2008.

TIRABOSCHI, I.N.; CARNOVALE, S.; BENETUCCI, A.; FERNÁNDEZ, N.; KURLAT, I.; FOCCOLI, M.; LASALA, M.B. Brote de candidemia por *C. albicans* en neonatología. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 24, p. 263-267, 2007.

TOSCANO, C.M.; JARVIS, W.R. Emerging issues in nosocomial fungal infections. **Current Infectious Disease**, v. 1, p. 347-361, 1999.

TOUFEN JUNIOR, C.; HOVNANIAN, A.L.D.; FRANCA, S.A.; CARVALHO, C.R.R. Prevalence rates of infection in intensive care units of a tertiary teaching hospital. **Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo**, v. 58, p. 254-259, 2003.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

TRICERRI, R.; OPPEZZI, M.; DODERO, M.; PIERSANTELLI, N.; GUIDA, B.; CASSOLA, G. Esophageal ulcer caused by *Geotrichum candidum* in case of AIDS. **Pathologica**, v. 82, p. 187-191, 1990.

TRICK, W.E.; FRIDKIN, S.K.; EDWARDS, J.R.; HAJJEH, R.A.; GAYNES, R.P.; NATIONAL NOSOCOMIAL INFECTIONS SURVEILLANCE SYSTEM HOSPITALS. Secular trend of hospital-acquired candidemia among intensive care unit patients in the United States during 1989-1999. **Clinical Infectious Diseases**, v. 35, p. 627-630, 2002.

TSAI, H.C.; LEE, S.S.L.; WANN, S.R.; CHEN, Y.S.; WANG, Y.S.; LIU, Y.C. Invasive pulmonary aspergillosis with cerebral abscess in a patient with idiopathic thrombocytopenic purpura. **Journal of Chinese Medical Association**, v. 69, n. 6, 2006.

TURRINI, R.N.T. Infecção Hospitalar e Mortalidade. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 36, n. 2, p. 177-183, 2002.

TUMBARELLO, M.; POSTERARO, B.; TRECARICHI, E.M.; FIORI, B.; ROSSI, M.; PORTA, R.; DONATI, K.G.; LA SORDA, M.; SPANU, T.; FADDA, G.; CAUDA, R.; SANGUINETTI, M. Biofilm production by *Candida* species and inadequate antifungal therapy as predictors of mortality for patients with candidemia. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, p. 1843-1850, 2007.

UFFREDI, M.L.; MANGIAPAN, G.; CADRANEL, J.; KAC, G. Significance of *Aspergillus fumigatus* isolation from respiratory specimens of nongranulocytopenic patients. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 22, p. 457-462, 2003.

VALÉRIO, H.M.; WEIKERT-OLIVEIRA, R.C.B.; RESENDE, M.A. Differentiation of *Candida* species obtained from nosocomial candidemia using RAPD-PCR technique. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n.2, p. 174-178, 2006.

VANDEWOUDE, K.H.; BLOT, S.I.; DEPUVDT, P.; BENOIT, D.; TEMMERMAN, W.; COLARDYN, F.; VOGELAERS, D. Clinical relevance of *Aspergillus* isolation from respiratory tract samples in critically ill patients. **Critical Care**, v.10, p.31, 2006.

VANDEWOUDE, K.H.; COLARDYN, F.; VERSCHRAEGEN, G. **Clinical relevance of positive *Aspergillus* cultures in respiratory tract secretions in ICU patients.** Abstracts of the 44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. American Society for Microbiology, Washington, DC, 2004.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

VANDEWOUD, K.H.; VOGELAERS, D.; BLOT, S.I. Aspergillosis in the ICU-The new 21st century problem? **Medical Mycology September**, v. 44, p. 71-76, 2006.

VASEI, M.; IMANIEH, M.H. Duodenal colonization by *Geotrichum candidum* in a child with transient low serum levels of IgA and IgM. **APMIS Journal**, v. 107, p. 681-684, 1999.

VERDUYN-LUNEL, F.M.; MEIS, J.F.; VOSS, A. Nosocomial fungal infections: candidemia. **Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases**, v. 34, n.3, 213-220, 1999.
VERGHESE, S.; RAVICHANDRAN, P. *Geotrichum candidum* infection in a renal transplant recipient. **Indian Journal of Nephrology**, v. 13, p. 72-74, 2003.

VIGOUROUX, S.; MORIN, O.; MOREAU, P.; HAROUSSEAU, J.; MILPIED, N. Candidemia in patients with hematologic malignancies: analysis of 7 years' experience in a single center. **Haematologica**, v. 91, p. 717-718, 2006.

VISCOLI, C.; GIRMENIA, C.; MARINUS, A.; COLLETTE, L.; MARTINO, P.; VANDERCAM, B.; DOYEN, C.; LEBEAU, B.; SPENCE, D.; KRCMERY, V.; DE PAUW, B.; MEUNIER, F. Candidemia in Cancer Patients: A Prospective, Multicenter Surveillance Study by the Invasive Fungal Infection Group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v.28, p.1071-1079, 1999.

