

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas

Cristine Souza Goebel

**Avaliação clínica de infecções por leveduras emergentes:
Dezenove experiência (1994-2013).**

Orientador: Dr. Luiz Carlos Severo
Co-orientador: Dr. Flávio de Mattos Oliveira

Porto Alegre, abril de 2013.

Cristine Souza Goebel

Avaliação clínica de infecções por leveduras emergentes: Dezenove anos de experiência (1994-2013).

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Ciências Pneumológicas.

Orientador: Dr. Luiz Carlos Severo
Co-orientador: Dr. Flávio de Mattos Oliveira

Porto Alegre, abril de 2013.

FICHA CATALOGRÁFICA

GOEBEL, Cristine Souza

Avaliação clínica de infecções por leveduras emergentes: Dezenove anos de experiência (1994-2013)/Cristine Souza Goebel.--2013

XI, 88f.

Orientador: Luiz Carlos Severo

Co-orientador: Flávio de Mattos Oliveira

Tese de Doutorado -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas, Porto Alegre, RS, Brasil, 2013.

1. Leveduras emergentes. 2. *Saccharomyces cerevisiae*. 3. *Rhodorula* sp. 4. *Kodamaea ohmeri*. 5. *Trichosporon* sp.

Título em inglês: Clinical evaluation of emerging yeast infections: Nineteen years of experience (1994-2013).

Cristine Souza Goebel

Avaliação clínica de infecções por leveduras emergentes: Dezenove anos de experiência (1994-2013).

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial a obtenção do título de Doutor em Ciências Pneumológicas.

Porto Alegre, 13 de abril de 2013.

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese “**Avaliação clínica de infecções por leveduras emergentes: Dezenove anos de experiência (1994-2013)**”, elaborada por Cristine Souza Goebel, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências Pneumológicas.

Comissão Examinadora:

Prof^ª. Melissa Orzechowski Xavier - FURG

Prof^º Mário Carlos Araújo Meireles – UFPel

Prof^º Dr. Sydney Hartz Alves - UFSM

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Luiz Carlos Severo, e ao meu co-orientador, Flávio de Mattos Oliveira pela orientação e ajuda, não medindo esforços para que o objetivo final fosse cumprido;

Ao meu marido, pela compreensão, apoio, auxílio e paciência nos momentos que mais precisei. Sem você, tudo ficaria mais difícil.

À minha família, em especial, meus pais, pelo apoio ao longo desta jornada;

Aos colegas do Laboratório de Micologia da Santa Casa, Cecília, Luciana, Ilva, Antonella, Aline.

Ao professor Sydney que possibilitou a genotipagem da *Kodamaea ohmeri*;

À bolsista de iniciação científica, Mirelen, pela ajuda na revisão dos prontuários, possibilitando o término deste trabalho;

Aos meus colegas de trabalho da UFCSPA pela compreensão da importância desta jornada na minha formação acadêmica.

*“El verdadero viaje de descubrimiento no
consiste en buscar nuevos caminos, sino en tener
nuevos ojos”.*

Marcel Proust

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BHI – Ágar Infusão Cérebro e Coração

CGB – Canavanina Glicina Azul de Bromotimol

CVC – Cateter Venoso Central

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana

ISCOMPA - Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre

KOH - Hidróxido de Potássio

NaOH – Hidróxido de Sódio

SAB – Ágar Sabouraud

SUS - Sistema Único de Saúde

UFSCPA - Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

UTI - Unidade de Terapia Intensiva

5-FC - Flucitosina

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Aspectos micromorfológicos das leveduras e fungos leveduriformes em ágar.	4
Tabela 2	Processamento do exame direto de acordo com amostra biológica.	6
Tabelas artigo Infección por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>		
Tabla 1	Características de los pacientes con infección por <i>S. cerevisiae</i> .	20
Tabla 2	Diagnóstico micológico: examen microscópico directo y método automatizado de identificación de especies	21
Tabelas artigo Infecção por espécie de <i>Rhodotorula</i> : revisão clínica de 12 casos		
Tabela 1	Características dos pacientes com infecção por <i>Rhodotorula</i> sp.	27
Tabela 2	Diagnóstico micológico: exame microscópico direto e identificação automatizada da levedura.	28
Tabelas artigo Infecção por <i>Kodamaea (Pichia) ohmeri</i> revisão clínica de 6 casos		
Tabela 1	Características dos pacientes com infecção por <i>Kodamaea ohmeri</i> .	40
Tabela 2	Diagnóstico micológico: exame microscópico direto e identificação da espécie.	41
Tabelas artigo Infecção por <i>Trichosporon</i> sp. revisão clínica de 77 casos		
Tabela 1	Características dos pacientes com infecção por <i>Trichosporon</i> sp.	51
Tabela 2	Diagnóstico micológico: exame microscópico direto e identificação da espécie	54

RESUMO

Com o aumento de pacientes imunocomprometidos nas últimas décadas, os fungos têm emergido como uma das causas de doenças humanas. Leveduras ubíquas e/ou comensais como *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodotorula* sp., *Kodamaea (Pichia)*, *Trichosporon* sp. estão sendo descritas como importantes causadoras de infecções. Com o objetivo de avaliar clinicamente os casos de infecções por leveduras emergentes, foi realizado um estudo de 101 casos diagnosticados da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre nos últimos anos, revisando a apresentação clínica, condição predisponente, terapia utilizada e evolução dos pacientes. A doença de base mais frequente foi insuficiência renal. A manifestação clínica principal foi febre. Os fatores de risco mais frequentes foram uso de cateter venoso central e internação em unidade de terapia intensiva. O antifúngico mais utilizado no tratamento das infecções por *S. cerevisiae*, *Kodamaea ohmeri* e *Trichosporon* sp. foi o fluconazol e no tratamento das infecções por *Rhodotorula* sp. foi a anfotericina B. Aproximadamente 32% dos pacientes apresentaram melhora clínica após o tratamento com antifúngico e 26% foram a óbito. O diagnóstico rápido e específico destas leveduras é importante para a decisão terapêutica e o melhor prognóstico.

ABSTRACT

With the increase of immunocompromised patients in recent decades, fungi have emerged as a major cause of human diseases. Ubiquitous yeast and/or commensal as *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodotorula* sp., *Kodamaea (Pichia)*, *Trichosporon* sp. are described as important causative agents of infections. Faced with this, the identification of yeast is important for therapeutic decisions and for epidemiological studies. In order to clinically evaluate the cases of yeast infections emerging, a study of the major cases diagnosed at Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre in recent years, reviewing the clinical presentation, predisposing condition, therapy and patients's progress. The underlying disease frequently was renal failure. The major clinical manifestation was fever. The most frequent risk factors were: use of central venous catheter and intensive care unit stay. The most used antifungal in the treatment of infections caused by *S. cerevisiae*, *Kodamaea ohmeri* and *Trichosporon* sp. was fluconazole and in the cases of infections by *Rhodotorula* sp. was amphotericin B. Most patients showed clinical improvement after treatment with antifungal. Approximately 32% of patients showed clinical improvement after treatment with antifungal and 26% died. The rapid and specific diagnosis of these yeasts is important for the therapeutic decision and a better prognosis.

SUMÁRIO

Agradecimentos	V
Lista de abreviaturas	VII
Lista de tabelas	VIII
Resumo	IX
Abstract	X
1. Introdução	1
1.1 Infecção por <i>Saccharomyces</i>	2
1.2 Rhodotorulose	2
1.3 Infecção por <i>Kodamaea (Pichia)</i>	3
1.4 Trichosporonose	3
1.5 As pectos microscópicos das leveduras	4
2. Objetivos	5
2.1 Objetivo geral	5
2.2 Objetivo específico	5
3. Materiais e Métodos	6
3.1 Identificação etiológica	7
3.2 Delineamento do estudo	8
3.3 Amostra estudada	8
3.4 Instituição	8
3.5 Aspectos éticos	8
4. Artigos	9
4.1 Infecção por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9
4.2 Infecção por <i>Rhodotorula</i> sp.: revisão clínica de 12 casos	22
4.3 Infecção por <i>Kodamaea (Pichia) ohmeri</i> : revisão clínica de 6 casos	35
4.4 Infecção por <i>Trichosporon</i> sp.: revisão clínica de 77 casos	46
5. Discussão	64
6. Conclusões	67
7. Perspectivas	68
8. Referências bibliográficas	69
9. Anexos	72
9.1 Anexo I - Instrumento para colheita de dados	72
9.2 Anexo II - Declaração referente a aspectos de ética médica	73
10. Apêndices	74
10.1 Apêndice I – Carta de aprovação Comitê de Ética em Pesquisa	74
10.2 Apêndice II - Parecer da Revista Iberoamericana de Micología	76

1. INTRODUÇÃO

As leveduras são ubiqüitárias na natureza, estando em associação com plantas, mamíferos e insetos. Humanos estão expostos continuamente a múltiplos gêneros de leveduras por diferentes vias. Dependendo da interação entre os mecanismos de imunidade do hospedeiro e dos fatores de virulência do microrganismo, a colonização pela levedura pode ser transitória ou persistente, podendo desencadear doença local ou sistêmica (Vazques, 2003).

As leveduras geralmente são pouco virulentas e frequentemente necessitam alteração significativa ou redução na imunidade do hospedeiro antes da invasão tecidual (Vazques, 2003).

Desta forma, com o aumento de pacientes imunocomprometidos nas últimas décadas, os fungos têm emergido como a maior causa de doenças humanas, causando infecções quando as defesas do hospedeiro estão debilitadas (Shoham & Levitiz, 2005). As leveduras frequentemente relatadas são espécies do gênero *Candida* e *Cryptococcus*. No entanto, espécies de leveduras menos comuns estão sendo observadas, são as leveduras emergentes (Thompson *et.al.*, 2009).

Leveduras emergentes são aquelas espécies que aumentaram sua frequência nos últimos anos, ou são novas espécies causadoras de doença ou espécies que ocorrem devido ao aparecimento de novos grupos de risco. Estes patógenos emergentes têm contribuído para a mortalidade e morbidade de pacientes imunocomprometidos, sendo observado o aumento de espécies dos gêneros *Saccharomyces*, *Rhodotorula*, *Kodamaea*, *Trichosporon* e *Malassezia* (Thompson *et.al.*, 2009).

1.1 Infecção por *Saccharomyces*

Saccharomyces cerevisiae é a espécie mais comum do gênero isolada no laboratório de micologia clínica. A levedura é arredondada a oval podendo apresentar pseudohifa curta rudimentar. A produção de ascosporos pode ser facilmente identificada em meio apropriado a temperatura ambiente. Na macroscopia da colônia, podemos observar um aspecto cremoso, liso de coloração branca a bege (Hawell & Hazen, 2011).

Frequentemente conhecida como não patogênica, a espécie *S. cerevisiae* tem sido descrita como agente de vulvovaginite, empiema e fungemia. O contato pessoa-pessoa e a exposição a cepas comerciais associadas em alimentos podem contribuir para a habilidade do microrganismo de colonização e infecção do hospedeiro humano. Dentre as síndromes clínicas, a mais importante é a fungemia. Os fatores de risco são semelhantes aos associados a candidemia e candidose sistêmica, incluindo cateter venoso central, neutropenia, anitibioticoterapia e cirurgia do trato gastrointestinal (Vazques, 2003; Pfaller *et al.*, 2009; Hawell & Hazen, 2011).

1.2 Rhodotorulose

Rhodotorula é um gênero de levedura que produz pigmento carotenóide visualmente observado na macroscopia da colônia. Este gênero compartilha várias características fisiológicas e morfológicas com o gênero *Cryptococcus*. Ambos são arredondadas a ovais, produzem brotamentos laterais, produzem urease e não fermentam carboidratos (Neofyts, 2011).

Espécies de *Rhodotorula* têm sido isoladas do solo, água, sucos de frutas, produtos do leite, cortinas de banheiro e escovas de dentes. *Rhodotorula* tem sido reconhecida com frequência crescente como patógeno humano, causando septicemia, meningite, infecção sistêmica, peritonite em pacientes com diálise peritoneal e sepse em pacientes com cateter venoso central. Os fatores de risco são semelhantes para outros fungos descritos como agentes de infecções da corrente sanguínea (Vazques, 2003; Pfaller *et al.*, 2009; Hawell & Hazen, 2011)

1.3 Infecção por *Kodamaea* (*Pichia*)

Kodamaea ohmeri, anteriormente conhecida como *Pichia ohmeri* ou *Yamadazyma ohmeri*, é um fungo pertencente à família *Saccharomycetaceae* (Yamada *et al.* 1995, Han *et al.* 2004). Variações na morfologia da colônia pode causar confusão com *Cryptococcus* e *Candida*. A textura pode ser lisa a pregueada e a cor poder ser branca, creme ou marrom claro. Microscopicamente podem ser observadas estruturas de reprodução sexuada, a qual se denomina asco que pode conter de 4 a 8 ascosporos (Sundaram *et al.*, 2011).

Kodamaea ohmeri é a principal espécie do gênero, sendo comumente utilizada na indústria alimentícia (Taj-Aldeen *et al.*, 2006). Contudo, atualmente esta levedura é considerada como um patógeno emergente principalmente em pacientes imunocomprometidos (Lee *et al.*, 2007).

1.4 Trichosporonose

Trichosporon é um gênero caracterizado pela produção de hifas verdadeiras, pseudohifa, artro e blastoconídios. Na macroscopia, observamos uma colônia rugosa de coloração brana a bege. *T. beigelii* considerado a principal espécie patogênica em humanos. Contudo, em 1992, a taxonomia desta espécie foi revisada com base em aspectos moleculares. Atualmente o gênero compreende 50 espécies e destas, 16 espécies apresentam relevância clínica (Colombo *et al.*, 2011).

Leveduras deste gênero podem ser isoladas do solo, ar, rios, lagos, detritos e fezes de pássaros. Ocasionalmente coloniza superfícies da mucosa da orofaringe, trato gastrointestinal e pele humana (Heslop *et al.*, 2011).

Inicialmente esta levedura era reconhecida como agente da piedra branca, micose superficial do pelo. Contudo, atualmente ela é responsável por mais de uma centena de casos de infecção humana disseminada. Na maioria dos casos, a porta de entrada são os tratos respiratório e gastrointestinal e os fatores predisponentes estão associados ao uso de

cateter venoso central ou dispositivo percutâneo vascular (Vazques, 2003; Pfaller *et al.*, 2009; Hawell & Hazen , 2011).

1.5 Aspectos microscópicos das leveduras

A primeira etapa na identificação da levedura, após o exame macroscópico da colônia, é o aspecto micromorfológico (Tabela 1). Toda levedura apresenta uma estrutura arredondada ou oval com raras pseudohifas ou ausência delas. Deve-se investigar a presença de cápsula para afastar a possibilidade de *Cryptococcus*. A presença de artroconídio, hifa verdadeira ou ascósporos direcionam o diagnóstico. Contudo, apesar da observação microscópica, são necessárias provas bioquímicas adicionais e até mesmo a biologia molecular para o diagnóstico deste grupo de fungos.

Tabela 1: Aspectos micromorfológicos das leveduras e fungos leveduriformes em ágar.

Microrganismo	Pseudohifa	Hifa verdadeira	Bastoconídio	Artroconídio	Ascósporos
<i>Pichia</i> spp.	x ^a		x		x
<i>Rhodotorula</i> spp.			x		
<i>Saccharomyces</i> spp.	x ^a		x		x
<i>Trichosporon</i> spp.	x	x	x	x	

a, variedade

Modificado de Hawell & Hazen , 2011

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Definir os dados demográficos, as doenças de base e os fatores associados aos casos clínicos ocasionados por leveduras emergentes ocorridos na Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCMPA) nos últimos dezenove anos (1994-2013).

2.2 Objetivos específicos

- Identificar os agentes etiológicos das leveduroses emergentes;
- Identificar as principais doenças de base associadas;
- Identificar os principais fatores de risco associados;
- Identificar os principais sítios de infecção por fungos emergentes;
- Identificar as principais terapias antimicrobianas envolvidas;
- Caracterizar o tipo de evolução clínica dos pacientes.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Para cada amostra biológica foi realizado exame direto (com objetivo de visualizar o fungo e sua morfologia) e exame do cultivo (com objetivo de isolar e identificar o fungo e orientar o tratamento médico).

O exame direto foi realizado de acordo com amostra biológica conforme demonstrado na tabela 2.

Os cultivos positivos foram separados em leveduras, fungos dimórficos e fungos filamentosos para identificação etiológica. As amostras utilizadas neste trabalho foram aquelas que foram positivas para leveduras emergentes (excluindo *Candida* spp. e *Cryptococcus* spp.).

Tabela 2 – Processamento do exame direto de acordo com amostra biológica.

Espécime clínico	Quantidade	Processamento - Exame direto
Sangue	10-20ml Adulto	Giemsa
Lavado broncoalveolar	10-20ml	Direto, prata
Líquidos		Direto, prata ou Giemsa
Líquido cefalorraquidiano	3-5ml	Nigrosina
Pus e exsudatos	3-5ml	KOH, prata, Gram
Escarro	5-10ml	Direto NaOH 4%
Urina	10-20ml	Direto
Pele, pêlo e unha		KOH 20%
Tecido		Prata, KOH20%

NaOH: hidróxido de sódio; KOH: hidróxido de potássio

3.1 Identificação etiológica dos fungos

a) Leveduras:

- *Candida* sp.: microscopia, técnica do tubo germinativo e método automatizado (ID 32C, ATB Expression, bioMérieux);
- *Cryptococcus* sp.: microscopia, meio bioquímico (ágar Uréia, ágar Niger, Canavanina-glicina-azul de bromotimol – CGB) (Kwon-Chung *et al.*, 1982).
- *Geotrichum* sp.: microscopia e método automatizado (ID 32C, ATB Expression, bioMérieux);
- *Trichosporon* sp.: microscopia e método automatizado (ID 32C, ATB Expression, bioMérieux);
- *Rhodotorula* sp.: microscopia e método automatizado (ID 32C, ATB Expression, bioMérieux);
- *Malassezia* sp.: microscopia e método automatizado (ID 32C, ATB Expression, bioMérieux);
- *Saccharomyces cerevisiae*: microscopia e método automatizado (ID 32C, ATB Expression, bioMérieux);
- *Kodamaea ohmeri*: microscopia e método automatizado (ID 32C, ATB Expression, bioMérieux).

Cada isolado foi classificado como contaminante ou como patógeno (Thomson *et al.*, 1984; Creger *et al.*, 1998). O significado clínico foi estabelecido pela revisão do prontuário clínico:

1. Patógeno verdadeiro: o mesmo microrganismo foi isolado de e/ou visualizado em biópsia de tecido ou identificado em múltiplos espécimes estéreis; o fungo isolado é agente de infecção.
2. Contaminante: o microrganismo não é patógeno primário, o isolamento foi único, não há correlação clínica, nem fator predisponente.

Para cada paciente com cultivo positivo para leveduras emergentes as seguintes informações foram obtidas: idade, sexo, presença e tipo de doença(s) predisponente(s), imunodepressão, cirurgia prévia ou profilaxia antifúngica, episódio(s) prévio(s) de sepse bacteriana, sítio de infecção e cateter intravascular (ver anexo I) (Creger *et al.*, 1998).

3.2 Delineamento do estudo

Estudo coorte retrospectivo, janeiro de 1994 a janeiro de 2013.

3.3 Amostra de estudo

A amostra estudada foi constituída de todos os casos consecutivos de infecção por leveduras emergentes diagnosticadas na ISCMPA no período de janeiro de 1994 a janeiro de 2013.

3.4 Instituição

A ISCMPA é um complexo hospitalar de atendimento terciário composto por sete hospitais, que ao todo somam mais de 1.042 leitos, 129 dos quais são de terapia intensiva. Ocorrem na Instituição 44.734 internações e 770.412 consultas ambulatoriais por ano. É uma Instituição com mais de 200 anos de existência, servindo como hospital-escola à Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFSCPA). Cerca de 60% dos leitos do hospital são destinados a pacientes do Sistema Único de Saúde (SUS), e 40% a pacientes particulares ou conveniados.

3.5 Aspectos éticos

Este projeto de pesquisa foi encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa da ISCMPA (parecer 032/2010) (ver apêndice I).

4. RESULTADOS

4.1 Infecção por *Saccharomyces cerevisiae*

Nombres de los autores y centro de adscripción

Cristine Souza Goebel

Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS);

Professora Assistente, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA).

Flávio de Mattos Oliveira

Doutor em Ciências Pneumológicas, UFRGS;

Laboratório de Micologia, Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCMPA).

Luiz Carlos Severo

Professor Associado (nível IV), Faculdade de Medicina, UFRGS;

Laboratório de Micologia, ISCMPA; Pesquisador 1B CNPq.

Nombre y dirección completa del autor de referencia

Luiz Carlos Severo

Professor Associado (nível IV), Faculdade de Medicina, UFRGS;

Laboratório de Micologia, ISCMPA; Pesquisador 1B CNPq.

Rua Prof. Annes Dias, 295, 90020-090 - Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

E-mail: severo@santacasa.tche.br

Tel.: + 55 51 32148409

Fax: + 55 51 32148435

RESUMEN

Antecedentes: *Saccharomyces cerevisiae* es una levadura ubicua muy utilizada en la industria y también presente en la microbiota humana. Sin embargo, en las últimas décadas hubo un aumento significativo de infecciones fúngicas invasoras causadas por este hongo.

Objetivo: Evaluar las infecciones por *S. cerevisiae* en un período de 10 años (2000-2010) en un hospital del sur de Brasil. *Método:* Revisión de las historias clínicas de los pacientes infectados por este hongo. *Resultados:* En este período, hemos encontrado 6 pacientes infectados por *S. cerevisiae*. El rango de edad de los pacientes oscilaba entre los 10 y los 84 años. Las muestras analizadas procedían de orina, sangre, líquido ascítico, fluido de diálisis peritoneal y biopsia de esófago. Las infecciones por *S. cerevisiae* estaban relacionadas principalmente con neoplasias, trasplantes, procedimientos quirúrgicos, insuficiencia renal, uso de catéter venoso central, ventilación mecánica, internación en la unidad de cuidados intensivos, diabetes mellitus, quimioterapia, corticosteroides y nutrición parenteral. El fluconazol y la anfotericina B fueron los antifúngicos más utilizados en el tratamiento. Tres de los seis pacientes presentaron mejoría clínica y fueron dados de alta y tres fallecieron. *Conclusiones:* Hay que poner especial atención en las infecciones emergentes, especialmente cuando existan factores predisponentes, tales como inmunosupresión o enfermedades graves. El diagnóstico rápido y específico de estas levaduras es importante para la decisión terapéutica. Son necesarios estudios epidemiológicos y de eficacia de los agentes antifúngicos con el fin de obtener un mejor enfoque terapéutico.

Palabras clave: *Saccharomyces cerevisiae*; Patógeno emergente; Levaduras.

ABSTRACT

Background: *Saccharomyces cerevisiae* is a ubiquitous yeast widely used in industry and it is also a common colonizer of the human mucosae. However, the incidence of invasive infection by these fungi has significantly increased in the last decades. *Aims:* To evaluate the infection by *S. cerevisiae* at a hospital in southern Brazil during the period of 10 years (2000-2010). *Methods:* Review of medical records of patients infected by this fungus. *Results:* In this period, we found 6 patients infected by *S. cerevisiae*. The age range of the patients was from 10 years to 84; and urine, blood, ascitic fluid, peritoneal dialysis, and esophageal biopsy were samples analyzed. The most common predisposing factors were cancer, transplant, surgical procedures, renal failure, use of venous catheters, mechanical ventilation, hospitalization in intensive care, diabetes mellitus, chemotherapy, corticosteroid use, and parenteral nutrition. Amphotericin B and fluconazole were the choice of treatment. Three patients died and the other three were discharged from hospital. *Conclusions:* We must take special precautions in emerging infections, especially when there are predisposing conditions such as immunosuppression or patients with serious illnesses. The rapid and specific diagnosis of this yeast is important for therapeutic decision; moreover, epidemiological and efficacy studies of antifungal agents are necessary for a better therapeutic approach.

Keyword: *Saccharomyces cerevisiae*; Emerging pathogen; Yeasts.

Introducción

Saccharomyces cerevisiae es un ascomiceto ubicuo que se encuentra en las plantas, frutas y suelos⁷ y también se usa ampliamente en la industria para la producción de alimentos y bebidas²⁸ como pan, cerveza y vino^{6, 15}.

En los seres humanos esta levadura forma parte de la microbiota habitual de la mucosa del tracto gastrointestinal y respiratorio^{17, 26}. No obstante, en las últimas décadas, la incidencia de esta levadura en infecciones aumentó sobre todo en individuos inmunodeprimidos^{22, 29}. Al mismo tiempo, el uso de antibióticos de amplio espectro, los catéteres intravasculares y los probióticos son algunos de los factores predisponentes más frecuentemente asociados^{15, 16, 22}.

En este trabajo presentamos seis casos de infección nosocomial por *S. cerevisiae* y comentamos las presentaciones clínicas, las condiciones predisponentes, la terapia utilizada y la evolución de la enfermedad.

Pacientes y métodos

Fueron revisados retrospectivamente de enero de 2000 a diciembre de 2010, seis casos de infecciones por *S. cerevisiae* existentes en los archivos del Laboratorio de Micología, Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCOMPA), Rio Grande do Sul, Brasil. La historia clínica de cada paciente fue analizada y los aspectos como el género, la edad, las condiciones predisponentes, la enfermedad, las muestras clínicas, el tratamiento y la evolución de la enfermedad fueron descritos.

El diagnóstico micológico se efectuó mediante examen microscópico directo y cultivo de las muestras clínicas. Para la realización del diagnóstico, se utilizó el sedimento obtenido de la centrifugación de las muestras de orina (1), sangre (2), líquido de ascitis (1), líquido de diálisis peritoneal (1) y un fragmento de esófago procedente de biopsia (1). Para la centrifugación de las muestras de sangre fue utilizado el sistema de lisis-centrifugación (Isolator System, Wampole Labs., EE.UU.), que es considerado el método de referencia para el aislamiento de hongos a partir de muestras de sangre¹. El sedimento de orina se sembró en agar glucosado de Sabouraud (SGA, Difco) con cloranfenicol (Unión Química, Brasil) y se incubó a 25°C. Las otras muestras clínicas se sembraron en SGA y agar infusión cerebro (BHI, Biobrás, Brasil) y se incubaron a 25°C y 35°C respectivamente.

Las colonias desarrolladas en los cultivos positivos fueron analizadas macroscópica y microscópicamente. El agente fúngico fue identificado por el método automatizado ID 32C - ATB Expression (bioMérieux, Francia) a partir de suspensiones estandarizadas (MacFarland 2) en un densitómetro (ATB 1550, bioMérieux) procedentes de cultivos de 24 h de incubación. Esta suspensión se transfirió a un medio semi-sólido sintético (Medio C, bioMérieux) para la inoculación posterior en las galerías de 32 cúpulas con diferentes sustratos deshidratados (ID 32C, bioMérieux). El crecimiento fue interpretado en el equipo ATB después de la incubación de 24h, 48h y 72h a 30°C.

Resultados

El rango de edad de los pacientes oscilaba entre los 10 y los 84 años, con una mediana de 53,5 y un predominio del sexo masculino (5 de los 6 pacientes). Las enfermedades asociadas o condiciones predisponentes relacionadas con la infección por *S. cerevisiae* destacadas fueron la diabetes mellitus, la insuficiencia renal, el cáncer, la malnutrición, el trasplante de órganos sólidos y la quimioterapia. Entre los factores predisponentes, destacaron la utilización de catéter, la ventilación mecánica, la nutrición parenteral o sonda nasogástrica y los procedimientos quirúrgicos (tabla 1). La mayoría de los pacientes presentaron fiebre como manifestación clínica.

En el diagnóstico micológico, las colonias aisladas en cultivos de orina, sangre, líquido de ascitis, líquido de diálisis peritoneal y biopsia de esófago, después de tres a cinco días, tenían textura cremosas de color blanco a crema, y la microscopía evidenció la presencia de blastoconidios. Las pruebas bioquímicas realizadas por el método automatizado ATB Expression identificaron *S. cerevisiae* en todas las muestras con una seguridad diagnóstica superior al 90% y un valor T superior a 0,3 (tabla 2). Para la terapia, el fluconazol y la anfotericina B fueron los agentes antifúngicos escogidos para el tratamiento y, por otro lado, de acuerdo con la evolución clínica, tres pacientes presentaron mejoría clínica y tres pacientes fallecieron (tabla 1).

Discusión

Los avances en la medicina en los últimos años han aumentado nuestra capacidad de prevención, de diagnóstico y de procedimientos terapéuticos para una gran variedad de enfermedades. No obstante, algunos tratamientos como los que implican el uso de procedimientos quirúrgicos, materiales protésicos o agentes quimioterápicos pueden inducir la inmunosupresión grave —por ejemplo, durante el tratamiento del cáncer y el trasplante de órganos— y el permitir acceso a los patógenos oportunistas²¹. Además, el grupo de pacientes con riesgo de nuevas infecciones oportunistas se ha incrementado dramáticamente desde los años 80 a causa de la epidemia mundial de infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)¹⁰, que plantea la posibilidad de que hongos colonizadores y ubicuos se conviertan en patógenos, contribuyendo en una mayor mortalidad y morbilidad^{8,31}.

Saccharomyces cerevisiae es una levadura ubicua ampliamente utilizada en la industria, principalmente en la fabricación de bebidas alcohólicas como vino, cerveza o champán¹⁵. Esta levadura se encuentra también en la microbiota habitual: en el tracto gastrointestinal, el tracto respiratorio y las membranas mucosas^{26, 17}. Sin embargo, en las últimas décadas, especialmente desde 1990, aumentaron significativamente las infecciones fúngicas invasivas causadas por este hongo^{7,22}.

El primer caso de infección por *S. cerevisiae* fue descrito en 1970 en un paciente con una válvula protésica mitral³⁰. Después de este período, se demostró un aumento en el número de casos notificados. Muñoz y colaboradores realizaron una revisión de la literatura publicada entre 1966 a 2004 de los casos de fungemia y documentaron el aumento de la incidencia de la infección por *S. cerevisiae*: 4 casos durante 1970-1980, 10 casos durante 1981-1991 y 46 casos durante 1992-2004¹⁷.

El síndrome clínico más importante causado por *S. cerevisiae* es la fungemia; no obstante, esta levadura también puede causar una variedad de síndromes clínicos, tales como vaginitis¹⁹, esofagitis¹³, neumonía, absceso hepático, infecciones genitourinarias, peritonitis, celulitis, fiebre y shock séptico^{17,27}.

La conversión de este microorganismo de comensal a patógeno y el desarrollo de fungemia pueden producirse debido a una translocación endógena gastrointestinal, uso de

catéter⁵ o administración de probiótico^{5, 16, 22}. Éste es un agente bioterápico liofilizado²⁰, preparado con una variedad de *S. cerevisiae* (*S. cerevisiae* var. *boulardii*) y administrado por vía oral²³ para equilibrar la microbiota intestinal en el tratamiento de la diarrea crónica asociada con *Clostridium difficile* o con o el uso de antibióticos^{9,11,24}, enfermedad de Crohn u otras enfermedades inflamatorias intestinales⁴, lo que sugiere que *S. cerevisiae* (*S. cerevisiae* var. *boulardii*) puede ir desde el tracto gastrointestinal hacia la corriente sanguínea y causar fungemia²⁸. Henry y colaboradores presentaron el caso de un hombre de 65 años, que desarrolló fungemia por *S. cerevisiae* después de haberse sometido a quimioterapia y tratamiento de diarrea con probióticos orales de *S. cerevisiae* var. *boulardii*¹². El beneficio potencial de la utilización de este probiótico debe ser evaluado para cada paciente, ya que muchos casos de fungemia asociada con *S. cerevisiae* var. *boulardii* se han reportado en la literatura^{4, 11, 14, 18, 32}. Debemos prestar particular atención a pacientes inmunocometidos o expuestos a factores predisponentes⁷. Sin embargo, no debemos de descuidar a los pacientes inmunocompetentes pero con problemas cardíacos sometidos a implantes de injertos¹⁷.

La literatura también informa las infecciones causadas por *S. cerevisiae* asociada a pacientes inmunocomprometidos, procedimientos dentales, cáncer de páncreas, quemaduras, insuficiencia renal, endocarditis²⁹, enfermedades hematológicas, trasplantes, síndrome de inmunodeficiencia adquirida y terapia con corticosteroides³³. Al mismo tiempo, el riesgo de fungemia también se ha asociado a pacientes en unidades de cuidados intensivos y al uso del catéter venoso central¹⁶. Ruiz-Esquide y colaboradores describieron el caso de un recién nacido en la unidad de cuidados intensivos, en quien se utilizó ventilación mecánica y catéter percutáneo, suma esta de factores que llevó a una endocarditis²⁵. Belet y colaboradores también informaron de un caso de un recién nacido que desarrolló fungemia, pero relacionada con el uso de catéter venoso central³.

En este trabajo se hizo una revisión de las infecciones causadas por *S. cerevisiae* en los últimos diez años (2000-2010) en la ISCMPA, que resultó en 6 pacientes a quienes se les asoció condiciones similares a las descritas en la literatura como: neoplasias (1 paciente con cáncer de páncreas, 1 con cáncer de esófago y 1 paciente con sarcoma de la médula ósea), trasplante (1 trasplante conjugado de riñón y páncreas), procedimientos quirúrgicos (1 paciente con cirugía ósea por fractura de prótesis), insuficiencia renal (3 pacientes), uso de catéter (3 pacientes), ventilación mecánica asociada a la unidad de cuidados intensivos (1 paciente), diabetes mellitus (1 paciente) y nutrición parenteral (1 paciente). En relación

a las manifestaciones clínicas, la mayoría de los pacientes presentaron fiebre. Un paciente presentó lesiones en la piel por falta de movimiento, debido a la cirugía por fractura. En referencia a la asociación con el uso de antibióticos, 4 de los 6 pacientes habían empezado terapia previa. El antibiótico más utilizado fue la vancomicina (4 pacientes), sulbactam (3 pacientes), ampicilina (2 pacientes), amoxicilina (2 pacientes), ciprofloxacina (1), piperacilina-tazobactam (1) e imipenem (1 paciente).

Después de la identificación del agente fúngico, el tratamiento más utilizado fue fluconazol (3 pacientes) y anfotericina B (1 paciente). La anfotericina B es el tratamiento de elección para las infecciones graves causadas por este organismo². Smith y colaboradores han informado que el tratamiento de fungemia por *S. cerevisiae* utiliza anfotericina B o ketoconazol²⁹. Además de la anfotericina B, también hay informes de que el voriconazol parece ser activo *in vitro* contra *S. cerevisiae*, mientras que el fluconazol puede tener actividad variable¹⁶. Muñoz y colaboradores informan que las cepas de *S. cerevisiae* son sensibles a anfotericina B (CIM90, 0,5 - 1µg/mL) y fluorocitocina (CIM90 0,25 mg/ml), mientras que para el fluconazol y el itraconazol se describen diferentes tasas de resistencia¹⁷. Sin embargo, pocos datos están relacionados con la eficacia de los antifúngicos. Por lo tanto, hasta que haya más datos disponibles en la literatura, la anfotericina B parece ser el fármaco de elección y el voriconazol o posaconazol tienen buena actividad antifúngica *in vitro* para este agente fúngico^{16,17}.

Además de la terapia antifúngica, otras medidas son también importantes como la retirada del catéter y la suspensión de probiótico²⁷. En relación a la evolución clínica, 3 pacientes tuvieron una respuesta favorable y 3 fallecieron. En este trabajo no se pudo establecer si el óbito fue consecuencia de la infección; lo más probable es que el fallecimiento haya ocurrido debido a la evolución de sus respectivas enfermedades de base.

En conclusión, *S. cerevisiae* es una levadura de la microbiota habitual, pero no podemos descartarla como un importante agente de infecciones debido a su creciente incidencia. Debemos tener especial atención sobre todo cuando existan condiciones predisponentes como la inmunosupresión o enfermedades graves; así como investigar el uso de preparaciones de probióticos con *S. cerevisiae* var. *boulardii*. El diagnóstico rápido y específico de esta levadura es importante para decisiones terapéuticas y estudios epidemiológicos, así como estudios sobre la eficacia de los antifúngicos son necesarios para un mejor abordaje terapéutico.

Bibliografía

1. Alexander BD. Diagnosis of fungal infection: new technologies for the mycology laboratory. *Transpl Infect Dis.* 2004; 4:32-37.
2. Aucott JN, Fayen J, Grossnicklas H, Morrissey A, Lederman MM, Salata RA. Invasive infection with *Saccharomyces cerevisiae*: report of three cases and review. *Rev Infect Dis.* 1990; 12: 406-11.
3. Belet N, Dalgiç N, Oncel S, Ciftçi E, Ince E, Güriz H, Barlas M, Doğru U. Catheter-related fungemia caused by *Saccharomyces cerevisiae* in a newborn. *Pediatr Infect Dis J.* 2005; 24:1125.
4. Cassone M, Serra P, Mondello F, Girolamo A, Scafetti S, Pistella E, Venditti M. Outbreak of *Saccharomyces cerevisiae* subtype *boulardii* fungemia in patients neighboring those treated with a probiotic preparation of the organism. *J Clin Microbiol.* 2003; 41:5340-3.
5. Chitasombat MN, Kofteridis DP, Jiang Y, Tarrand J, Lewis RE, Kontoyiannis DP. Rare opportunistic (non-*Candida*, non-*Cryptococcus*) yeast bloodstream infections in patients with cancer. *J Infect.* 2012; 64:68-75.
6. Diezmann S, Dietrich FS. *Saccharomyces cerevisiae*: population divergence and resistance to oxidative stress in clinical, domesticated and wild isolates. *PLoS One.* 2009; 4: 1-11.
7. Enache-Angoulvant A, Hennequin C. Invasive *Saccharomyces* infection: A comprehensive review. *Clin Infect Dis.* 2005; 41: 1559-68.
8. Groll AH, Walsh TJ. Uncommon opportunistic fungi: new nosocomial threats. *Clin Microbiol Infect.* 2001; 7:8-24.
9. Hamoud S, Keidar Z, Hayek T. Recurrent *Saccharomyces cerevisiae* fungemia in an otherwise healthy patient. *Isr Med Assoc J.* 2011; 13:575-6.
10. Hazen KC. New and emerging yeast pathogens. *Clin Microbiol Rev.* 1995; 8: 462-78.
11. Hennequin C, Kauffmann-Lacroix C, Jobert A, Viard JP, Ricour C, Jacquemin JL, Berche P. Possible role of catheters in *Saccharomyces boulardii* fungemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2000; 19:16-20.
12. Henry S, D'Hondt L, André M, Holemans X, Canon JL. *Saccharomyces cerevisiae* fungemia in a head and neck cancer patient: a case report and review of the literature. *Acta Clin Belg.* 2004; 59:220-2.