VIUDES, A.; PEMAN, J.; CANTON, E.; UBEDA, P. Candidemia in tertiary hospital: epidemiology, treatment, clinical outcome and risk factors for death. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 21, p. 767-74, 2002.

VOSS, A.; KLUYTMANS, J.A.; KOELEMAN, J.G.; SPANJAARD, L.; VANDENBROUCKE-GRAULS, C.M.; VERBRUGH, H.A.; VOS, M.C.; WEERSINK, A.Y.; HOOBKAMP-KORSTANJE, J.A.; MEIS, J.F. Occurrence of yeast bloodstream infections between 1987 and 1995 in five Dutch university hospitals. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 15, p. 909-912, 1996.

WALSH, T.J., ANAISSIE, E.J., DENNING, D.W. Treatment of aspergillosis: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 46, p. 3, p. 327-360, 2008.

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

WALSH, T.J.; GROLL, A.; HIEMENZ, J.; FLEMING, R.; ROILIDES, E.; ANAÏSSIE, E. Infections due to emerging and uncommon medically important fungal pathogens. **Clinical and Microbiology Infection**, v. 10, p. 48-66, 2004.

WALSH, T.J.; NEWMAN, K.R.; MOODY, M.; WHARTON, R.C.B.A.; WADE, J.C.M.D. Trichosporonosis in patients with neoplastic disease. **Medicine**, v. 65, p. 268-279, 1986.

WEINBERGGER, M.; SWEET, S.; LEIBIVICI, L.; PITLIK, S.D.; SAMRA, Z. Correlation between candiduria and departmental antibiotic use. **Journal of Hospital Infection**, v. 53, p. 183-186, 2003.

WILCOX, C.M.; KAROWE, M.W. Esophageal infections: etiology, diagnosis, and management. **Gastroenterologist**, v. 2, p. 188-206, 1994.

WILLS, T.S.; DEGRYSE, A.; LAVINA, J.; SINNOTT, J.T. *Blastoschizomyces capitatus* Pneumonia in an Immunocompetent Male. **Southern Medical Journal**, v. 97, n. 7, 2004.

WIEDERHOLD, N.P., LEWIS, R.E. The echinocandin antifungals: an overview of the pharmacology, spectrum and clinical efficacy. **Expert Opin Investig Drugs**, v. 12, p. 1313-1333, 2003.

WINGARD, J.R. Importance of *Candida* species other than *C. albicans* as pathogens in oncology patients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 20, p. 115-125, 1995.

WISPLINGHOFF, H.; BISCHOFF, T.; TALLENT, S.M.; SEIFERT, H.; WENZEL, R.P.; EDMOND, M.B. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. **Clinical Infectious Diseases**, v. 39, p.309-317, 2004.

WOO, P.C.Y.; LAU, S.K.P.; LAU, C.C.Y.; CHONG, K.T.K.; HUI, W.T.; WONG, S.S.Y.; YUEN, K.Y. *Penicillium marneffe*i fungaemia in an allogeneic bone marrow transplant recipient. **Bone Marrow Transplantation**, v. 35, p. 831-833, 2005.

WOOD, G.C.; MUELLER, E.W.; CROCE, M.A.; BOUCHER, B.A.; FABIAN, T.C. *Candida* sp. isolated from bronchoalveolar lavage: clinical significance in critically ill trauma patients. **Intensive Care Medicine**, v. 32, p. 599-603, 2006.

XIE, G.H.; FANG, X.M.; FANG, Q.; WU, X.M.; JIN, Y.H.; WANG, J.L.; GUO, Q.L.; GU, M.N.; XU, Q.P.; WANG, D.X.; YAO, S.L.; YUAN, S.Y.; DU, Z.H.; SUN, Y.B.; WANG, H.H.; WU, S.J.; CHENG, B.L. Impact of invasive fungal infection on outcomes

Carvalho-Parahym, A.M.R.C. Infecções fúngicas nosocomiais...

of severe sepsis: a multicenter matched cohort study in critically ill surgical patients. **Critical Care**, v. 12, p. 5, 2008.

YOUNG, R.C.; BENNETT, J.E.; VOGEL, C.L.; CARBONE, P.P.; DEVITA, V.T. Aspergillosis. The spectrum of disease in 98 patients. **Medicine**, v. 49, p. 147-173, 1970.

ZHIYONG, Z.; MEI, Z.; YANBIN, L. Disseminated *Penicillium marneffei* Infection with Fungemia and Endobronchial Disease in an AIDS Patient in China. **Medicals Principles and Practice**, v. 15, p. 235-237, 2006.

ZMEILI, O.S.; SOUBANI, A.O. Pulmonary aspergillosis: a clinical update. The **Quarterly Journal of Medicine**, v. 100, p. 317-334, 2007.