13. Kliemann DA, Antonello VS, Severo LC, Pasqualotto AC. *Saccharomyces cerevisiae* oesophagitis in a patient with oesophageal carcinoma. *J Infect Dev Ctries.* 2011; 5:493-495.
14. Lherm T, Monet C, Nougière B, Soulier M, Larbi D, Gall C, Caen D, Malbrunot C. Seven cases of fungemia with *Saccharomyces boulardii* in critical ill patients. *Intensive Care Med.* 2002; 28: 797-801.
15. Llanos R, Fernández-Espinar MT, Querol A. A comparison of clinical and food *Saccharomyces cerevisiae* isolates on the basis of potential virulence factors. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2006; 90: 221-31.
16. Miceli MH, Díaz JA, Lee SA. Emerging opportunistic yeast infections. *Lancet Infect Dis.* 2011; 11:142-51.
17. Muñoz P, Bouza E, Cuenca-Estrella M, Eiros JM, Pérez MJ, Sánchez-Somolinos M, Rincón C, Hortal J, Peláez T. *Saccharomyces cerevisiae* fungemia: an emerging infectious disease. *Clin Infect Dis.* 2005; 40:1625-34.
18. Niault M, Thomas F, Prost J, Hojjat Ansari F, Kalfon P. Fungemia due to *Saccharomyces* species in a patient treat with enteral *Saccharomyces boulardii*. *Clin Infect Dis.* 1999; 28:930.
19. Papaemmanouil V, Georgogiannis N, Plega M, Lalaki J, Lydakis D, Dimitriou M, Papadimitriou A. Prevalence and susceptibility of *Saccharomyces cerevisiae* causing vaginitis in Greek women. *Anaerobe.* 2011; 17:298-9.
20. Pardo S, Galvagno MA, Cerruutti P. Estudios de la viabilidad y la vitalidad frente al congelado de la levadura prebiótica *Saccharomyces boulardii*: efecto del precondicionamiento fisiológico. *Rev Iberoam Micol.* 2009; 26: 155-160.
21. Perfect JR, Schell WA. The new fungal opportunists are coming. *Clin Infect Dis.* 1996; 22: 112-8.
22. Richardson M, Lass-Flörl C. Changing epidemiology of systemic fungal infections. *Clin Microbiol Infect.* 2008; 14:5-24.
23. Riquelme AJ, Calvo MA, Guzmán AM, Depix MS, García P, Pérez C, Arrese M, Labarca JA. *Saccharomyces cerevisiae* fungemia after *Saccharomyces boulardii* treatment in immunocompromised patients. *J Clin Gastroenterol.* 2003; 36:41-3.
24. Rohde CL, Bartolini V, Jones N. The use of probiotics in the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea with special interest in *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Nutr Clin Pract.* 2009; 24:33-40.
25. Ruiz-Esquide F, Díaz MC, Wu E, Silva V. Verrucous endocarditis secondary to *Saccharomyces cerevisiae*. A case report. *Rev Med Chil.* 2002; 130:1165-9.

26. Salonen JH, Richardson MD, Gallacher K, Issakainen J, Helenius H, Lehtonen OP, Nikoskelainen J. Fungal colonization of haematological patients receiving cytotoxic chemotherapy: emergence of azole-resistant *Saccharomyces cerevisiae*. *J Hosp Infect.* 2000; 45: 293–301.
27. Silva FHA, Paço FR, Reis E, Amaral V. Infecção por *Saccharomyces cerevisiae* – uma infecção atípica em UTI. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2011; 23:108-111.
28. Skovgaard N. New trends in emerging pathogens. *Int J Food Microbiol.* 2007; 120 :217-24.
29. Smith D, Metzgar D, Wills C, Fierer J. Fatal *Saccharomyces cerevisiae* aortic graft infection. *J Clin Microbiol.* 2002; 40: 2691-2.
30. Stein PD, Folkens AT, Hruska KA. *Saccharomyces* fungemia. *Chest.* 1970; 58:173-5.
31. Thompson GR 3rd, Wiederhold NP, Sutton DA, Fothergill A, Patterson TF. *In vitro* activity of isavuconazole against *Trichosporon*, *Rhodotorula*, *Geotrichum*, *Saccharomyces* and *Pichia* species. *J Antimicrob Chemother.* 2009; 64:79-83.
32. Thygesen JB, Glerup H, Tarp B. *Saccharomyces boulardii* fungemia caused by treatment with a probioticum. *BMJ Case Rep.* 2012; 27:1-2.
33. Williams JS, Mufti GJ, Powell S, Salisbury JR, Higgins EM. *Saccharomyces cerevisiae* emboli in an immunocompromised patient with relapsed acute myeloid leukaemia. *Clin Exp Dermatol.* 2007; 32:395-7.

Tabla 1Características de los pacientes con infección por *S. cerevisiae*.

Paciente	Sexo / Edad (años)	Enfermedad(es) asociada(s)	Condiciones predisponentes	Manifestaciones clínicas	Terapia antimicrobiana previa	Tratamiento	Evolución de la enfermedad
1	M/60	Cáncer de páncreas, insuficiencia renal, desnutrición, anemia	Nutrición parenteral, catéter, sonda nasogástrica	Fiebre	Ampicilina, sulbactam, vancomicina	Fluconazol	Mejoría
2	M/10	Insuficiencia renal, sarcoma de médula ósea	Quimioterapia, catéter	Fiebre	Ciprofloxacina, vancomicina	Ninguno	Fallecimiento
3	M/47	Neoplasia esofágica	No informado	Fiebre	Ninguno	Fluconazol	Mejoría
4	M/47	Diabetes mellitus, insuficiencia renal, trasplante conjugado de riñón y páncreas	Catéter, unidad de cuidados intensivos, ventilación mecánica, sonda vesical	Fiebre	Imipenem, vancomicina	Anfotericina B	Fallecimiento
5	F/84	Osteomielitis, fractura de fémur	Procedimiento quirúrgico	Fiebre; lesiones cutáneas	Vancomicina, amoxicilina, sulbactam	No informado	Mejoría
6	M/82	Insuficiencia cardíaca congestiva, traqueotomía, insuficiencia renal	Drenaje pleural, apoyo nutricional enteral, corticosteroides, desnutrición	No informado	Ampicilina, sulbactam, amoxicilina, piperacilina-tazoctam	Fluconazol	Fallecimiento

F: Femenino; M: Masculino

Tabla 2 Diagnóstico micológico: examen microscópico directo y método automatizado de identificación de especies

Paciente	Fecha	Muestra(s) clínica(s)	Examen directo	ATB Expression	
				Seguridad diagnóstica (%)	Valor T*
1	08/08/2002	Sangre	No realizado	99,7	0,66
2	29/09/2004	Líquido de diálisis peritoneal	Negativo	99,7	0,96
3	20/04/2005	Biopsia de esófago	Negativo	99,7	0,96
4	29/12/2005	Líquido de ascitis	Positivo	99,7	0,96
5	20/11/2009	Orina	Positivo	99,6	0,46
6	17/09/2010	Sangre	No realizado	99,9	0,89

*El valor T es el índice de tipicidad. Es un valor entre 0 y 1 que estima el grado de semejanza del microorganismo testado con el perfil más típico de la especie. Cuanto más cerca de cero, más atípica es la cepa testada. Este valor es utilizado para clasificar la calidad de la identificación.

4.2 Infecção por *Rhodotorula* sp.: revisão clínica de 12 casos

Author names and affiliations

Cristine Souza Goebel

Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS);
Professora Assistente, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA).

Flávio de Mattos Oliveira

Doutor em Ciências Pneumológicas, UFRGS;
Laboratório de Micologia, Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCMPA).

Luiz Carlos Severo

Professor Associado (nível IV), Faculdade de Medicina, UFRGS;
Laboratório de Micologia, ISCMPA; Pesquisador 1B CNPq.

Corresponding author

Luiz Carlos Severo

Professor Associado (nível IV), Faculdade de Medicina, UFRGS;
Laboratório de Micologia, ISCMPA; Pesquisador 1B CNPq.
Rua Prof. Annes Dias, 295, 90020-090 - Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

E-mail: severo@santacasa.tche.br

Tel.: + 55 51 32148409

Fax: + 55 51 32148435

Resumo

Rhodotorula é uma levedura ubíqua encontrada na microbiota humana. Nas duas últimas décadas, este fungo passou a ser reconhecido como um patógeno emergente especialmente em indivíduos imunocomprometidos. Neste trabalho, apresentamos 12 casos de infecção por *Rhodotorula* sp. com relato da apresentação clínica, condição predisponente, terapia utilizada e evolução do paciente. As doenças associadas foram diabetes melito, vírus da imunodeficiência humana, insuficiência renal, neoplasia, transplante de órgãos sólidos. Os fatores predisponentes foram ventilação mecânica, cateter venoso central, procedimentos cirúrgicos, leucopenia, internação em unidade de terapia intensiva. O fluconazol e a anfotericina B foram os antifúngicos utilizados para o tratamento. Cinco dos doze pacientes apresentaram melhora clínica com alta hospitalar e cinco foram a óbito. Para evitar infecções ocasionadas por este agente, devemos ter atenção especial principalmente quando existirem condições predisponentes como imunossupressão (vírus da imunodeficiência humana), doenças graves (doenças hematológicas) ou uso de dispositivos médicos (cateter venoso central). A identificação desta levedura é importante para a decisão terapêutica e estudos epidemiológicos, assim como estudos sobre a eficácia dos antifúngicos são necessários para uma melhor abordagem terapêutica.

Palavras-chave: *Rhodotorula* sp.; Patógeno emergente; Leveduras.

Abstract

Rhodotorula is a yeast found ubiquitously in human microbiota. In the last two decades, this fungus has been recognized as an emerging pathogen especially in immunocompromised individuals. We present 12 cases of infection by *Rhodotorula* sp. with reports of clinical presentation, predisposing condition, therapy used and patient's progress outcomes. Associated diseases are diabetes mellitus, human immunodeficiency virus, renal failure, neoplasia, solid organ transplantation. The predisposing factors were mechanical ventilation, central venous catheter, surgical procedures, leukopenia, admission to the intensive care unit. Fluconazole and amphotericin B were used for antifungal treatment. Five of the twelve patients showed clinical improvement and were discharged and five died. To prevent infections caused by this agent, special attention is required especially when there are predisposing conditions such as immunosuppression (Human immunodeficiency virus), severe illness (blood disorders) or use of medical devices (central venous catheter). The identification of this yeast is important for therapeutic decision and epidemiological studies as well as studies on the effectiveness of antifungal agents are needed to better therapeutic approach.

Keywords: *Rhodotorula* sp.; Emerging pathogen; Yeasts.

INTRODUÇÃO

Rhodotorula é um basidiomiceto da família *Cryptococcaceae* (Diekema *et al.*, 2005). Esta levedura é ubíqua, encontrada na água, no solo, no ar e nas plantas (Ramos *et al.*, 2012), assim como em produtos lácteos e em humanos como colonizadora da pele, trato respiratório, urinário e gastrointestinal (García-Suárez *et al.*, 2010). Tradicionalmente, a *Rhodotorula* sp. era considerada um contaminante, entretanto, nas duas últimas décadas, este fungo passou a ser reconhecido como um patógeno emergente especialmente em indivíduos imunocomprometidos (García-Suárez *et al.*, 2009), sendo a fungemia associada ao uso de cateter venoso central (CVC) a forma mais comum de infecção (Mori *et al.*, 2012).

Neste trabalho, apresentamos 12 casos de infecção por *Rhodotorula* com relato da apresentação clínica, condição predisponente, terapia utilizada e evolução do paciente.

MÉTODOS

Foram revisados retrospectivamente, no período de janeiro de 1994 a dezembro de 2012, 12 casos de infecções por *Rhodotorula* sp. diagnosticados no Laboratório de Micologia, Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCOMPA), Rio Grande do Sul, Brasil. O histórico clínico de cada paciente foi analisado considerando aspectos como sexo, idade, condições predisponentes, doenças associadas, amostras clínicas, terapias utilizadas e evolução clínica.

O diagnóstico micológico foi efetuado mediante exame microscópico e de cultivo do sedimento obtido na centrifugação das amostras de sangue (7), urina (2), líquido cefalorraquidiano (1), secreção de ouvido (1) e secreção epidural (1). No espécime sanguíneo, foi utilizado o sistema de lise-centrifugação (Isolator System, Wampole Labs., EE.UU.), considerado o método de referência para o isolamento de fungos a partir de amostras de sangue (Alexander, 2004).

As amostras de sítio não estéril foram semeadas em ágar Sabouraud (SGA, Difco) com cloranfenicol (Unión Química, Brasil) e incubado a 25°C, e as de sítio estéril foram

semeadas em SGA e ágar infusão cérebro coração (BHI, Biobrás, Brasil) e incubados a 25°C 37°C, respectivamente.

Os cultivos positivos foram analisados macro e microscopicamente e confirmados pelo método automatizado ID 32C - ATB Expression (bioMérieux, Francia). Para a realização deste, utilizou-se colônias recentes (24h) para o preparo de uma suspensão padronizada, em um densitômetro (ATB 1550, bioMérieux), com turvação correspondente ao tubo de número 2 na escala de MacFarland. Esta suspensão foi transferida para um meio semi-sólido sintético (C Medium, bioMérieux) para posterior inoculação em galerias com 32 cúpulas com diferentes substratos desidratados (ID 32C, bioMérieux). Realizou-se, então, a leitura dos testes após 24h, 48h e 72h de incubação a 30°C no equipamento ATB Expression.

RESULTADOS

Os pacientes apresentaram idades entre 35 e 89 anos com mediana de 48 e um predomínio do sexo masculino (8 de 12 pacientes). A principal doença associada foi vírus da imunodeficiência humana (HIV) e os principais fatores predisponentes relacionados foram: CVC, leucopenia, unidade de terapia intensiva (UTI) (Tabela 1). Em relação à manifestação clínica, 8 pacientes apresentaram febre.

No diagnóstico micológico, as colônias isoladas das amostras de urina, sangue, líquido cefalorraquidiano, secreção de ouvido e da secreção epidural, após 3 a 5 dias, foram sempre cremosas a mucóides e de cor alaranjada e a microscopia demonstrou a presença de blastoconídios. As provas bioquímicas interpretadas no ATB Expression identificaram *Rhodotorula* em todas as amostras (Tabela 2). A amostra identificada como *Rhodotorula mucilaginosa* foi confirmada pela reação em cadeia da polimerase (PCR). Com relação à terapêutica, o fluconazol e a anfotericina B foram os antifúngicos utilizados e, com relação à evolução clínica, 5 dos 12 pacientes apresentaram melhora clínica com alta hospitalar e 5 pacientes foram a óbito (Tabela 1).

Tabela 1 – Características dos pacientes com infecção por *Rhodotorula* sp.

Paciente	Sexo/Idade	Condição ou enfermidade associada	Fatores predisponentes	Manifestações clínicas	Terapia antimicrobiana prévia	Terapia antifúngica	Evolução
1	F/42	Espondilodiscite pós-cirurgia de hérnia e osteomielite no pé esquerdo	Unidade de terapia intensiva	Febre	Ciprofloxacina	Não informado	Desconhecido
2	M/49	Neoplasia maligna pulmonar; leucemia mielóide aguda	Leucopenia	Febre	Vancomicina	Anfotericina B	Óbito
3	F/47	Colite por citomegalovirus; candidose	HIV; hepatite C; nutrição parenteral; leucopenia; CVC	Febre	Não informado	Fluconazol* Anfotericina B**	Óbito
4	M/50	Nefropatia crônica; transplante renal	Leucopenia; diabetes; insuficiência renal	Febre	Vancomicina; Imepenem	Não informado	Óbito
5	F/59	Doença pulmonar obstrutiva crônica; candidose	Ventilação mecânica; CVC	Febre	Amoxicilina-Sulbactam; Vancomicina; Imepenem	Cetoconazol* Não informado**	Desconhecido
6	M/47	Cirrose hepática; transplante hepático	Corticóide; aplasia medular; unidade de terapia intensiva	Febre	Vancomicina; Eritromicina	Fluconazol	Melhora clínica
7	F/89	Insuficiência cardíaca e renal; colecistite aguda pós-cirúrgica;	Unidade de terapia intensiva	Não informado	Não informado	Fluconazol	Melhora clínica
8	M/64	Neoplasia maligna dos brônquios e pulmões	Unidade de terapia intensiva; ventilação mecânica; CVC	Febre	Vancomicina	Não informado	Óbito
9	M/42	Colite por citomegalovirus	HIV	Não informado	Não informado	Anfotericina B	Melhora clínica
10	M/35	Tuberculose pulmonar disseminada	HIV; pancitopenia	Não informado	Imepenem	Não informado	Melhora clínica
11	M/46	Otite	Corticóide	Não informado	Cefalexina	Não informado	Melhora clínica
12	M/78	Leucemia mielóide aguda	Leucopenia	Febre	Não informado	Anfotericina B	Óbito

F: feminino; M: masculino; HIV: vírus da imunodeficiência humana; CVC: cateter venoso central.

Candida*. *Rhodotorula*.

Tabela 2 – Diagnóstico micológico: exame microscópico direto e identificação automatizada da levedura.

Paciente	Ano	Amostra	Exame direto	Agente fúngico
1	1994	Secreção epidural do canal medular	Negativo	<i>Rhodotorula</i> sp.
2	2005	Sangue	Não aplicado	<i>Rhodotorula</i> sp.
3	2006	Sangue	Não aplicado	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
4	2006	Urina	Negativo	<i>Rhodotorula glutinis</i>
5	2007	Sangue	Não aplicado	<i>Rhodotorula</i> sp.
6	2007	LCR	Negativo	<i>Rhodotorula</i> sp.
7	2007	Sangue	Não aplicado	<i>Rhodotorula</i> sp.
8	2007	Sangue	Não aplicado	<i>Rhodotorula</i> sp.
9	2008	Urina	Negativo	<i>Rhodotorula</i> sp.
10	2009	Sangue	Não aplicado	<i>Rhodotorula minuta</i>
11	2010	Secreção de ouvido	Negativo	<i>Rhodotorula</i> sp.
12	2012	Sangue	Não aplicado	<i>Rhodotorula glutinis</i>

LCR: Líquido cefalorraquidiano.

DISCUSSÃO

Rhodotorula é um basidiomiceto (Diekema *et al.*, 2005) encontrado no ambiente como água, solo, ar e plantas (Ramos *et al.*, 2012), assim como em produtos lácteos e em humanos como colonizadora da pele, trato respiratório, urinário e gastrointestinal (García-Suárez *et al.*, 2010). Desta forma, por ser uma levedura ubíqua e podendo estar presente em amostras de pele, escarro, urina e fezes (Lunardi *et al.*, 2006), a *Rhodotorula* sp. era considerada como um contaminante, entretanto, nas duas últimas décadas, este fungo passou a ser reconhecido como um patógeno emergente especialmente em indivíduos imunocomprometidos (García-Suárez *et al.*, 2009).

Esta levedura é caracterizada pela produção de pigmentos carotenóides que fazem com que as colônias se apresentem de cor alaranjada (rosa ao vermelho), com a presença de blastoconídios (que podem formar pseudohifas rudimentares), ausência de hifas (Wirth *et al.*, 2012) e ocasionalmente cápsula (Miceli *et al.*, 2011). Entre as espécies de *Rhodotorula* descritas como patógenos humanos, a *R. glutinis*, *R. mucilaginosa* (antigamente denominada *R. rubra* ou *R. pilimanae*) e *R. minuta* são as espécies mais frequentes (Fung, 2009).

As espécies deste gênero geralmente crescem em meio ágar Sabouraud, são urease positivas, não fermentam açúcares e podem assimilar vários carboidratos (Neofytos *et al.*, 2007).

Atualmente, *Rhodotorula* sp. é considerada um agente oportunista emergente, cuja incidência de infecções têm aumentado nos últimos anos (Wirth *et al.*, 2012). O primeiro caso de infecção por *Rhodotorula* foi de um paciente com endocardite em 1960 (Louria *et al.*, 1960). Após este caso, houve relatos também de pacientes com meningite (Pore *et al.*, 1976, Thakur *et al.*, 2007, Shinde *et al.*, 2008), peritonite (Eisenberg *et al.*, 1983; Alothman, 2006), ventriculite (Donald *et al.*, 1988), endoftalmite (Gregory *et al.*, 1992), queratite (Panda *et al.*, 1999; Lifshitz *et al.*, 2005; Rajmane *et al.*, 2011), infecção em prótese femoral (Savini *et al.*, 2008), onicomiose (Da Cunha *et al.*, 2009), infecção cutânea do couro cabeludo (Means *et al.*, 2012) e fungemia (Chung *et al.*, 2002, Zaas *et al.*, 2003, Riedel *et al.*, 2008, Tuon *et al.*, 2007, García-Suárez *et al.*, 2009, Fores *et al.*, 2012, Ramos *et al.*, 2012). De acordo com Wirth e colaboradores (2012), este aumento de

infecções por *Rhodotorula* está relacionado com os avanços da medicina moderna para o manejo de doenças.

A fungemia associada ao uso de CVC é a forma mais comum de infecção (Mori *et al.*, 2012); contudo, o aumento de infecções sanguíneas ocasionadas por este gênero também está relacionado com o aumento de outras modalidades de tratamento como admissão em UTI, nutrição parenteral, uso de antibióticos de amplo espectro, transplantes de órgãos e quimioterapia (Tuon *et al.*, 2008, Wirth *et al.*, 2012). Apesar da maioria das infecções ocasionadas por esta levedura acometerem indivíduos imunocomprometidos (García-Suárez *et al.*, 2009), como pacientes neutropênicos, com doenças malignas (principalmente doenças hematológicas) (Mori *et al.*, 2012) ou com doenças autoimunes (HIV) (Ramos *et al.*, 2012), a fungemia por *Rhodotorula* também já foi relatada em indivíduos imunocompetentes (Villar *et al.*, 2012).

No presente trabalho, revisamos as infecções ocasionadas por *Rhodotorula* nos últimos dezoito anos (1994-2012) na ISCMPA que resultou em 12 pacientes, os quais apresentaram condições associadas similares às descritas na literatura como neoplasias (2 pacientes com neoplasia pulmonar), transplantes (1 renal e 1 hepático), HIV (n=3), leucopenia (n=6), uso de CVC (n=3), uso de ventilação mecânica (VM) (n=2), admissão em UTI (n=4) e procedimentos cirúrgicos (1 cirurgia lombar e 1 cirurgia da vesícula biliar). Em relação à manifestação clínica, a maioria dos pacientes apresentou febre (8 de 12 pacientes). É interessante observar que dos doze pacientes com infecção por *Rhodotorula* sp., 7 pacientes foram identificados pela amostra de sangue, sendo que destes, 6 pacientes apresentavam febre com manifestação clínica. Dos cinco pacientes restantes, dois foram diagnosticados também por amostras de sítios estéreis como LCR (n=1) e secreção do canal medular (n=1), apresentando também febre como manifestação clínica. Três pacientes foram diagnosticados por amostras de sítios não estéreis como urina (n=2) e secreção de ouvido (n=1), sendo que destes, um paciente apresentou febre. Além disso, ressaltamos que os 12 pacientes apresentavam condições ou fatores predisponentes para a infecção fúngica como leucopenia, HIV, CVC, UTI, VM ou uso de corticóide. Em relação ao uso de antibióticos, 8 pacientes iniciaram terapia prévia. O antibiótico mais utilizado foi vancomicina (n=5), seguido de imipenem (n=3), ciprofloxacina (n=1), amoxicilina-sulbactam (n=1), eritromicina (n=1) e cefalexina (n=1). Após a identificação do agente fúngico, o tratamento mais utilizado foi anfotericina B (n=4) e fluconazol (n=2). A literatura indica que espécies de *Rhodotorula* apresentam resistência intrínseca aos triazoles e equinocandinas (Lunardi *et al.*, 2006). Testes de

suscetibilidade *in vitro* demonstraram que a anfotericina B e a flucitosina (5-FC) foram os antifúngicos mais ativos, ao contrário do fluconazol, caspofungina e micafungina, que apresentaram resistência (García-Suárez *et al.*, 2010). Além disso, os novos triazoles podem ser uma alternativa útil, como o ravuconazol que apresentou excelente atividade *in vitro* (Diekema *et al.*, 2005). Outra medida importante além da terapia antifúngica é a remoção do CVC (Zaas *et al.*, 2003). Em relação à evolução clínica, cinco pacientes apresentaram melhora clínica e cinco foram a óbito. Infecções por *Rhodotorula* sp. têm sido associadas com uma taxa de mortalidade de até 15% e podem causar septicemia e outras complicações potencialmente fatais (Diekema *et al.*, 2005; Richardson *et al.*, 2008; Fung *et al.*, 2009). Neste trabalho, não foi possível atribuir a causa dos óbitos.

Em conclusão, *Rhodotorula* sp. é uma levedura emergente que antigamente era considerada um contaminante. Em virtude dos avanços no tratamento médico para o manejo de doenças, os fungos ubíquos oportunistas como a *Rhodotorula* se tornaram patogênicos. Assim, na tentativa de evitar esta situação, devemos ter atenção especial, principalmente quando existirem condições predisponentes. No caso desta levedura, devemos observar mais atentamente condições como imunossupressão (HIV), doenças graves (doenças hematológicas) ou uso de dispositivos médicos (CVC). A identificação desta levedura é importante para a decisão terapêutica e para estudos epidemiológicos. Estudos sobre a eficácia dos antifúngicos também são necessários para uma melhor abordagem terapêutica.

REFERÊNCIAS

1. Diekema DJ, Petroelje B, Messer SA, Hollis RJ, Pfaller MA. Activities of available and investigational antifungal agents against *Rhodotorula* species. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 476-478.
2. Ramos A, Cabero M, Orden B, Ángel-Moreno A, Forés R. Fungemia por *Rhodotorula mucilaginosa*. Presentación de dos casos. *Rev Esp Quimioter* 2012; 25: 76-78.
3. García-Suárez J, Gómez-Herruz P, Cuadros JA, Burgaleta C. Epidemiology and outcome of *Rhodotorula* infection in haematological patients. *Mycoses* 2010; 54: 318-324.
4. García-Suárez J, Gómez-Herruz P, Cuadros JA, Guillén H, Burgaleta C. *Rhodotorula mucilaginosa* catheter-related fungaemia in a patient with multiple myeloma. *Mycoses* 2009; 54: 214-216.
5. Mori T, Nakamura Y, Kato J, Sugita K, Murata M, Kamei K, et. al. Fungemia due to *Rhodotorula mucilaginosa* after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis* 2012; 14:91-94.
6. Alexander BD. Diagnosis of fungal infection: new technologies for the mycology laboratory. *Transpl Infect Dis* 2004; 4: 32-37.
7. Lunardi LW, Aquino VR, Zimmerman RA, Goldani LZ. Epidemiology and outcome of *Rhodotorula* fungemia in a tertiary care hospital. *Clin Infect Dis* 2006; 15: 60-63.
8. Wirth F, Goldani LZ. Epidemiology of *Rhodotorula*: an emerging pathogen. *Interdiscip Perspect Infect Dis* 2012; 2012: 1-7.
9. Miceli MH, Díaz JA, Lee SA. Emerging opportunistic yeast infections. *Lancet Infect Dis* 2011; 11: 142-151.
10. Fung HB, Martyn CA, Shahidi A, Brown ST. *Rhodotorula mucilaginosa* lymphadenitis in an HIV-infected patient. *Int J Infect Dis* 2009; 13: 27-29.
11. Neofytos D, Horn D, De Simone JA Jr. *Rhodotorula mucilaginosa* catheter-related fungemia in a patient with sickle cell disease: case presentation and literature review. *South Med J* 2007; 100: 198-200.
12. Louria DB, Greenberg SM, Molander DW. Fungemia caused by certain nonpathogenic strains of the family *Cryptococcaceae*. Report of two cases due to *Rhodotorula* and *Torulopsis glabrata*. *N Engl J Med* 1960; 263: 1281-1284.
13. Pore RS, Chen J. Meningitis caused by *Rhodotorula*. *Sabouraudia* 1976; 14: 331-335.

14. Thakur K, Singh G, Agarwal S, Rani L. Meningitis caused by *Rhodotorula rubra* in an human immunodeficiency virus infected patient. *Indian J Med Microbiol* 2007; 25: 166-168.
15. Shinde RS, Mantur BG, Patil G, Parande MV, Parande AM. Meningitis due to *Rhodotorula glutinis* in an HIV infected patient. *Indian J Med Microbiol* 2008; 26: 375-377.
16. Eisenberg ES, Alpert BE, Weiss RA, Mittman N, Soeiro R. *Rhodotorula rubra* peritonitis in patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Am J Med* 1983; 75: 349-352.
17. Alothman A. *Rhodotorula* species peritonitis in a liver transplant recipient: a case report. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2006; 17: 47-49.
18. Donald FE, Sharp JF, Firth JL, Crowley JL, Ispahani P. *Rhodotorula rubra* ventriculitis. *J Infect* 1988; 16: 187-191.
19. Gregory JK, Haller JA. Chronic postoperative *Rhodotorula* endophthalmitis. *Arch Ophthalmol* 1992; 110: 1686-1687.
20. Panda A, Pushker N, Nainiwal S, Satpathy G, Nayak N. *Rhodotorula* sp. infection in corneal interface following lamellar keratoplasty--a case report. *Acta Ophthalmol Scand* 1999; 77: 227-228.
21. Lifshitz T, Levy J. *Rhodotorula rubra* keratitis and melting after repeated penetrating keratoplasty. *Eur J Ophthalmol* 2005; 15: 135-137.
22. Rajmane VS, Rajmane ST, Ghatole MP. *Rhodotorula* species infection in traumatic keratitis--a case report. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011; 71: 428-429.
23. Savini V, Sozio F, Catavittello C, Talia M, Manna A, Febbo F, et.al. Femoral prosthesis infection by *Rhodotorula mucilaginosa*. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 3544-3445.
24. Da Cunha MM, Dos Santos LP, Dornelas-Ribeiro M, Vermelho AB, Rozental S. Identification, antifungal susceptibility and scanning electron microscopy of a keratinolytic strain of *Rhodotorula mucilaginosa*: a primary causative agent of onychomycosis. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2009; 55: 396-403.
25. Means AD, Sisto K, Lichon V, Monaghan D, O'Keefe P, Tung R. Cutaneous *Rhodotorula* treated with photodynamic therapy. *Dermatol Surg* 2012; 38: 1100-1103.
26. Chung JW, Kim BN, Kim YS. Central venous catheter-related *Rhodotorula rubra* fungemia. *J Infect Chemother* 2002; 8: 109-110.

27. Zaas AK, Boyce M, Schell W, Lodge BA, Miller JL, Perfect JR. Risk of fungemia due to *Rhodotorula* and antifungal susceptibility testing of *Rhodotorula* isolates. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 5233-5235.
28. Riedel DJ, Johnson JK, Forrest GN. *Rhodotorula glutinis* fungemia in a liver-kidney transplant patient *Transpl Infect Dis* 2008; 10: 197-200.
29. Tuon FF, de Almeida GM, Costa SF. Central venous catheter-associated fungemia due to *Rhodotorula* spp. --a systematic review. *Med Mycol* 2007; 45: 441-447.
30. Forés R, Ramos A, Orden B, de Laiglesia A, Bautista G, Cabero M, et. al. *Rhodotorula* species fungaemia causes low mortality in haematopoietic stem-cell transplantation. A case report and review. *Mycoses* 2012; 55: 158-162.
31. Tuon FF, Costa SF. *Rhodotorula* infection. A systematic review of 128 cases from literature. *Rev Iberoam Micol* 2008; 25: 135-140.
32. Richardson M, Lass-Flörl C. Changing epidemiology of systemic fungal infections. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 5-24.
33. Villar JM, Velasco CG, Delgado JD. Fungemia due to *Rhodotorula mucilaginosa* in an immunocompetent, critically ill patient. *J Infect Chemother* 2012; 18: 581-583.

4.3 Infecção por *Kodamaea (Pichia) ohmeri*: revisão clínica de 6 casos

Author names and affiliations

Cristine Souza Goebel

Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS);

Professora Assistente, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA).

Flávio de Mattos Oliveira

Doutor em Ciências Pneumológicas, UFRGS;

Laboratório de Micologia, Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCOMPA).

Sydney Hartz Alves

Professor Associado (nível IV), Universidade Federal de Santa Maria; Pesquisador 1D CNPq.

Luiz Carlos Severo

Professor Associado (nível IV), Faculdade de Medicina, UFRGS;

Laboratório de Micologia, ISCOMPA; Pesquisador 1B CNPq.

Corresponding author

Luiz Carlos Severo

Professor Associado (nível IV), Faculdade de Medicina, UFRGS;

Laboratório de Micologia, ISCOMPA; Pesquisador 1B CNPq.

Rua Prof. Annes Dias, 295, 90020-090 - Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

E-mail: severo@santacasa.tche.br

Tel.: + 55 51 32148409

Fax: + 55 51 32148435

Resumo

Kodamaea ohmeri é atualmente considerada como um patógeno emergente responsável por infecções principalmente em pacientes imunocomprometidos. Neste trabalho, apresentamos seis casos de infecção por *K. ohmeri* descrevendo condição predisponente, terapia utilizada e evolução do paciente. As principais condições associadas foram insuficiência renal e cardíaca e entre os fatores predisponentes destacaram-se os procedimentos cirúrgicos/transplantes e internação em unidade de terapia intensiva. Em relação à manifestação clínica, três pacientes apresentaram febre. O fluconazol foi o antifúngico mais utilizado para o tratamento. A identificação desta levedura é importante para a decisão terapêutica e para estudos epidemiológicos. Estudos envolvendo a suscetibilidade deste microrganismo aos antifúngicos podem contribuir para uma melhor abordagem terapêutica.

Palavras-chave: *Kodamaea ohmeri*; Patógeno emergente; Leveduras.

Abstract

Kodamaea ohmeri is currently considered an emerging pathogen responsible for infections especially in immunocompromised patients. We present 6 cases of infection with *K. ohmeri* describing predisposing condition, used therapy and patient's progress. The main associated condition was with renal and heart failure and among predisposing factors surgical procedures/transplant and hospitalization in the intensive care unit stand out. Regarding the clinical manifestation, 3 patients had fever. Fluconazole was the most widely used antifungal for the treatment. The identification of this yeast is important for therapeutic decisions and for epidemiological studies. Studies involving this microorganism susceptibility to antifungal agents may contribute to a better therapeutic approach.

Keywords: *Kodamaea ohmeri*; Emerging Pathogen; Yeasts.

INTRODUÇÃO

Kodamaea ohmeri, anteriormente conhecida como *Pichia ohmeri* ou *Yamadazyma ohmeri*, é um fungo pertencente à família *Saccharomycetaceae* (Yamada *et al.* 1995, Han *et al.* 2004). Esta levedura é comumente utilizada na indústria alimentícia (Taj-Aldeen *et al.*, 2006) e seu envolvimento em infecções em humanos é raro. Contudo, recentemente a *K. ohmeri* emergiu como um importante patógeno principalmente em pacientes imunocomprometidos (Al-Sweih *et al.*, 2011).

Neste trabalho, apresentamos seis casos de infecção por *K. ohmeri* com relato da apresentação clínica, condição predisponente, terapia utilizada e evolução dos pacientes.

MÉTODOS

Foram revisados retrospectivamente, no período de janeiro de 2000 a março de 2013, seis casos de infecções por *K. ohmeri* diagnosticados no Laboratório de Micologia, Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCOMPA), Rio Grande do Sul, Brasil. O histórico clínico de cada paciente foi analisado considerando aspectos como sexo, idade, condições predisponentes, doenças associadas, amostras clínicas, terapias utilizadas e evolução clínica.

O diagnóstico micológico foi efetuado mediante exame microscópico e de cultivo do sedimento obtido na centrifugação das amostras de sangue (3), líquido de diálise (1), urina (1) e biópsia vertebral (1). Para o espécime sanguíneo, foi utilizado o sistema de lise-centrifugação (Isolator System, Wampole Labs., EE.UU.), considerado o método de referência para o isolamento de fungos a partir de amostras de sangue (Alexander, 2004).

As amostras de sítio não estéril foram semeadas em ágar Sabouraud (SGA, Difco) com cloranfenicol (Unión Química, Brasil) e incubadas a 25°C, e as amostras de sítio estéril foram semeadas em SGA e ágar infusão cérebro coração (BHI, Biobrás, Brasil) e incubadas a 25°C e 37°C, respectivamente.

Os cultivos positivos foram analisados macro e microscopicamente e confirmados pelo método automatizado ID 32C - ATB Expression (bioMérieux, França). Para a realização deste, utilizou-se colônias recentes (24h) para o preparo de uma suspensão

padronizada, em um densitômetro (ATB 1550, bioMérieux), com turvação correspondente ao tubo de número 2 na escala de MacFarland. Esta suspensão foi transferida para um meio semi-sólido sintético (C Medium, bioMérieux) para posterior inoculação em galerias com 32 cúpulas com diferentes substratos desidratados (ID 32C, bioMérieux). Realizou-se, então, a leitura dos testes após 24h, 48h e 72h de incubação a 30°C no equipamento ATB Expression. Para a amostra de biópsia vertebral, realizou-se adicionalmente uma análise de sequenciamento da região 26S rDNA D1/D2 para confirmar a identificação da espécie. A extração de DNA, a amplificação da região D1/D2 e o *Heteroduplex Mobility Assay* (HMA) foram realizados conforme descrição de Ramos (2006) com algumas modificações para a simplificação do método. Para o sequenciamento, utilizou-se o método dye-terminator (Applied Biosystems, USA).

RESULTADOS

Os pacientes apresentaram idades entre 22 e 73 anos com mediana de 54,5 e um predomínio do sexo feminino (4 de 6 pacientes).

As principais condições associadas foram insuficiência renal e cardíaca e os principais fatores predisponentes foram procedimentos cirúrgicos/transplantes e internação em unidade de terapia intensiva (UTI) (Tabela 1). Três pacientes apresentaram febre como manifestação clínica.

No diagnóstico micológico, as colônias isoladas nos cultivos das amostras de sangue, líquido de diálise e biópsia vertebral, após 3 a 5 dias, foram sempre cremosas à mucóides e de cor branca a bege e a microscopia demonstrou a presença de levedura ascosporada. As provas bioquímicas interpretadas no ATB Expression identificaram *K.ohmeri* em todas as amostras (Tabela 2). A amostra da biópsia vertebral foi confirmada pela reação em cadeia da polimerase (PCR) e sequenciamento (número de acesso do GenBank HQ451986.1). Em relação à terapêutica, o fluconazol foi o principal antifúngico utilizado; em relação à evolução clínica, 1 paciente foi a óbito (Tabela 1).

Tabela 1 – Características dos pacientes com infecção por *Kodamaea ohmeri*.

Caso	Sexo/ Idade	Condição e/ou enfermidade associada	Fatores predisponentes	Manifestaçõ es clínicas	Terapia		Evolução
					Antimicrobiana prévia	Antifúngica	
1	F/73	Insuficiência cardíaca; Pneumonia; Anemia	Unidade de terapia intensiva (UTI)	Nenhuma	Cefuroxima	Não informado	Melhora clínica
2	F/22	Insuficiência cardíaca; Pneumonia; Anemia	Transplantada renal	Nenhuma	Não informado	Fluconazol	Melhora clínica
3	M/45	Embolia pulmonar; Insuficiência renal	UTI	Febre	Cefuroxima	Fluconazol, Anfotericina B	Melhora clínica
4	M/64	Discite; Anemia; Linfopenia	Cirurgia lombar; UTI	Febre	Penicilina; Cefepima; Clindamicina	Não informado	Melhora clínica
5	F/71	Obstrução intestinal - Laparotomia	Diabetes; cateter venoso central; ventilação mecânica	Febre	Amoxicilina-Sulbactam; Piperacilina – Tazobactam (pipe-tazo)	Fluconazol	Óbito
6	F/44	Insuficiência renal	Transplantada renal; corticóide	Não informado	Amoxicilina; Ceftazidime	Não informado	Melhora clínica

F: Feminino; M: Masculino

Tabela 2 – Diagnóstico micológico: exame microscópico direto e identificação da espécie.

Paciente	Ano	Amostra clínica	Exame Direto	ATB Expression	
				Confiabilidade diagnóstica (%)	Valor T*
1	2002	Sangue	Não aplicado	98	0,45
2	2002	Líquido de diálise	Negativo	97,6	0,28
3	2002	Sangue	Não aplicado	99,9	0,72
4	2007	Biópsia vertebral	Negativo	99,9	1
5	2010	Sangue	Não aplicado	99,9	1
6	2013	Urina	Negativo	98,2	0,43

*O Valor T é um índice de tipicidade. É um valor entre 0 e 1 que estima o grau de semelhança do microrganismo testado com o perfil mais típico da espécie. Quanto mais próximo de 0, diz-se que mais atípica é a cepa analisada. Estes valores são utilizados para classificar a qualidade da identificação

DISCUSSÃO

Nos últimos anos, várias espécies de leveduras estão sendo descritas como patógenos emergentes (García-Tapia *et al.*, 2007) e este aumento das infecções fúngicas está relacionado com os avanços da medicina moderna para o manejo de doenças (Costa *et al.*, 2000). Dentre estas leveduras, podemos citar as do gênero *Kodamaea* e as do gênero *Pichia* (anteriormente denominado de *Yamadazyma* ou *Hansenula*). Estes dois gêneros pertencem a família *Saccharomycetaceae* e são da classe dos ascomicetos (Liu, 2011).

Os fungos são classificados primariamente de acordo com as suas estruturas de reprodução sexuada (teleomorfo). No caso destes dois gêneros, a estrutura de reprodução sexuada é o asco que pode conter de 4 a 8 ascósporos. Entretanto, em alguns fungos são observadas apenas estruturas de reprodução assexuada (anamorfo). Desta forma, existe uma nomenclatura diferente para um mesmo fungo, o qual dependerá da estrutura observada (sexuada ou assexuada) (Sundaram *et al.*, 2011).

A representação do gênero *Pichia*, quando observadas estruturas de reprodução assexuada, se denomina *Candida* que apresenta estruturas como blastoconídios, hifas hialinas septadas e pseudohifas. O gênero *Pichia* compreende várias espécies entre elas *P. anomala* (anamorfo: *Candida pelliculosa*), *P. fabiani* (anamorfo: *C. fabiani*), *P.*

farinosa (anamorfo: *C. cacaoi*), *P. guilliermondi* (anamorfo: *C. guilliermondi* var. *guilliermondi*), *P. norvogensis* (anamorfo: *C. norvogensis*) (Liu, 2011).

O gênero *Kodamaea* compreende cinco espécies, entre elas *K. anthropila*, *K. kakaduensis*, *K. laetipori*, *K. nitidulidarum*, *K. ohmeri* (Sundaram *et al.*, 2011). Esta última era anteriormente conhecida como *Pichia ohmeri* ou *Yamadazyma ohmeri* (Yamada *et al.* 1995). Dentre estas, a *K. ohmeri* é de maior importância e quando observada a estrutura de reprodução assexuada (anamorfo) ela recebe o nome de *C. guilliermondii* var. *membranaefaciens*.

K. ohmeri é comumente utilizada na indústria alimentícia para a fermentação de vegetais utilizados em salmoura, cascas e frutas. Contudo, atualmente esta levedura é considerada como um patógeno emergente principalmente em pacientes imunocomprometidos (Lee *et al.*, 2007).

O primeiro caso de infecção por *K. ohmeri* foi em 1998 em uma paciente diabética de 48 anos que apresentou fungemia e foi a óbito apesar do tratamento com anfotericina B (Bergman *et al.*, 1998). Em 2011, Sundaram e colaboradores relataram a existência de 20 casos na literatura relacionados com infecções por este agente fúngico (Sundaram *et al.*, 2011). Além da fungemia (Bergman *et al.*, 1998; Taj-Aldeen *et al.* 2006; Poorjari *et al.*, 2009) outras síndromes clínicas ocasionadas por esta levedura foram relatadas como fungemia associada a celulite (Han *et al.*, 2004; Yang *et al.*, 2009) ou associada a flebite (Shin *et al.*, 2003), endocardite (João *et al.*, 2002; Reina *et al.*, 2002), peritonite (Choy *et al.*, 2000), fungúria (Puerto *et al.*, 2002) e onicomicose (González-Avila *et al.*, 2011). Entre as doenças ou fatores de risco mais associados estão diabetes, transplante, uso de cateter, cirurgia, neutropenia, hospitalização prolongada e prematuridade.

No presente trabalho, revisamos seis casos de infecção por *K. ohmeri*, os quais apresentaram condições associadas similares às descritas na literatura como internação em unidade de terapia intensiva (n=3), procedimentos cirúrgicos (n=2), transplante (n=2), diabetes (n=1), uso de cateter venoso central (n=1), corticóide (n=1) e ventilação mecânica (n=1). Em relação às manifestações clínicas, 50% dos pacientes apresentaram febre. Ressaltamos que dos seis pacientes com infecção por *Kodamaea ohmeri*, cinco foram diagnosticados por amostras de sítios estéreis como sangue (n=3), biópsia vertebral (n=1) e líquido de diálise (n=1) e destes, três apresentaram febre como manifestação clínica. Um paciente foi diagnosticado por amostra de sítio não estéril, urina (n=1), e através da revisão do prontuário não foi possível determinar as manifestações clínicas. É importante observar que todos os pacientes apresentaram condições e/ou fatores

predisponentes para a infecção fúngica como imunossupressão (transplantados), CVC, UTI ou VM. Em relação ao uso de antibióticos, 83% pacientes iniciaram terapia prévia. Após a identificação do agente fúngico, o tratamento mais utilizado foi o fluconazol (n=3). A literatura indica que espécies de *K. ohmeri* são suscetíveis a anfotericina B (Yang *et al.*, 2009; Sundaram *et al.*, 2011). Shaaban e colaboradores relataram também a suscetibilidade desta levedura frente à micafungina (Shaaban *et al.*, 2010). Contudo, há relatos que alguns isolados de *K. ohmeri* apresentam suscetibilidade dose-dependente frente ao fluconazol e ao itraconazol (Han *et al.*, 2004; Shin *et al.*, 2003; García-Tapia *et al.*, 2007; Sundaram *et al.*, 2011). Relacionado a este fato, a literatura também indica uma alta mortalidade associada com este agente fúngico. No presente trabalho, apenas 1 paciente foi a óbito, não sendo possível estabelecer se a causa foi consequência da infecção por *K. ohmeri*, sendo o mais provável que o falecimento tenha ocorrido devido à evolução da respectiva doença de base.

Em conclusão, *K. ohmeri* é uma levedura emergente considerada atualmente como importante causadora de infecção. A identificação desta levedura é importante para a decisão terapêutica e estudos epidemiológicos. Estudos sobre a eficácia dos antifúngicos são necessários para uma melhor abordagem terapêutica uma vez observada a suscetibilidade dose-dependente e mortalidade relacionada com alguns isolados.

REFERÊNCIAS

1. Yamada Y, Suzuki T, Matsuda M, Mikata K. The phylogeny of *Yamadazyma ohmeri* (Etchells et Bell) Billon-Grand based on the partial sequences of 18S and 26S ribosomal RNAs: the proposal of *Kodamaea* gen. nov. (Saccharomycetaceae). *Biosci Biotechnol Biochem*. 1995; 59: 1172-1174.
2. Han XY, Tarrand JJ, Escudero E. Infections by the yeast *Kodamaea* (*Pichia*) *ohmeri*: two cases and literature review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23: 127-130.
3. Taj-Aldeen SJ, Doiphode SH, Han XY. *Kodamaea* (*Pichia*) *ohmeri* fungaemia in a premature neonate. *J Med Microbiol* 2006; 55: 237-239.
4. Al-Sweih N, Khan ZU, Ahmad S, Devarajan L, Khan S, Joseph L, Chandy R. *Kodamaea ohmeri* as an emerging pathogen: a case report and review of the literature. *Med Mycol* 2011; 49:766-770.
5. Alexander BD. Diagnosis of fungal infection: new technologies for the mycology laboratory. *Transpl Infect Dis* 2004; 4: 32-37.
6. Ramos JP, Rosa CA, Carvalho EM, Leoncini O, Valente P. Heteroduplex mobility assay of the 26S rDNA D1/D2 region for differentiation of clinically relevant *Candida* species. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2006; 89: 39-44.
7. García-Tapia A, García-Agudo R, Marín P, Conejo JL, García-Martos P. *Kodamaea ohmeri* fungemia associated with surgery. *Rev Iberoam Micol* 2007; 24: 155-156.
8. Costa SF, Marinho I, Araújo EA, Manrique AE, Medeiros EA, Levin AS. Nosocomial fungaemia: a 2-year prospective study. *J Hosp Infect* 2000; 45: 69-72.
9. Liu Dongyou. *Pichia* and *Kodamaea* In: *Molecular Detection of Human Fungal Pathogens*. CRC Press (Ed.). New South Wales, Australia, 2011: 595-600.
10. Sundaram PS, Bijulal S, Tharakan JA, Antony M. *Kodamaea ohmeri* tricuspid valve endocarditis with right ventricular inflow obstruction in a neonate with structurally normal heart. *Ann Pediatr Cardiol* 2011; 4: 77-80.
11. Lee JS, Shin JH, Kim MN, Jung SI, Park KH, Cho D, Kee SJ, Shin MG, Suh SP, Ryang DW. *Kodamaea ohmeri* isolates from patients in a university hospital: identification, antifungal susceptibility, and pulsed-field gel electrophoresis analysis. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 1005-1010.
12. Bergman MM, Gagnon D, Doern GV. *Pichia ohmeri* fungemia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998; 30: 229-231.

13. Poojary A, Sapre G. Kodamaea ohmeri infection in a neonate. *Indian Pediatr* 2009; 46: 629-631.
14. Yang BH, Peng MY, Hou SJ, Sun JR, Lee SY, Lu JJ. Fluconazole-resistant *Kodamaea ohmeri* fungemia associated with cellulitis: case report and review of the literature. *Int J Infect Dis* 2009; 13: 493-497.
15. Shin DH, Park JH, Shin JH, Suh SP, Ryang DW, Kim SJ. *Pichia ohmeri* fungemia associated with phlebitis: successful treatment with amphotericin B. *J Infect Chemother* 2003; 9: 88-89.
16. João I, Duarte J, Cotrim C, Rodrigues A, Martins C, Fazendas P, Oliveira LM, Diogo J, Carrageta M. Native valve endocarditis due to *Pichia ohmeri*. *Heart Vessels* 2002; 16: 260-263.
17. Reina JP, Larone DH, Sabetta JR, Krieger KK, Hartman BJ. *Pichia ohmeri* prosthetic valve endocarditis and review of the literature. *Scand J Infect Dis* 2002; 34: 140-141.
18. Choy BY, Wong SS, Chan TM, Lai KN. *Pichia ohmeri* peritonitis in a patient on CAPD: response to treatment with amphotericin. *Perit Dial Int* 2000; 20: 91.
19. Puerto JL, García-Martos P, Saldarreaga A, Ruiz-Aragón J, García-Agudo R, Aoufi S. First report of urinary tract infection due to *Pichia ohmeri*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002; 21: 630-631.
20. González-Avila M, Gómez-Gómez JV, Taxis AP, Imbert-Palafox JL, Becerril-Flores MA, Blasco JL. Uncommon fungi isolated from diabetic patients toenails with or without visible onychomycoses. *Mycopathologia* 2011; 172: 207-213.

4.4 Infecção por *Trichosporon* sp.: revisão clínica de 77 casos

Author names and affiliations

Cristine Souza Goebel

Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS);
Professora Assistente, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA).

Mirelen Moura de Oliveira Rodrigues

Acadêmica do Curso de Biomedicina da UFCSPA.
Bolsista de Iniciação científica – CNPq.

Flávio de Mattos Oliveira

Doutor em Ciências Pneumológicas, UFRGS;
Laboratório de Micologia, Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCMPA).

Luiz Carlos Severo

Professor Associado (nível IV), Faculdade de Medicina, UFRGS;
Laboratório de Micologia, ISCMPA; Pesquisador 1B CNPq.

Corresponding author

Luiz Carlos Severo

Professor Associado (nível IV), Faculdade de Medicina, UFRGS;
Laboratório de Micologia, ISCMPA; Pesquisador 1B CNPq.
Rua Prof. Annes Dias, 295, 90020-090 - Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

E-mail: severo@santacasa.tche.br

Tel.: + 55 51 32148409

Fax: + 55 51 32148435

Resumo

Trichosporon sp. atualmente é considerado como um patógeno emergente responsável por infecções principalmente em pacientes imunocomprometidos. Neste trabalho, apresentamos 77 casos de infecção por esta levedura com relato da apresentação clínica, condição predisponente, terapia utilizada e evolução do paciente. A principal condição/ doenças associada foi insuficiência renal e os principais fatores predisponentes foram internação em unidade de terapia intensiva, uso de cateter venoso, procedimentos cirúrgicos e ventilação mecânica. Em relação à manifestação clínica, 27 pacientes apresentaram febre. O antifúngico mais utilizado para o tratamento foi o fluconazol. A identificação desta levedura é importante para a decisão terapêutica e para estudos epidemiológicos. Estudos sobre a eficácia dos antifúngicos também são necessários para uma melhor abordagem terapêutica.

Palavras-chave: *Trichosporon*; Patógeno emergente; Leveduras.

Abstract

Trichosporon sp. is now considered as an emerging pathogen responsible for infections especially in immunocompromised patients. We present 77 cases of infection by this yeast with reports of clinical presentation, predisposing condition, therapy used, and patient outcomes. The main condition / disease was associated with renal failure and the main predisposing factors were hospitalization in the intensive care unit, venous catheters, surgical procedures and mechanical ventilation. Regarding the clinical manifestation, 27 patients had fever. The most used antifungal treatment was fluconazole. The identification of this yeast is important for therapeutic decisions and for epidemiological studies. Studies on the effectiveness of antifungals are also needed to better therapeutic approach.

Keywords: *Trichosporon*; Emerging pathogen; Yeasts.

INTRODUÇÃO

Trichosporon sp. é um basidiomiceto ubíquo que pode ser encontrado no solo, na água e também na microbiota humana como no trato gastrointestinal, respiratório e na pele (Heslop *et al.*, 2011). O gênero compreende 50 espécies e destas, apenas 16 espécies apresentam relevância clínica (Colombo *et al.*, 2011).

Nos últimos 20 anos, *Trichosporon* spp. têm sido reconhecidas como patógenos oportunistas, causadores de infecções invasivas principalmente em pacientes imunocomprometidos (Ruan *et al.*, 2009).

Neste trabalho, apresentamos 77 casos de infecção por *Trichosporon* sp. com relato da apresentação clínica, condição predisponente, terapia utilizada e evolução dos pacientes.

MÉTODOS

Foram revisados retrospectivamente, no período de janeiro de 1997 a março de 2013, 77 casos de infecções por *Trichosporon* sp. diagnosticados no Laboratório de Micologia, Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCOMPA), Rio Grande do Sul, Brasil. O histórico clínico de cada paciente foi analisado considerando aspectos como sexo, idade, condições predisponentes, doenças associadas, amostras clínicas, terapias utilizadas e evolução clínica.

O diagnóstico micológico foi efetuado mediante exame microscópico e de cultivo do sedimento obtido na centrifugação das amostras de urina (n=56), sangue (n=11), líquido pleural (n=3), líquido de ascite (n=2), líquido de diálise (n=1), líquido articular (n=1), líquido peritoneal (n=1), líquido pericárdico (n=1), suco nasogeniano (n=1) e das amostras do material do conduto auditivo (n=1), do abscesso de abdômen (n=1) e dos moldes brônquicos (n=1). Para o espécime sanguíneo, foi utilizado o sistema de lise-centrifugação (Isolator System, Wampole Labs., EE.UU.), considerado o método de referência para o isolamento de fungos a partir de amostras de sangue (Alexander, 2004).

As amostras de sítio não estéril foram semeadas em ágar Sabouraud (SGA, Difco) com cloranfenicol (Unión Química, Brasil) e incubado a 25°C e as de sítio estéril foram

semeadas em SGA e ágar infusão cérebro coração (BHI, Biobrás, Brasil) e incubados a 25°C e 37°C, respectivamente.

Os cultivos positivos foram analisados macro e microscopicamente e confirmados pelo método automatizado ID 32C - ATB Expression (bioMérieux, Francia). Para a realização deste, utilizou-se colônias recentes (24h) para o preparo de uma suspensão padronizada, em um densitômetro (ATB 1550, bioMérieux), com turvação correspondente ao tubo de número 2 na escala de MacFarland. Esta suspensão foi transferida para um meio semi-sólido sintético (C Medium, bioMérieux) para posterior inoculação em galerias com 32 cúpulas com diferentes substratos desidratados (ID 32C, bioMérieux). Realizou-se, então, a leitura dos testes após 24h, 48h e 72h de incubação a 30°C no equipamento ATB Expression.

RESULTADOS

Os pacientes apresentaram idades entre 01 a 84 anos com mediana de 51 e um predomínio do sexo masculino (50 de 77 pacientes). Para a revisão clínica, somente 44 prontuários foram resgatados dos arquivos da ISCMPA.

A principal condição/doença associada foi insuficiência renal e os principais fatores predisponentes relacionados foram internação em unidade de terapia intensiva (UTI), uso de cateter venoso central (CVC), procedimentos cirúrgicos e ventilação mecânica (Tabela 1). Vinte e sete pacientes apresentaram febre como manifestação clínica.

No diagnóstico micológico, as colônias isoladas, após 3 a 5 dias, foram cerebriformes, de cor branca a bege e a microscopia demonstrou a presença de hifas hialinas e artroconídios. As provas bioquímicas interpretadas no ATB Expression identificaram o gênero *Trichosporon* em todas as amostras (Tabela 2). Em relação à terapêutica, o fluconazol foi o principal antifúngico utilizado e, com relação à evolução clínica, 19 pacientes apresentaram melhora clínica e 17 pacientes foram a óbito (Tabela 1).

Tabela 1 – Características dos pacientes com infecção por *Trichosporon* sp.

Paciente	Sexo/ Idade	Condição ou enfermidade associada	Fator predisponente	Manifestação clínica	Terapia antimicrobiana prévia	Antifúngico	Evolução
1	F/7	Colesteatoma	Procedimento cirúrgico; quimioterapia; unidade de terapia intensiva; ventilação mecânica	Não informado	Não informado	Não informado	Desconhecida
2	M/71	DPOC, insuficiência respiratória, insuficiência renal	Cateter venoso central; corticóides; ventilação mecânica; unidade de terapia intensiva;	Febre; lesão cutânea	Ampicilina-sulbactam; Cefepime; Imipinem Piperacilina – Tazobactam; Ciprofloxacina	Fluconazol; Anfotericina B	Óbito
3	M/71	Leucemia	Quimioterapia	Febre	Vacomicina; Levofloxacina; Piperacilina – Tazobactam	Fluconazol	Óbito
4	F/24	Insuficiência renal	Transplante renal; cateter venoso central	Nenhuma	Vacomicina; Sulfametoxazol; Trimetoprim	Não informado	Melhora
5	M/58	Leucemia mielóide aguda; diabetes	Quimioterapia; neutropenia; ventilação mecânica; cateter venoso central; unidade de terapia intensiva	Febre	Não informado	Fluconazol; Anfotericina B; Caspofungina; Itraconazol	Óbito
6	M/34	Insuficiência renal; diabetes	Transplante de rim e pâncreas; cateter venoso central; unidade de terapia intensiva; ventilação mecânica	Não informado	Não informado	Não informado	Óbito
7	F/30	Insuficiência renal; diabetes	Transplante de rim e pâncreas; cateter venoso central; unidade de terapia intensiva; corticóide	Febre	Vacomicina; Sulfametoxazol; Trimetoprim; Ciprofloxacina	Fluconazol	Melhora
8	F/37	Leucemia mielóide crônica	Transplante de medula óssea; cateter venoso central	Febre; lesão cutânea	Amoxicilina; Sulfametoxazol; Trimetoprim; Ciprofloxacina	Fluconazol	Melhora
9	M/62	Insuficiência renal; diabetes	Transplante renal; imunossupressão; unidade de terapia intensiva	Febre	Sulfametoxazol; Trimetoprim; Cefepime	Fluconazol	Melhora
10	M/68	Insuficiência renal	Transplante renal; imunossupressão; unidade de terapia intensiva	Febre	Imipinem; Piperacilina – Tazobactam; Vancomicina	Fluconazol	Melhora
11	M/60	Insuficiência renal	Transplante renal; unidade de terapia intensiva; neutropenia; corticóides; ventilação mecânica; cateter venoso central	Febre	Vancomicina; Imipinem	Fluconazol	Óbito
12	F/43	Osteomielite	Procedimento cirúrgico; corticóide	Febre	Amoxicilina-sulbactam; Vancomicina; Ciprofloxacina; Piperacilina – Tazobactam	Fluconazol; Anfotericina B; Itraconazol	Óbito
13	F/53	Cirrose; hepatite B	Transplante hepático; cateter venoso central; unidade de terapia intensiva	Nenhuma	Vancomicina	Não informado	Melhora
14	F/36	Cirrose; hepatite B	Transplante hepático; unidade de terapia intensiva; imunossupressores	Não informado	Não informado	Não informado	Desconhecida
15	F/31	Insuficiência renal; diabetes	Transplante de rim e pâncreas; cateter venoso central; unidade de terapia intensiva; corticóide	Febre	Amoxicilina-sulbactam; Piperacilina – Tazobactam	Fluconazol	Melhora

...continuação

Paciente	Sexo/ Idade	Condição ou enfermidade associada	Fator predisponente	Manifestação clínica	Terapia antimicrobiana prévia	Antifúngico	Evolução
16	M/41	Dispneia; sopro cardíaco	Corticóide	Não informado	Não informado	Não informado	Desconhecida
17	M/72	Insuficiência respiratória	Procedimento cirúrgico; ventilação mecânica; unidade de terapia intensiva; corticóide	Febre	Vancomicina; Imipinem	Fluconazol	Melhora
18	F/81	DPOC; insuficiência respiratória	Ventilação mecânica; corticóide	Febre	Amoxicilina-sulbactam; Vancomicina; Cefepime; Imipinem	Fluconazol	Óbito
19	M/39	Fibrose pulmonar; insuficiência respiratória	Procedimento cirúrgico; cateter venoso central; unidade de terapia intensiva; ventilação mecânica; corticóides	Febre	Não informado	Fluconazol	Melhora
20	F/55	Insuficiência hepática	Não informado	Febre	Não informado	Não informado	Desconhecida
21	M/54	Diabetes	Transplante pulmonar; unidade de terapia intensiva; ventilação mecânica; corticóides	Não informado	Não informado	Não informado	Óbito
22	F/48	Fibrose pulmonar; dispneia	Corticóide	Não informado	Não informado	Não informado	Desconhecida
23	M/70	DPOC; diabetes; insuficiência renal; câncer de pulmão	Procedimento cirúrgico; ventilação mecânica	Não informado	Sulfametoxazol - trimetoprim; Ampicilina; Cefepime; Imipinem	Fluconazol	Melhora
24	F/3	Leucemia	Quimioterapia; transplante de medula óssea	Não informado	Não informado	Não informado	Desconhecida
25	M/9	Doença de estômago e duodeno	Não informado	Não informado	Bactrim; Metronidazol	Não informado	Melhora
26	M/4	Cardiopatía congênita cianótica	Procedimento cirúrgico; unidade de terapia intensiva	Não informado	Não informado	Não informado	Desconhecida
27	M/57	Insuficiência renal	Procedimento cirúrgico; unidade de terapia intensiva; ventilação mecânica; cateter venoso central	Febre	Amoxicilina-sulbactam; Vancomicina; Piperacilina – Tazobactam; Imipinem	Fluconazol; Caspofungina	Melhora
28	F/48	DPOC	Cateter venoso central; unidade de terapia intensiva; ventilação mecânica	Febre	Vancomicina; Imipinem; Ciprofloxacina	Fluconazol	Melhora
29	F/74	Insuficiência renal; Obstrução intestinal	Procedimento cirúrgico; cateter venoso central; ventilação mecânica; unidade de terapia intensiva	Febre	Ampicilina; Cefazidima	Fluconazol; Anfotericina B;	Óbito
30	M/31	Cirrose; hepatite B	Transplante hepático; cateter venoso central; unidade de terapia intensiva	Nenhuma	Não informado	Não informado	Óbito
31	M/19	Politrauma; Insuficiência respiratória	Procedimento cirúrgico; unidade de terapia intensiva; ventilação mecânica; cateter venoso central	Febre	Ciprofloxacina	Fluconazol	Melhora

... continuação

Paciente	Sexo/ Idade	Condição ou enfermidade associada	Fator predisponente	Manifestação clínica	Terapia antimicrobiana prévia	Antifúngico	Evolução
32	M/51	Insuficiência renal	Transplante renal; unidade de terapia intensiva; corticóides; cateter venoso central	Febre; lesão cutânea	Vancomicina; Imipinem; Ciprofloxacina	Fluconazol; Anfotericina B;	Melhora
33	M/61	Cirrose; hepatite C; insuficiência renal	Procedimento cirúrgico; ventilação mecânica; cateter venoso central; unidade de terapia intensiva; corticóides	Febre; lesão cutânea	Vancomicina; Clindamicina; Ciprofloxacina	Anfotericina B	Óbito
34	F/69	Diabetes; bexiga neurogênica	Procedimento cirúrgico	Não informado	Amoxicilina- sulbactam; Ciprofloxacina; Cefepime	Fluconazol	Óbito
35	M/53	Insuficiência renal; diabetes	Procedimento cirúrgico	Febre	Piperacilina – Tazobactam; Imipinem; Ciprofloxacina	Fluconazol; Anfotericina B;	Melhora
36	M/41	Diabetes; vírus da Imunodeficiência humana	Não informado	Febre	Penicilina	Não informado	Melhora
37	M/56	Insuficiência renal; diabetes; vírus da Imunodeficiência humana	Cateter venoso central	Febre	Sulfametoxazol - trimetoprim; Vancomicina	Não informado	Óbito
38	F/68	DPOC; insuficiência respiratória; câncer brônquico e de mama	Unidade de terapia intensiva; cateter venoso central, ventilação mecânica	Febre	Ciprofloxacina; Imipinem; Piperacilina – Tazobactam	Anfotericina B	Óbito
39	M/51	Não informado	Unidade de terapia intensiva; ventilação mecânica	Não informado	Estreptomicina; Clindamicina	Anfotericina B	Desconhecida
40	M/84	Diabetes; DPOC; câncer esofágico	Procedimento cirúrgico; unidade de terapia intensiva; ventilação mecânica	Febre	Ciprofloxacina; Clindamicina	Fluconazol	Óbito
41	M/48	Câncer de bexiga e pulmão; insuficiência renal	Procedimento cirúrgico	Nenhuma	Amoxicilina; Claritromicina	Fluconazol	Óbito
42	M/76	DPOC; câncer de palato mole	Procedimento cirúrgico; unidade de terapia intensiva; ventilação mecânica	Nenhuma	Amoxicilina- sulbactam	Não informado	Melhora
43	M/52	Linfoma	Procedimento cirúrgico; neutropenia; unidade de terapia intensiva; ventilação mecânica; cateter venoso central	Febre	Vancomicina; Imipinem	Fluconazol; Anfotericina B;	Óbito
44	F/57	Câncer das vias bilíares extra- hepáticas	Procedimento cirúrgico; unidade de terapia intensiva; ventilação mecânica; cateter venoso central	Febre	Vancomicina; Imipinem	Casposfungina	Melhora

F: Feminino; M: Masculino; DPOC: Doença pulmonar obstrutiva crônica

Tabela 2 – Diagnóstico micológico: exame microscópico direto e identificação da espécie.

Paciente	Sexo/Idade	Ano	Amostra	Exame direto	ATB Expression		Fungo
					Confiabilidade diagnóstica (%)	Valor T*	
1	F/7	2003	Material conduzido auditivo	Não aplicado	99,5	0,37	<i>T. asahii</i>
2	M/71	2003	Urina	Negativo	96,0	0,61	<i>Trichosporon</i> sp.
3	M/71	2009	Suco nasogeniano	Não aplicado	94,4	0,79	<i>Trichosporon</i> sp.
4	F/24	2002	Urina	Negativo	99,9	0,38	<i>T. asahii</i>
5	M/58	2002	Sangue	Não aplicado	99,8	0,59	<i>T. asahii</i>
6	M/34	2007	Urina	Negativo	99,9	0,71	<i>T. asahii</i>
7	F/30	2005	Urina	Negativo	94,9	0,72	<i>T. mucoides</i>
8	F/37	2007	Urina	Negativo	99,4	0,57	<i>T. asahii</i>
9	M/62	2007	Urina	Negativo	94,9	0,72	<i>Trichosporon</i> sp.
10	M/68	2007	Urina	Negativo	98,4	0,84	<i>T. asahii</i>
11	M/60	2009	Sangue	Não aplicado	99,7	0,75	<i>T. asahii</i>
12	F/43	2007	Urina	Negativo	99,9	0,72	<i>T. mucoides</i>
13	F/53	2002	Líquido de ascite	Negativo	99,7	0,42	<i>T. asahii</i>
14	F/36	1999	Urina	Negativo	99,4	0,69	<i>T. asahii</i>
15	F/31	2009	Urina	Negativo	99,9	0,90	<i>T. asahii</i>
16	M/41	2008	Urina	Negativo	99,9	0,71	<i>T. asahii</i>
17	M/72	2008	Urina	Negativo	99,9	0,66	<i>T. asahii</i>
18	F/81	2006	Urina	Negativo	99,1	0,47	<i>T. asahii</i>
19	M/39	2002	Urina	Negativo	99,9	0,57	<i>T. asahii</i>
20	F/55	2002	Urina	Negativo	99,6	0,61	<i>T. asahii</i>
21	M/54	2003	Urina	Negativo	Não informado	Não informado	<i>T. asahii</i>
22	F/48	2005	Urina	Negativo	99,7	0,57	<i>T. asahii</i>
23	M/70	2005	Urina	Negativo	99,2	0,36	<i>T. asahii</i>
24	F/3	2002	Sangue	Não aplicado	99,6	0,58	<i>T. asahii</i>
25	M/9	2006	Sangue	Não aplicado	94,9	0,72	<i>T. mucoides</i>
26	M/4	2008	Urina	Negativo	99,9	0,66	<i>T. asahii</i>
			Urina	Negativo	99,4	0,69	
27	M/57	2006	Sangue	Não aplicado	99,9	0,61	<i>T. asahii</i>
28	F/48	2000	Urina	Negativo	97,0	1,0	<i>T. mucoides</i>
29	F/74	1999	Urina	Negativo	99,9	0,83	<i>T. asahii</i>
30	M/31	1998	Urina	Negativo	Não informado	Não informado	<i>T. mucoides</i>
31	M/19	2009	Urina	Negativo	99,9	0,33	<i>T. asahii</i>
32	M/51	2000	Urina	Negativo	99,9	0,75	<i>Trichosporon</i> sp.
33	M/61	2002	Líquido peritoneal	Negativo	99,9	0,87	<i>T. asahii</i>
34	F/69	2002	Urina	Negativo	91,0	0,59	<i>T. asahii</i>
35	M/53	2005	Urina	Negativo	Não informado	Não informado	<i>T. asahii</i>
36	M/41	2006	Urina	Negativo	99,4	0,77	<i>T. inkin</i>
37	M/56	2009	Urina	Negativo	97,0	1,0	<i>T. mucoides</i>

... continuação

38	F/68	2003	Urina	Negativo	99,6	0,61	<i>T. asahii</i>
39	M/51	2000	Urina	Negativo	Não informado	Não informado	<i>Trichosporon</i> sp.
40	M/84	2000	Urina	Negativo	99,7	0,47	<i>T. asahii</i>
41	M/48	2004	Urina	Negativo	99,6	0,62	<i>T. asahii</i>
42	M/76	2005	Urina	Negativo	92,5	0,54	<i>T. asahii</i>
43	M/52	2006	Líquido articular	Não aplicado	99,9	0,57	<i>T. asahii</i>
			Sangue	Não aplicado	99,9	0,70	
44	F/57	2006	Urina	Negativo	99,9	0,94	<i>T. asahii</i>
45	F/44	2013	Urina	Negativo	99,8	0,76	<i>T. asahii</i>
46	F/58	2012	Urina	Negativo	99,7	0,57	<i>T. asahii</i>
47	M/28	2012	Urina	Negativo	97,4	0,43	<i>T. mucoides</i>
48	M/45	2012	Urina	Negativo	99,8	0,78	<i>T. asahii</i>
49	F/45	2000	Líquido peritoneal	Negativo	94,7	0,44	<i>T. asahii</i>
50	F/32	2001	Urina	Negativo	99,9	0,37	<i>T. asahii</i>
51	M/72	2002	Urina	Negativo	99,9	0,72	<i>T. asahii</i>
			Sangue	Não aplicado	99,9	0,72	
52	M/73	2005	Urina	Negativo	Não informado	Não informado	<i>T. asahii</i>
53	M/60	2005	Urina	Negativo	97,0	1,0	<i>T. mucoides</i>
54	M/26	2005	Urina	Negativo	99,9	0,65	<i>T. asahii</i>
55	M/6	2001	Líquido de diálise	Negativo	99,2	0,53	<i>T. asahii</i>
56	M/56	2006	Urina	Negativo	99,9	0,72	<i>T. asahii</i>
57	M/54	1999	Urina	Negativo	97,0	1,0	<i>T. mucoides</i>
58	M/44	2007	Urina	Negativo	99,4	0,69	<i>T. asahii</i>
59	M/38	2008	Urina	Negativo	99,9	0,83	<i>T. asahii</i>
60	F/78	2008	Líquido de ascite	Negativo	94,9	0,72	<i>T. mucoides</i>
61	M/54	2009	Sangue	Não aplicado	99,8	0,76	<i>T. asahii</i>
62	M/49	2009	Sangue	Não aplicado	99,9	0,50	<i>T. asahii</i>
63	F/51	2010	Sangue	Não aplicado	99,9	0,48	<i>T. asahii</i>
64	M/70	2010	Urina	Negativo	99,7	0,89	<i>T. asahii</i>
65	M/1	2010	Líquido pleural	Negativo	98,2	0,84	<i>T. mucoides</i>
66	M/59	2010	Líquido pleural	Negativo	98,8	0,87	<i>T. asahii</i>
67	M/16	2010	Líquido pericárdico	Negativo	99,9	0,83	<i>T. asahii</i>
68	F/27	2009	Sangue	Não aplicado	99,4	0,69	<i>T. asahii</i>
69	F/58	1997	Urina	Negativo	Não informado	Não informado	<i>T. cutaneum</i>

... continuação

70	M/83	1997	Urina	Negativo	99,9	0,87	<i>T. cutaneum</i>
71	M/1	1998	Urina	Negativo	99,9	0,38	<i>T. cutaneum</i>
72	M/44	1998	Urina	Negativo	99,9	0,7	<i>T. cutaneum</i>
73	F/80	1998	Urina	Negativo	99,9	0,68	<i>T. cutaneum</i>
74	M/70	2010	Urina	Negativo	99,9	0,68	<i>T. asahii</i>
75	F/8	2010	Urina	Negativo	99,9	0,54	<i>T. asahii</i>
76	M/13	2011	Moldes Brônquicos	Não aplicado	99,9	0,37	<i>T. asahii</i>
77	M/60	2012	Abscesso abdômen	Não aplicado	99,8	0,76	<i>T. asahii</i>

F: Feminino; M: Masculino

*O Valor T é um índice de tipicidade. É um valor entre 0 e 1 que estima o grau de semelhança do microrganismo testado com o perfil mais típico da espécie. Quanto mais próximo de 0, diz-se que mais atípica é a cepa analisada. Estes valores são utilizados para classificar a qualidade da identificação.

DISCUSSÃO

Nos últimos anos, várias espécies de leveduras estão sendo descritas como patógenos emergentes (García-Tapia *et al.*, 2007) e este aumento das infecções fúngicas está relacionado com os avanços da medicina moderna para o manejo de doenças (Costa *et al.*, 2000). Dentre estas leveduras, podemos citar as do gênero *Trichosporon* que é um basidiomiceto ubíquo que pode ser encontrado no solo, na água e também na microbiota humana como no trato gastrointestinal, respiratório e na pele (Heslop *et al.*, 2011).

O gênero compreende 50 espécies e destas, apenas 16 espécies apresentam relevância clínica (Colombo *et al.*, 2011). Podemos citar as espécies *T. asahii*, *T. asteroides*, *T. cutaneum*, *T. inkin*, *T. mucoides*, *T. ovoides* e *T. loubieri* dentre as principais espécies envolvidas em infecções em humanos (Ribeiro *et al.*, 2008).

Trichosporon spp. são caracterizadas pela presença de hifas, pseudohifas, artroconídios e blastoconídios e seu crescimento no ágar Sabouraud demonstra colônias cerebriformes de cor branca a bege (Shang *et al.*, 2010).

As espécies deste gênero estão envolvidas em diversas síndromes clínicas que variam de superficial, cutânea a disseminada (Miceli *et al.*, 2011). O primeiro caso de trichosporonose disseminada foi descrito em 1970 em um paciente com leucemia (Watson *et al.*, 1970). Estas infecções invasivas aumentaram nos últimos anos e os principais indivíduos acometidos são imunocomprometidos (Ruan *et al.*, 2009) como pacientes com vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) (Gross, *et al.*, 2007), com doenças hematológicas (Thibeault, *et al.*, 2008), neonatos (Téllez-Castillho *et al.*, 2008) e transplantados (Sundaram, *et al.*, 2010). As principais síndromes clínicas relatadas foram fungemia (Anunnatsiri, *et al.*, 2009; Chagas-Neto *et al.*, 2009; Couto *et al.*, 2011;), endocardite (Izumi *et al.*, 2009), endoftalmite (Walia *et al.*, 2009), meningite (Heslop *et al.*, 2011), e peritonite (Kalawat *et al.*, 2010). Todavia, apesar das infecções por *Trichosporon* sp. ocorrerem principalmente em indivíduos imunocomprometidos, um caso de infecção em indivíduo imunocompetente também já foi relatado (Kim, *et al.*, 2007).

No presente trabalho, revisamos 77 casos de infecção por *Trichosporon*. Destes, 55 foram diagnosticados como *T. asahii*, 11 como *T. mucoides*, 5 como *T. cutaneum* e 1 como *T. inkin*. A literatura indica que *T. asahii* é a espécie mais frequente nas infecções ocasionadas por este gênero, sendo identificada em aproximadamente 90% dos casos (Chowdhary *et al.*, 2004). Dos 77 casos, somente 44 foram revisados clinicamente devido à disponibilidade dos prontuários.

As condições ou fatores predisponentes encontrados foram similares aos descritos na literatura como internação em unidade de terapia intensiva (n=28), uso de cateter venoso central (n=21), ventilação mecânica (n=21), procedimentos cirúrgicos (n=17), insuficiência renal (n=16), corticóide (n=13), transplante (n=13), diabetes (n=12) e insuficiência respiratória (n=12). Em relação à manifestação clínica, 27 pacientes apresentaram febre. É importante ressaltar que dos 44 casos de infecção por *Trichosporon* sp. revisados clinicamente, 37 casos foram diagnosticados de amostras de sítios não estéreis como urina (n=35), material do conduto auditivo (n=1) e material do suco nasogeniano (n=1), sendo que destes, 23 apresentavam febre como manifestação clínica. Nove casos foram diagnosticados de amostras de sítios estéreis como sangue (n=6), líquido peritoneal (n=1), líquido de ascite (n=1) e líquido articular (n=1), sendo que destes cinco apresentaram febre. Se analisarmos o valor total, 77 casos, observaremos que 56 casos foram diagnosticados de urina. Considerando que os critérios microbiológicos para infecção do trato urinário por leveduras não estão bem definidos, o isolamento de *Trichosporon* sp. na urina pode indicar infecção ou colonização (Silva *et al.*, 2003; Rodrigues *et al.*, 2006). Esta definição deverá sempre ser avaliada em conjunto com o quadro clínico do paciente. A presença de agente fúngico em sítios estéreis como sangue, líquido pleural, líquido ascítico, líquido de diálise é clinicamente relevante. Contudo, devemos ter atenção, não descartando a possibilidade de contaminação da amostra. Em relação ao uso de antibióticos, a maioria dos pacientes iniciou terapia previa. Os antibióticos mais utilizados foram: vancomicina (n=16), imipinem (n=13) e ciprofloxacina (n=12). Após a identificação do agente fúngico, o tratamento mais utilizado foi o fluconazol (n=24), seguido de anfotericina B (n=10), caspofungina (n=3) e itraconazol (n=2). A literatura indica que flucitosina e equinocandinas são não são efetivas para infecções por *Trichosporon* sp. (Miceli *et al.*, 2011). Contudo os novos

triazoles como posaconazole e ravuconazole demonstraram boa atividade *in vitro* contra espécies desta levedura (Shang *et al.*, 2010). Colombo e colaboradores relatam que a anfotericina B tem uma atividade *in vitro* e *in vivo* limitada e sugerem a utilização dos triazoles para o tratamento de infecções por *Trichosporon* sp. (Colombo *et al.*, 2011). Por outro lado, Ruan e colaboradores relatam o fluconazol e o voriconazol como antifúngicos de escolha para o tratamento de trichosporonose (Ruan *et al.*, 2009).

Relacionado a este fato, a literatura também indica uma alta mortalidade associada com este agente fúngico. Dados indicam uma taxa de mortalidade que varia de 56 a 80% em pacientes com trichosporonose disseminada (Kim *et al.*, 2007; Menezes *et al.*, 2012). No presente trabalho, 17 pacientes foram a óbito não sendo possível estabelecer se a causa foi consequência da infecção por *Trichosporon* sp., sendo o mais provável que o falecimento tenha ocorrido devido à evolução da respectiva doença de base.

Em conclusão, *Trichosporon* sp. anteriormente estava associado com infecções superficiais e cutâneas como a piedra branca. Atualmente, *Trichosporon* spp. são classificadas como leveduras emergentes envolvidas em infecções disseminadas principalmente em indivíduos imunocomprometidos. A identificação desta levedura é importante para a decisão terapêutica e para estudos epidemiológicos. Estudos sobre a eficácia dos antifúngicos também são necessários para uma melhor abordagem terapêutica.

REFERÊNCIAS

1. Heslop OD, Nyi Nyi MP, Abbott SP, Rainford LE, Castle DM, Coard KC. Disseminated trichosporonosis in a burn patient: meningitis and cerebral abscess due to *Trichosporon asahii*. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 4405-4408.
2. Colombo AL, Padovan AC, Chaves GM. Current knowledge of *Trichosporon* spp. and Trichosporonosis. *Clin Microbiol Rev* 2011; 24: 682-700.
3. Ruan SY, Chien JY, Hsueh PR. Invasive trichosporonosis caused by *Trichosporon asahii* and other unusual *Trichosporon* species at a medical center in Taiwan. *Clin Infect Dis* 2009; 49:11-17.
4. Alexander BD. Diagnosis of fungal infection: new technologies for the mycology laboratory. *Transpl Infect Dis* 2004; 4: 32-37.
5. García-Tapia A, García-Agudo R, Marín P, Conejo JL, García-Martos P. *Kodamaea ohmeri* fungemia associated with surgery. *Rev Iberoam Micol* 2007; 24: 155-156.
6. Costa SF, Marinho I, Araújo EA, Manrique AE, Medeiros EA, Levin AS. Nosocomial fungemia: a 2-year prospective study. *J Hosp Infect* 2000; 45: 69-72.
7. Ribeiro M A, Alastruey-Izquierdo A, Gomez-Lopez A, Rodriguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M. Molecular identification and susceptibility testing of *Trichosporon* isolates from a Brazilian hospital. *Rev Iberoam Micol* 2008; 25: 221-225.
8. Shang ST, Yang YS, Peng MY. Nosocomial *Trichosporon asahii* fungemia in a patient with secondary hemochromatosis: a rare case report. *J Microbiol Immunol Infect* 2010; 43:77-80.
9. Miceli MH, Díaz JA, Lee SA. Emerging opportunistic yeast infections. *Lancet Infect Dis* 2011; 11:142-151.
10. Watson KC, Kallichurum S. Brain abscess due to *Trichosporon cutaneum*. *J Med Microbiol* 1970; 3:191-193.
11. Gross JW, Kan VL. *Trichosporon asahii* infection in an advanced AIDS patient and literature review. *AIDS* 2008; 22:793-795.

12. Thibeault R, Champagne M, de Repentigny L, Fournet JC, Tapiero B, Moghrabi A, Ovetchkine P. Fatal disseminated *Trichosporon asahii* infection in a child with acute lymphoblastic leukemia. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2008; 19: 203-205.
13. Téllez-Castillo CJ, Gil-Fortuño M, Centelles-Sales I, Sabater-Vidal S, Pardo Serrano F. *Trichosporon asahii* fatal infection in a preterm newborn. *Rev Chilena Infectol* 2008; 25: 213-215.
14. Sundaram M, Anandbabu K, Basu G, Devasia A, Tamilarasi V. *Trichosporon* surgical wound infection in a renal allograft recipient successfully treated with voriconazole. *Transplantation* 2010; 90: 588-589.
15. Anunnatsiri S, Chetchotisakd P, Mootsikapun P. Fungemia in non-HIV-infected patients: a five-year review. *Int J Infect Dis* 2009; 13: 90-96.
16. Chagas-Neto TC, Chaves GM, Melo AS, Colombo AL. 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. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 1074-1081.
17. Couto FM, Macedo DP, Neves RP. Fungemia in a university hospital: an epidemiological approach. *Rev Soc Bras Med Trop* 2011; 44: 745-748.
18. Izumi K, Hisata Y, Hazama S. A rare case of infective endocarditis complicated by *Trichosporon asahii* fungemia treated by surgery. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2009; 15: 350-353.
19. Walia H, Tucci VT, Greene JN, Tordilla-Wadia J, Kelty P, Walia S. A case of endogenous *trichosporon* endophthalmitis treated with micafungin and voriconazole. *J Glob Infect Dis* 2009; 1: 71-74.
20. Kalawat U, Sharma KK. *Trichosporon* peritonitis following duodenal perforation. *Saudi J Gastroenterol* 2010; 16: 43-45.
21. Kim YJ, Kim SI, Kim YR, Park YM, Park YJ, Kang MW. Successful treatment of septic shock with purpura fulminans caused by *Trichosporon asahii* in an immunocompetent patient. *Ann Clin Lab Sci* 2007; 37: 366-369.
22. Chowdhary A, Ahmad S, Khan ZU, Doval DC, Randhawa HS. *Trichosporon asahii* as an emerging etiologic agent of disseminated trichosporonosis: a case report and an update. *Indian J Med Microbiol* 2004; 22: 16-22.

23. Silva V, Zepeda G, Alvareda D. Nosocomial urinary infection due to *Trichosporon asahii*. First two cases in Chile. *Rev Iberoam Micol* 2003; 20: 21-23.
24. Rodrigues Gda S, de Faria RR, Guazzelli LS, Oliveira Fde M, Severo LC. Nosocomial infection due to *Trichosporon asahii*: clinical revision of 22 cases *Rev Iberoam Micol* 2006; 23: 85-89.
25. Menezes EA, Marinho JA, Angelo MR, Cunha Mda C, Cunha FA, Vasconcelos Júnior AA. Isolation and antifungal susceptibility testing of *Trichosporon asahii* in Ceará, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2012; 54: 1-3.

5. DISCUSSÃO

Nos últimos anos, com o aumento de pacientes imunocomprometidos, os fungos têm emergido como uma das causas de doenças humanas (Shoham & Levitz, 2005) e várias espécies de leveduras estão sendo descritas como patógenos emergentes (García-Tapia *et al.*, 2007). Este aumento das infecções fúngicas está relacionado com os avanços da medicina moderna para o manejo de doenças (Costa *et al.*, 2000), como quimioterapia, transplantes, uso de antibióticos de amplo espectro ou devido a uma dinâmica de interações que envolvem alterações no hospedeiro como doenças hematológicas, vírus da imunodeficiência humana e diabetes (Walsh *et al.*, 1999).

A identificação da espécie é muito importante para a decisão terapêutica, visto que algumas espécies não são suscetíveis a certos antifúngicos. Além disso, a pesquisa epidemiológica tem sua importância possibilitando o conhecimento dos patógenos mais frequentes e sua associação com condições ou fatores predisponentes.

Com referência às leveduras emergentes, encontramos as espécies do gênero *Saccharomyces*, *Rhodotorula*, *Kodamaea* e *Trichosporon* como as mais frequentes.

Saccharomyces cerevisiae é uma levedura ubíqua amplamente utilizada na indústria (Llano *et al.*, 2006) e é considerada comensal do trato gastrointestinal de humanos. Contudo, a partir de 1990, começou a crescer o número de casos relatados deste agente em infecção invasiva em indivíduos imunocomprometidos, sendo os fatores predisponentes mais frequentes associados ao uso de antibióticos de amplo espectro, probióticos e dispositivos intravasculares (Richardson *et al.*, 2008). No período de 2000 a 2010, diagnosticamos seis casos de infecção por este agente, principalmente em pacientes que apresentaram insuficiência renal, câncer ou que utilizaram cateter venoso central (CVC).

Rhodotorula é um levedura ubíqua e comensal da pele, unhas, conjuntiva, trato respiratório, gastrointestinal e urinário. Nas últimas décadas, devido a vários fatores como uso amplo de corticóides, agentes quimioterápicos, CVC e a prolongada sobrevivência de pacientes com doenças debilitantes, espécies deste gênero estão sendo relatadas como agentes causadores de infecção (Chung *et.al.*, 2002).

O gênero *Rhodotorula* é composto por aproximadamente 38 espécies (Shinde *et.al.*, 2008), no entanto, três espécies são mais frequentes: *Rhodotorula glutinis*, *R. minuta* e *R. mucilaginosa*, sendo esta última anteriormente denominada de *R. rubra* e a mais comumente isolada de amostras clínicas (Riedel *et.al.*, 2008). No período de 1994 a 2012, diagnosticamos 12 casos de rhodotorulose e as condições mais associadas com estes casos foram leucopenia, internação em unidade de terapia intensiva (UTI), utilização de CVC e vírus da imunodeficiência humana (HIV).

O gênero *Kodamaea* compreende cinco espécies (Sundaram *et al.*, 2011) e dentre estas, a *K. ohmeri* é de maior importância. Esta levedura é comumente utilizada na indústria alimentícia. Contudo, a partir 1998 (Bergman *et al.*, 1998) ela passou a ser descrita em infecções principalmente em pacientes imunocomprometidos (Lee *et al.*, 2007). Período de 2000 a 2013, diagnosticamos 6 casos de infecção por *Kodamaea* e as condições/fatores mais associados com estes casos foram internação em UTI, insuficiência renal e cardíaca e transplantes.

O gênero *Trichosporon* é ubíquo podendo ser encontrado também na microbiota humana como no trato gastrointestinal, respiratório e na pele (Heslop *et al.*, 2011). Foi relacionado inicialmente com micoses superficiais em humanos, sendo esta nomenclatura derivada do grego, significando *Trichos* (cabelo) e *sporon* (esporos), devido à visualização de nódulos no corpo e nos cabelos dos pacientes (pedra branca) (Chagas-Neto *et.al.*, 2008). No entanto, infecções sistêmicas também são relatadas (Rodrigues *et.al.*, 2006; Chagas-Neto *et.al.*, 2008).

Durante muitos anos, as doenças em humanos pelo gênero *Trichosporon* foram atribuídas pelo *T. beigelli*. Contudo, em 1992, a taxonomia desta espécie foi revisada e atualmente existem 50 espécies descritas (Colomo *et al.*, 2011). As espécies mais frequentes são *T. asahi*, *T. cutaneum*, *T. asteroides*, *T. mucoides*, *T. inkin* e *T. ovoides*.

Trichosporon asahii e *mucoides* estão mais envolvidos com infecções sistêmicas, sendo este primeiro mais frequentemente encontrado, sendo responsável por aproximadamente 90% dos casos de infecções em pacientes imunocomprometidos (Chowdhary *et al.*, 2004). No período de 1997 a 2013, diagnosticamos 77 casos de trichosporonose e a espécie *T. asahii* estava presente em aproximadamente 72% dos casos. Muitos casos de trichosporonose têm sido relatados em pacientes com câncer, pacientes diabéticos e pacientes neutropênicos (Chagas-Neto *et.al.*, 2008). Na maioria dos casos diagnosticados, observamos a internação em UTI, procedimentos cirúrgicos, CVC, insuficiência renal e ventilação mecânica como as condições/fatores mais associados.

Através da avaliação clínica realizada neste trabalho foi possível observar, além das condições mais associadas com cada patógeno, outros fatores como sexo: a maioria dos indivíduos afetados foi do sexo masculino, exceto nas infecções ocasionadas por *Kodamaea ohmeri*; idade: a faixa de idade dos indivíduos estudados variou entre 01 e 89 anos; terapia antimicrobiana prévia: a maioria dos pacientes iniciaram com no mínimo um antibiótico antes de iniciar o tratamento com antifúngico; terapia antifúngica: a maioria dos pacientes utilizou o fluconazol para tratamento das infecções por *Saccharomyces cerevisiae*, *Kodamaea ohmeri* e *Trichosporon* sp. Nas infecções ocasionadas por *Rhodotorula* sp., a anfotericina foi o antifúngico mais utilizado. É interessante observar que a anfotericina B ou a flucitosina (5-FC) são os antifúngicos de escolha descritos na literatura para a rhodotorulose (García-Suárez, 2010) e o fluconazol para a trichosporonose (Ruan *et al.*, 2009), entretanto, para infecções por *S. cerevisiae* e por *K. ohmeri*, a anfotericina B é indicada devido à atividade variável do fluconazol

frente alguns isolados de *S. cerevisiae* (Aucott, 1990; Smith *et al.*, 2002) e suscetibilidade dose-dependente de alguns isolados de *K. ohmeri* (Sundaram *et al.*, 2011). Ainda, com relação à evolução clínica, a maioria dos pacientes apresentou melhora clínica após o tratamento com antifúngico. Além disso, nos casos de pacientes que foram a óbito, não foi possível estabelecer se a causa foi consequência da infecção ou devido à evolução das respectivas doenças de base.

Desta forma, foi possível observar um panorama geral dos últimos anos das leveduras emergentes e suas respectivas condições associadas, demonstrando a importância da identificação dos patógenos e dos estudos epidemiológicos.

6. CONCLUSÕES

- *Trichosporon* sp. (principalmente *T. asahii*), *Rhodotorula* sp., *Saccharomyces cerevisiae* e *Kodamaea ohmeri* foram as leveduras emergentes mais frequentemente envolvidas em infecções nos últimos anos;
- A doença de base mais frequente foi insuficiência renal;
- A febre foi a principal manifestação clínica;
- Os fatores de risco mais frequentes foram uso de cateter venoso central e internação em unidade de terapia intensiva;
- Os sítios de infecção mais frequentes foram de amostra de sangue para os casos de *S. cerevisiae*, *Rhodotorula* sp. e *K. ohmeri* e de urina para os casos de *Trichosporon* sp.;
- O antifúngico mais utilizado foi o fluconazol para o tratamento das infecções por *S. cerevisiae*, *K. ohmeri* e *Trichosporon* sp. e a anfotericina B para o tratamento das infecções por *Rhodotorula* sp.;
- A maioria dos pacientes acometidos por leveduroses emergentes foram do sexo masculino com exceção dos casos por *K. ohmeri*;
- A faixa de idade dos pacientes variou de 1 a 89 anos, com uma mediana de 51 anos;
- Aproximadamente 26% dos pacientes foram a óbito e 32% apresentaram melhora clínica;
- A identificação da espécie é importante para a decisão terapêutica e para estudos epidemiológicos;
- Estudos sobre a eficácia dos antifúngicos são necessários para uma melhor abordagem terapêutica.

7. PERSPECTIVAS

Continuando este estudo pretendemos:

- Realizar testes antifúngicos para as amostras de *Kodamaea ohmeri* incluindo estes dados no artigo que será submetido para a revista Mycoses;
- Confeccionar e enviar o artigo científico solicitado para a revista da Sociedade Brasileira de Cardiologia alertando o fator de risco da utilização de probióticos em pacientes com válvula cardíaca, com referência a endocardite, bem como sobre a colonização pessoa-pessoa nos pacientes que compartilham quartos com pacientes tratados com estes probióticos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aucott JN, Fayen J, Grossnicklas H, Morrissey A, Lederman MM, Salata RA. Invasive infection with *Saccharomyces cerevisiae*: report of three cases and review. *Rev Infect Dis*. 1990; 12: 406-11.

Bergman MM, Gagnon D, Doern GV. *Pichia ohmeri* fungemia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998; 30: 229-231.

Chagas-Neto T; Chaves G; Colombo A. Update on the genus *Trichosporon*. *Mycopathologia*, 2008; 166: 121-132.

Chowdhary A, Ahmad S, Khan ZU, Doval DC, Randhawa HS. *Trichosporon asahii* as an emerging etiologic agent of disseminated trichosporonosis: a case report and an update. *Indian J Med Microbiol* 2004; 22: 16-22.

Chung J; Kim B; Kim Y. Central venous catheter-related *Rhodotorula rubra* fungemia. *J Infect Chemother*, 2002; 8: 109-110.

Colombo AL, Padovan AC, Chaves GM. Current knowledge of *Trichosporon* spp. and Trichosporonosis. *Clin Microbiol Rev* 2011; 24: 682-700.

Costa SF, Marinho I, Araújo EA, Manrique AE, Medeiros EA, Levin AS. Nosocomial fungemia: a 2-year prospective study. *J Hosp Infect* 2000; 45: 69-72.

Creger RJ, Weeman KE, Jacobs MR, Morrissey A, Parker P, Fox RM, Lazarus HM. Lack of utility of the lysis-centrifugation blood culture method for detection of fungemia in immunocompromised cancer patients. *J Clin Microbiol*, 1998; 36: 290-293.

García-Suárez J, Gómez-Herruz P, Cuadros JA, Burgaleta C. Epidemiology and outcome of *Rhodotorula* infection in haematological patients. *Mycoses* 2010; 54: 318-324.

García-Tapia A, García-Agudo R, Marín P, Conejo JL, García-Martos P. *Kodamaea ohmeri* fungemia associated with surgery. *Rev Iberoam Micol* 2007; 24: 155-156.

Han XY, Tarrand JJ, Escudero E. Infections by the yeast *Kodamaea (Pichia) ohmeri*: two cases and literature review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23: 127-130.

Hawell SA & Hazen KC. *Candida, Cryptococcus*, and other yeasts of medical importance. IN: Versalovic J (Ed.) *Manual of clinical microbiological* 10th ed. Washington:ASM Press. 2011, vol. 2, chap. 115, pp. 1793-1821.

Heslop OD, Nyi Nyi MP, Abbott SP, Rainford LE, Castle DM, Coard KC. Disseminated trichosporonosis in a burn patient: meningitis and cerebral abscess due to *Trichosporon asahii*. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 4405-4408.

Kwon-Chung K J, Polacheck I, Bennett J E. Improved diagnostic medium for separation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (serotypes A and D) and *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (serotypes B and C). *J Clin Microbiol* 1982; 15: 535-537.

Lee JS, Shin JH, Kim MN, Jung SI, Park KH, Cho D, Kee SJ, Shin MG, Suh SP, Ryang DW. *Kodamaea ohmeri* isolates from patients in a university hospital: identification, antifungal susceptibility, and pulsed-field gel electrophoresis analysis. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 1005-1010.

Llanos R, Fernández-Espinar MT, Querol A. A comparison of clinical and food *Saccharomyces cerevisiae* isolates on the basis of potential virulence factors. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2006; 90: 221-31.

Neofytos D, Horn D, De Simone JA Jr. *Rhodotorula mucilaginosa* catheter-related fungemia in a patient with sickle cell disease: case presentation and literature review. *South Med J* 2007; 100: 198-200.

Pfaller MA, Diekema DJ & Merz WG. Infections caused by non-*Candida*, non-*Cryptococcus* yeast. IN. ANaissie Ej, McGinnis MR & Pfaller MA (Eds.). *Clinical mycologic* 2nd ed. Elsevier: Churchill Livingstone. 2009, Sec. two, chap. 10, pp. 251-270.

Richardson M; Lass-Flörl C. Changing epidemiology of systemic fungal infections. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 5-24.

Ridel D; Johnson K; Forrest G. *Rhodotorula glutinis* fungemia in a liver-kidney transplant patient. *Transpl Infect Dis* 2008; 10: 197-200.

Rodrigues Gda S, de Faria RR, Guazzelli LS, Oliveira Fde M, Severo LC. Nosocomial infection due to *Trichosporon asahii*: clinical revision of 22 cases *Rev Iberoam Micol* 2006; 23: 85-89.

Ruan SY, Chien JY, Hsueh PR. Invasive trichosporonosis caused by *Trichosporon asahii* and other unusual *Trichosporon* species at a medical center in Taiwan. *Clin Infect Dis* 2009; 49:11-17.

Shinde R; Mantur B; Parande M; Parande A. Meningitis due to *Rhodotorula glutinis* in a HIV infected patient. *Ind J Med Microbiol* 2008; 26: 375-397.

Shoham S; Levitz S. The immune response to fungal infections. *Brit J Haematol* 2005; 129: 596-582.

Smith D, Metzgar D, Wills C, Fierer J. Fatal *Saccharomyces cerevisiae* aortic graft infection. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2691-2.

Sundaram PS, Bijulal S, Tharakan JA, Antony M. *Kodamaea ohmeri* tricuspid valve endocarditis with right ventricular inflow obstruction in a neonate with structurally normal heart. *Ann Pediatr Cardiol* 2011; 4: 77-80.

Taj-Aldeen SJ, Doiphode SH, Han XY. *Kodamaea (Pichia) ohmeri* fungaemia in a premature neonate. *J Med Microbiol* 2006; 55: 237-239.

Thompson III G; Wiederhold N; Sutton D; Fothergill A; Patterson T. *In vitro* activity of isavuconazole against *Trichosporon*, *Rhodotorula*, *Geotrichum*, *Saccharomyces* and *Pichia* species. *J Antimicrob Chemother* 2009; 64: 79-83.

Thomson RB Jr, Vanzo SJ, Henry NK, Guenther KL, Washington JA II. Contamination of cultures processed with the isolator lysis-centrifugation blood culture tube. *J Clin Microbiol* 1984;19: 97-99.

Vasquez JA. *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Malassezia*, *Trichosporon*, *Blastochizomyces*, and *Sporobolomyces*. IN Kauffmann CA, Pappas PG, Sobel JD & Dismukes WE (eds,) *Essentials of clinical mycological* 2nd ed. New York: Springer 2003, pp. 227-239.

Walsh T; Groll A. Emerging fungal pathogens: evolving challenges to immunocompromised patients for the twenty-first century. *Transplant Infectious Disease* 1999; 1: 247-261.

Yamada Y, Suzuki T, Matsuda M, Mikata K. The phylogeny of *Yamadazyma ohmeri* (Etchells et Bell) Billon-Grand based on the partial sequences of 18S and 26S ribosomal RNAs: the proposal of *Kodamaea* gen. nov. (Saccharomycetaceae). *Biosci Biotechnol Biochem* 1995; 59: 1172-1174.

9. ANEXOS

9.1 Anexo I - Instrumento para colheita de dados

Dados de identificação

Nome: Registro:.....
Data internação:..... Idade:..... Sexo: () M () F
Hospital..... N° caso:.....

Condições predisponentes

Diabete melito () Sim () Não () Não informado
Insuficiência renal () Sim () Não () Não informado
HIV () Sim () Não () Não informado
Drogas injetáveis () Sim () Não () Não informado
Neutropênico () Sim () Não () Não informado
Sepse bacteriana () Sim () Não () Não informado
Neoplasia Qual:.....
Transplante Qual:..... Tempo:.....
Outros: Qual:.....

Dados clínicos

Motivo da internação:.....
Unidade internação () Clínica () Cirúrgica
Cateter () venoso central () arterial
NPT () Sim () Não () Não informado N° de dias:.....
Terapia intensiva () Sim () Não () Não informado
Ventilação mecânica () Sim () Não () Não informado

Avaliação clínica de cada episódio de leveduras emergentes

Amostra:.....
Exame micológico: direto.....cultivo:.....
Isolamento do mesmo microorganismo de outros sítios
() Sim () Não Qual (is):.....
Febre () Sim () Não () Não informado Máx.....°C N° dias.....
Hipotermia () Sim () Não () Não informado Mín.....°C N° dias.....
Lesões disseminadas (cutâneas ou da retina)
Deteriorização clínica sem outra explicação:.....

Terapia antimicrobiana

Fluconazol () Sim () Não () Não informado Há quanto tempo:.....
Anfotericina B () Sim () Não () Não informado Há quanto tempo:.....
Itraconazol () Sim () Não () Não informado Há quanto tempo:.....
Voriconazol () Sim () Não () Não informado Há quanto tempo:.....
Outros:.....

Evolução

() Alta hospitalar Data:..... Duração internação:.....
() Óbito Data:.....
Complicações Qual (is):.....

9.2 Anexo II - Declaração referente a aspectos de Ética Médica

O presente estudo é exclusivamente epidemiológico, não envolvendo a realização de qualquer intervenção terapêutica. Todas as informações clínico-epidemiológicas necessárias para o estudo serão obtidas através de revisão de prontuários, não havendo qualquer contato direto entre investigadores com os pacientes. A pesquisa tem interesse puramente científico.

As informações referentes aos pacientes serão mantidas em completo sigilo; os autores firmam compromisso com a confidencialidade garantido o sigilo quanto à identificação dos pacientes incluídos no estudo.

O projeto foi enviado ao Comitê de Ética em Pesquisa Santa Casa de Complexo Hospitalar Porto Alegre. Certificamos que o estudo observará todos os padrões éticos estabelecidos pela Instituição.

Sem mais, colocamo-nos à disposição para qualquer informação adicional.

Cristine Souza Goebel

Curso de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof^o Dr. Luiz Carlos Severo

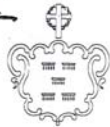
Micologista e Pneumologista, Doutor em Medicina

Professor Associado, Faculdade de Medicina, UFRGS

Pesquisador 1B do CNPq

10. APÊNDICES

10.1 Apêndice I - Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre

Rua Placido Annes Dias, 295 – Telefone: (51) 3214.8080 – Fax: (51) 3214.8585
CEP 91070-090 – Porto Alegre – Rio Grande do Sul – CNPJ: 92815000/0001-68
Site: www.santacasa.org.br – E-mail: marketing@santacasa.tche.br



PARECER CONSUBSTANCIADO

Parecer Complementar nº 032/2010

Protocolo nº 3230/09

Título: “Avaliação clínica de leveduras emergentes. Dez anos de experiência (2000-2010)”.

Pesquisador Responsável: Luiz Carlos Severo

Instituição onde se realizará – Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre.

Data de Entrada: 14/12/2009

II – Objetivos – Objetivo geral: Definir os dados demográficos, as doenças de base e os associados aos episódios de leveduras emergentes ocorridos na Santa Casa Complexo-Hospitalar nos últimos dez anos (2000-2010).

Objetivos Específicos:

- Identificar os agentes etiológicos das leveduras emergentes;
- Determinar as principais doenças de base associadas;
- Determinar os principais fatores de risco associados;
- Determinar os principais sítios de infecção por fungos emergentes;
- Determinar as principais terapias antimicrobianas envolvidas.

III - Sumário do Projeto

Descrição e caracterização da amostra: Estudo de coorte retrospectivo, janeiro de 2000 a janeiro de 2010. A população do estudo será todos os casos consecutivos de infecção por fungos emergentes diagnosticada na Santa Casa - Complexo Hospitalar.

Critérios de inclusão e exclusão: A população do estudo será todos os casos consecutivos de infecção por fungos emergentes diagnosticada na Santa Casa - Complexo Hospitalar no período de janeiro de 2000 a janeiro de 2010, com o foco principal em leveduras.

Adequação das condições - Hospital escola com infra-estrutura adequada para a realização do estudo descrito.

IV -Comentários:

- **Justificativa do uso de placebo** – Não se aplica

- **Análise de riscos e benefícios** – Estudo de coorte retrospectivo, não há riscos. Os benefícios previstos estão definidos no objetivo geral.

Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/ISCOMPA Fone/Fax (51) 3214-8571 – e-mail: cep@santacasa.tche.br
Reconhecido: Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP / Ministério da Saúde
IRB – Institutional Review Board pelo U.S. Department of Health and Human Services (DHHS)
Office for Human Research Protections (ORPH) sob número - IRB00002509.
FWA – Federalwide Assurance sob número - FWA00002949.



Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre

Rua Prof. Annes Dias, 295 – Telefone: (51) 3214.8080 – Fax: (51) 3214.8585
 CEP 90020-090 – Porto Alegre – Rio Grande do Sul – CNPJ: 92815000/0001-68
 Site: www.santacasa.org.br – E-mail: marketing@santacasa.tche.br



- **Adequação do termo de consentimento e forma de obtê-lo** – O termo de confidencialidade, adequado.

- **Informação adequada quanto ao financiamento** – Há orçamento detalhado da pesquisa, com valor total de R\$ 1.819,90 e declaração firmada pelo pesquisador responsável, de ausência de ônus à ISCMPA.

- **Outros centros no caso de estudos multicêntricos** - Não se aplica.

V – Parecer do Relator – “Após reavaliação do protocolo acima descrito, o presente comitê não encontrou óbices quanto ao desenvolvimento do estudo em nossa Instituição e poderá ser iniciado a partir da data deste parecer”.

VI - Data da Reunião: 05/01/2010.

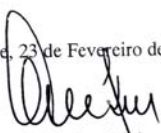
VII – Data da Reavaliação: 23/02/2010.

“Projeto e Termo de Confidencialidade, Aprovados”.

Obs.: 1 - O pesquisador responsável deve encaminhar à este CEP, Relatórios de Andamento dos Projetos desenvolvidos na ISCMPA. Relatórios Parciais (pesquisas com duração superior à 6 meses), Relatórios Finais (ao término da pesquisa) e os Resultados Obtidos (cópia da publicação).

2 – Para o início do projeto de pesquisa, o investigador deverá apresentar a chefia do serviço (onde será realizada a pesquisa), o Parecer Consubstanciado de aprovação do protocolo pelo Comitê de Ética.

Porto Alegre, 23 de Fevereiro de 2010.


 Prof. Dr. Cláudio Teloken
 Coordenador do CEP/ISCMPA

Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/ISCMPA

Fone/Fax (51) 3214-8571 – e-mail: cep@santacasa.tche.br

Parecer 032/10

Reconhecido:

Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP / Ministério da Saúde
 IRB – Institutional Review Board pelo U.S. Department of Health and Human Services (DHHS)
 Office for Human Research Protections (ORPH) sob número - IRB00002509.
 FWA – Federalwide Assurance sob número - FWA00002949.

10.2 Apêndice II - Parecer da Revista Iberoamericana de Micologia

Date: 20/03/2013
To: "Luiz Carlos Severo" severo@santacasa.tche.br
cc: reviberoammicol@ehu.es;guillermo.quindos@ehu.es;guillermoquindos@gmail.com
From: "Revista Iberoamericana de Micologia" reviberoammicol@elsevier.com
Subject: RIAM-D-12-00091R1: editorial decision

Dear Dr. Severo,

We are glad to inform you that your article "Infección por *Saccharomyces cerevisiae*" (Ref. RIAM-D-12-00091R1) has been accepted for its publication in Revista Iberoamericana de Micología.

Please remember that, before publication, you will receive an e-mail with the galley proofs of your article in pdf format.

Thank you for your contribution to the journal.

Yours sincerely,

Rocío Alonso Vargas
Editorial assistant
Revista Iberoamericana de Micología

(Guillermo Quindós
Editor-In-Chief)
